

Sommaires

| | |
|--|-------|
| Liste des sigles et des abréviations..... | X |
| Liste des tableaux..... | XII |
| Liste des figures..... | XIII |
| Liste des annexes | XVI |
| RESUME | XVIII |
| Introduction et énoncé du problème..... | 2 |
| I.1. Définitions..... | 4 |
| I.1.1. Environnement hospitalier | 4 |
| I.1.2. Infections nosocomiales | 4 |
| I.2. Mode de contamination des champignons | 4 |
| I.3. Causes des infections nosocomiales | 5 |
| I.4. Les champignons | 5 |
| I.4.1. Définitions et positions taxonomiques | 5 |
| I.4.2. Morphologie générale des champignons et reproduction | 7 |
| I.4.3. Les principales manifestations cliniques des champignons étudiés..... | 21 |
| I.4.4. Les différentes techniques de diagnostic des champignons microscopiques..... | 22 |
| I.4.4.1. Diagnostic mycologique..... | 22 |
| I.4.4.2. Diagnostic immunologique..... | 30 |
| I.4.4.3. Diagnostic moléculaire | 30 |
| I.4.5. Les antifongiques et les antifongigrammes | 31 |
| I.5. Revue de la littérature sur la flore fongique de l'environnement hospitalier..... | 38 |
| I.5.1. Données africaines | 38 |
| I.5.2. En France..... | 39 |
| II. Etude expérimentale..... | 41 |
| II.1. Objectifs | 41 |

| | |
|--|----|
| II.1.1. Objectif général | 41 |
| II.1.2 Objectifs spécifiques..... | 41 |
| II.2. Méthodologie | 41 |
| II.2.1. Le cadre d'étude | 41 |
| II.2.2. Le site d'étude..... | 42 |
| II.2.3. Le type d'étude et la période d'étude..... | 43 |
| II.2.4. Les critères d'inclusion..... | 43 |
| II.2.5. Les matériels de collecte /diagnostic mycologique et les outils de collecte | 43 |
| II.2.6. Transport et conservation des échantillons..... | 45 |
| II.2.7. Les techniques d'analyse au laboratoire | 46 |
| II.2.7.1. L'examen direct | 46 |
| II.2.7.2. La culture..... | 46 |
| II.2.7.3. L'identification des cultures..... | 46 |
| II.2.8. Antifongigramme..... | 55 |
| II.3. Analyse statistique | 58 |
| III. RESULTATS..... | 59 |
| III.1. Résultats globaux de l'identification mycologique..... | 59 |
| III.2. Résultats selon les caractéristiques de la culture | 59 |
| III.3. Résultats des monocultures..... | 60 |
| III.3.1. Distribution des différents genres fongiques isolés en monoculture..... | 60 |
| III.3.2. Répartition selon les espèces fongiques isolées en monoculture | 61 |
| III.3.3. Résultats selon la provenance des échantillons | 64 |
| III.4. Résultats des cultures mixtes..... | 70 |
| III.5. Résultats des tests de sensibilité in vitro | 71 |
| III.5.1 Résultats du profil de sensibilité des levures..... | 71 |
| III.5.2. Résultats du profil de sensibilité des dermatophytes et pseudo dermatophytes aux ATF testés | 72 |

| | |
|--|-----|
| III.5.3. Résultats du profil de sensibilité des moisissures aux antifongiques..... | 72 |
| IV. DISCUSSION | 74 |
| IV.1. Les limites et les contraintes de l'étude | 74 |
| IV.2. Les données de l'étude..... | 75 |
| Conclusion..... | 96 |
| Recommandations..... | 97 |
| Perspectives | 97 |
| Références | 99 |
| ANNEXES | 116 |

SIGLES ET ABBREVIATIONS

Liste des sigles et des abréviations

| | |
|---------------|---|
| AMB | Amphotéricine B |
| ATF | Antifongique |
| CASP | Caspofungine |
| CLIN | lutte Contre Les infections Nosocomiales |
| CHNSS | Centre Hospitalier National Souro Sanou |
| CHUSS | Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou |
| CMI | Concentration Maximale Inhibitrice |
| NaCl | Chlorure de Sodium |
| CTR | Clotrinazole |
| EUCAST | European Committee on Antimicrobial Susceptibility |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| EPA | Etablissement Publique à caractère Administratif |
| EPS | Etablissement Publique de Santee |
| FLU | Fluconazole |
| I | Intermédiaire |
| ITR | Itraconazole |
| KOH | Hydroxyde De Potassium |
| KET | Kétéconazole |
| MALDI | Matrix – Assisted – laser – Desorption – Ionization |
| TOF | Time Of Flight |
| MIC | Miconazole |
| NYS | Nystatine |
| PCB | Pomme de terre - Carotte - Bile |
| R | Résistance |
| RAT | Rice - Agar - Tween |
| S | Sensible |
| VIH | Virus de l'immunodéficience humaine |
| VOR | Voriconazole |

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Liste des tableaux

| | |
|--|-----|
| Tableau I: Les principaux dermatophytes et leur habitat d'origine préférentiel | 9 |
| Tableau II: Classe pharmacologique, groupes chimiques et spectre d'activité des antifongiques | 33 |
| Tableau III : Répartition des principaux genres fongiques isolés en mono culture | 60 |
| Tableau IV: Distribution des différentes espèces de moisissures identifiées en monoculture | 61 |
| Tableau V: Résultats des espèces de levures isolées en monoculture | 62 |
| Tableau VI : Distribution des différents genres et espèces isolées dans l'air en monoculture | 65 |
| Tableau VII: Distribution des différents genres et espèces isolés de la paille du personnel soignant en monoculture | 67 |
| Tableau VIII : Répartition des différents genres et espèces isolés du poignet de la porte de l'entrée principale | 68 |
| Tableau IX.: Répartition des différents genres et espèces isolés du tuyau de la climatisation isolée en monoculture | 69 |
| Tableau X: Distribution des cultures mixtes pour l'ensemble des secteurs prélevés | 70 |
| Tableau XI: Profil de sensibilité des levures (les levures du genre <i>Candida</i> et <i>Geotricum candidum</i>) aux antifongiques | 71 |
| Tableau XII : Profil de sensibilité des dermatophytes et pseudo dermatophytes aux antifongiques | 72 |
| Table XIII : Profil de sensibilité des moisissures aux antifongiques | 73 |
| Table XIV: Interprétation des résultats du test d'identification de <i>C. glabrata</i> | 117 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: Classification générale des champignons selon leur mode de reproduction... | 7 |
| Figure 2: Morphologies microscopiques de quelques dermatophytes | 11 |
| Figure 3: Aspects microscopiques des différentes têtes aspergillaires | 13 |
| Figure 4: Aspect microscopique de <i>Rhizopus</i> sp | 15 |
| Figure 5: Aspect microscopique de <i>Mucor</i> sp et <i>Rhizomucor</i> sp | 16 |
| Figure 6: Aspect microscopique d' <i>Absidia</i> sp | 17 |
| Figure 7 : Aspects microscopiques des différents types de <i>Candida</i> (<i>Candida</i> sp , <i>Candida albicans</i> | 19 |
| Figure 8: Aspect microscopique de <i>Geotrichum candidum</i> | 20 |
| Figure 9: Aspect microscopique, d'un tube germinatif, d'un pseudo filament et d'un chlamydospore | 27 |
| Figure 10: Résultats ATF avec les bandelettes d'E-test d'antifongiques..... | 36 |
| Figure 11: Résultats ATF avec les disques d'antifongiques | 37 |
| Figure 12: Résultats de l'aspect macroscopique et microscopique des colonies Culture de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | 47 |
| Figure 13 : Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture de <i>Scytalidium hyalinum</i> | 48 |
| Figure 14 : Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture d' <i>Aspergillus fumigatus</i> | 49 |
| Figure 15: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture d' <i>Aspergillus flavus</i> | 49 |
| Figure 16 : Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture d' <i>Aspergillus niger</i> | 50 |
| Figure 17: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture d' <i>Aspergillus terreus</i> | 50 |
| Figure 18: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture d' <i>Absidia</i> sp | 52 |
| Figure 19: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture de <i>Rhizopus</i> sp | 52 |

| | |
|---|-----|
| Figure 20: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture de <i>Mucor</i> sp..... | 53 |
| Figure 21 : Photo de Plaque de Latex <i>Candida albicans</i> / <i>C .dubliniensis</i> , Latex <i>Candida Krusei</i> , <i>Candida glabrata</i> | 54 |
| Figure 22 : Profil d'une gélose sensible, intermédiaire et résistante aux ATF | 57 |
| Figure 23: Répartition des espèces de pseudo dermatophytes et de dermatophytes isolées en monocultures | 63 |
| Figure 24: Répartition des cultures positives selon la provenance à la réanimation | 64 |
| Figure 25: Résultats des milieux chromogéniques Culture sur milieu chromagar BD | 116 |
| Figure 26: Réaction d'agglutination de <i>Candida albicans</i> / <i>Candida dubliniensis</i> et Réactif Bichro-Dubli Fumouze | 116 |
| Figure 27: Réaction d'agglutination de <i>Candida krusei</i> et Réactif Color FUMOUE (Latex) | 117 |
| Figure 28: Réaction positif pour le test de <i>Candida glabrata</i> | 118 |
| Figure 29: Réaction positif pour le test de <i>Candida glabrata</i> | 118 |
| Figure 30 : Résultats ATF avec les bandelettes d'E-test d'antifongiques..... | 119 |
| Figure 31: Résultats ATF avec les disques d'antifongiques | 119 |
| Figure 32: Résultats de l'aspect microscopique des tubes germinatifs d'une colonie de <i>Candida albicans</i> | 119 |

LISTE DES ANNEXES

Liste des annexes

| | |
|--|-----|
| Annexe 1 : Figure des milieux chromogéniques..... | 116 |
| Annexe 2: <i>Figure du réactif Bichro-Dubli Fumouze et de la réaction d'agglutination ..</i> | 116 |
| Annexe 3: Figure du réactif Color FUMOUE krusei et de la réaction d'agglutination | 117 |
| Annexe 4 : Tableau de l'interprétation des résultats du test d'identification de <i>C.glabrata</i> | 117 |
| Annexe 5 : <i>Figure des résultats du test d'identification de C. glabrata</i> | 118 |
| Annexe 6 : <i>Figure du réactif Color FUMOUE, GLABRATA RTT FUMOUE et de la réaction d'agglutination</i> | 118 |
| Annexe 7 : <i>Figure des résultats ATF avec les bandelettes d'E-test et avec les disques d'antifongiques</i> | 119 |
| Annexe 8 : <i>Figure de l'aspect microscopique des tubes germinatifs d'une colonie de Candida albicans</i> | 119 |
| Annexe 9: <i>Figure de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture de Rhizopus sp</i> | 120 |
| Annexe 10: <i>Figure de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture de Scytalidium hyalinum</i> | 120 |
| Annexe 11 : Fiche d'enquête..... | 121 |

RESUME

RESUME

En milieu hospitalier, la maîtrise et la qualité de l'air ambiant est un élément primordial. Les champignons aéroportés constituent un danger pour les patients hébergés dans ces services à risques d'infections fongiques. Nous avons conduit ce travail dans le but d'étudier la biodiversité de la flore fongique de l'environnement des services de la réanimation et la sensibilité des agents fongiques isolés au CHUSS Bobo-Dioulasso.

Il s'est agi d'une étude transversale à visée descriptive réalisée durant 6 mois allant du 1^{er} août 2016 au 31 janvier 2017. Les sites de prélèvements ont été l'air ambiant, la paillasse du personnel soignant, le poignet de la porte d'entrée principale et le tuyau du climatiseur de la réanimation. Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage et exposition à l'air des boîtes de pétri ; puis ensemencés et incubés pendant 3 à 4 jours à 37°C à l'étuve. L'identification des colonies a été faite par la macroscopie et la microscopie pour les champignons filamenteux et des levures arthrosporées (*Geotricum*). Cependant, le test de blastèse suivi de la microscopie, l'utilisation de la gélose Chromagar et le test d'agglutination au latex ont servi à l'identification des espèces de *Candida*.

Au total 200 échantillons ont été collectés dans le service de la réanimation. Après culture, 176 échantillons ont poussé sur la gélose Sabouraud. La prévalence globale de la contamination fongique a été de 88%. Les agents fongiques les plus isolés ont été les moisissures 66,90% avec 8 genres dont le genre *Aspergillus* (48,90%) et *Aspergillus fumigatus* (32,90%). L'amphotéricine B avait une forte activité sur les souches de dermatophytes 100%.

Ainsi des mesures urgentes visant à décontaminer les niches écologiques et une surveillance épidémiologique continue du profil de résistance aux antifongiques des agents fongiques s'impose dans ces services de soins intensifs au CHUSS de Bobo – Dioulasso.

Mots-clés : Mycoses, Profil de sensibilité, Antifongiques, Réanimation, CHU-Bobo-Dioulasso.

Abstract

In hospital, the quality control of the air is of paramount importance. Indeed, airborne fungi constitute a real danger for patients who are hospitalized in services at risk of fungal infection. This research work aimed to study the biodiversity of fungal flora in the environment of intensive care department and the susceptibility of fungal agents isolated at CHUSS Bobo – Dioulasso.

It was a traverse study with an analytical aim conducted for six (6) months from 1st August 2016 to January 31st 2017. The collection sites were surrounding air, straw mattress of the treating personnel, the wrist of the main front-door, and the conduit of the air-conditioner of intensive care. The samples were collected by cleaning and exhibition in air of limp with kneading; then sowed and incubated for 3 - 4 days .Identification of filamentous fungi and yeast were performed by macroscopic observation of colonial morphology and microscopic observation of fungal structures. However yeast fungi were identified by means of germ tube test, chromogenic medium and latex reagents for rapid identification.

A total of 200 samples were collected from the intensive care department, 176 samples showed a positive culture. The percentage of positive cultures was 88 % .The most commonly isolated species were mould 66,90% with 8 types of *Aspergillus* at 48,90% and in *Aspergillus* 32,90%. Amphotericin B showed activity on dermatophyte 100%.

Urgent measures should the fore be taken so as to decontaminate ecological niches. Furthermore, a continued epidemiological surveillance of the profile of resistance to fungal agent antifungal, should be kept in the intensive care department of CHUSS Bobo – Dioulasso.

Keywords: Mycosis, Contour of feelings, Antifungal, Intensive care, TEACHING HOSPITAL Bobo-Dioulasso.

INTRODUCTION ET ENONCE DU PROBLEME

Introduction et énoncé du problème

Les infections fongiques nosocomiales, ou, de façon plus large, les infections fongiques liées aux soins et l'air hospitalière, restent des maladies redoutables [1;2]. Au service de la réanimation la maîtrise et la qualité de l'air ambiant des salles d'hospitalisations sont des éléments primordiaux. En effet Les champignons aéroportés constituent un réel danger pour les patients hébergés dans les services à risque d'infections fongiques (RIF) nosocomiales notamment les immunodéprimés [3 ;4]

De ces dernières décennies (1990), on assiste à l'émergence de nouveaux agents mycosiques opportunistes dont les levures des espèces *Candida spp* [3]. Des études d'auteurs ont rapportés la présence des champignons filamenteux à mycéliums clairs du genre *Aspergillus* dans 86,6% des cas de la flore fongique de l'air [3]. D'autres par contre ont enregistré ceux à des hyphes foncés du genre *Alternaria* dans 32% cas de la flore environnementale hospitalière [4].

Ces agents fongiques représentent aujourd'hui une préoccupation majeure pour les services de soins intensifs et un défi important pour les cliniciens et les microbiologistes [5]. Car le caractère émergent de ces agents infectieux, associé à leur abondance dans les secteurs les plus sensibles de soins tels que le service de la réanimation associé à leur résistance variable à certains antifongiques notamment les azolés, est l'une des causes d'échec thérapeutique rendant leur prise en charge délicate des patients hébergés dans ces services [6].

Si les statistiques sont peu connues à l'échelle nationale, l'impact de ces agents fongiques causant des infections nosocomiales chez des patients d'immunité déjà affaiblie n'est-il pas sous-estimé par les personnels de santé et les microbiologistes pour une prise en charge efficace et efficiente des infections nosocomiales des services de soins intensifs ? [5]

Par ailleurs, les comportements du personnel, l'hygiène du matériel et des locaux, quelques fois associées à la négligence des mesures de prévention et aux manques de formations sur des bonnes pratiques en milieux de soins pourraient être à l'origine de l'émergence du nombre important d'agents fongiques enregistrés au service de réanimation [3].

Devant ce constat, il nous paraît intéressant de mener la présente étude afin de rechercher les agents fongiques de l'environnement des services de soins intensifs et d'étudier leur sensibilité aux antifongiques usuels au CHU Sourô Sanou (CHUSS) de Bobo-Dioulasso.

PREMIERE PARTIE :

**GENERALITES SUR LA
BIODIVERSITE FONGIQUE DE
L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER
ET REVUE DE LA LITTERATURE**

I. GENERALITES SUR LES CHAMPIGNONS ET L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER

I.1. Définitions

I.1.1. Environnement hospitalier

Le milieu hospitalier présente des individus sains et de nombreux patients présentant des pathologies variées, infectieuses ou non. Chacun en se déplaçant dans les locaux disperse des germes qui peuvent notamment se retrouver nombreux sur les chaussures, les poignées de porte, les interrupteurs, les surfaces et dans l'air etc., faisant de l'environnement hospitalier un véritable réservoir de germes [7; 8]. Ceux-ci évoluent selon leurs capacités intrinsèques de résistances et selon les désinfectants et antiseptiques utilisés pour le nettoyage et les soins. Face à ces produits et aux antimicrobiens prescrits dans l'établissement, des microbes subissent une forte pression de sélection: seuls les plus résistants survivent [1; 9].

I.1.2. Infections nosocomiales

Les infections nosocomiales aussi appelées infections hospitalières, sont des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital et qui n'étaient; ni présentes ; ni en incubation au moment de l'admission du patient [10]. Les infections survenant plus de 48 heures après l'admission sont habituellement considérées comme nosocomiales [11-13].

I.2. Mode de contamination des champignons

Il existe quatre grands modes de transmission :

- **l'auto-infection** : le malade s'infecte avec ses propres germes, à partir des portes d'entrée que sont: les lésions des muqueuses, les lésions cutanées, les muqueuses et du tractus digestif [14];

- **l'hétéro-infection**: dans ce cas, le germe responsable de l'infection nosocomiale provient d'un autre malade. La transmission est le plus souvent manuportée, par le personnel soignant intervenant auprès de plusieurs patients, disséminant ainsi les germes d'une personne à l'autre [15;16];

- **la xéno-infection:** ce mode de transmission est un peu à part; dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venant de l'extérieur (personnel soignant, visiteurs, sous-traitants), et présentant eux-mêmes une pathologie infectieuse, déclarée ou en cours d'incubation [16;17].

- **l'exo-infection :** ce mode de transmission inclut soit un dysfonctionnement technique d'un matériel (filtre à air, autoclave...) destiné à la protection des patients qui, ne remplissant plus son office, les laisse en contact avec des germes qui ne devraient, en principe, pas faire l'objet d'une infection, au vu des mesures prises pour les prévenir (aspergillose), soit à une erreur commise dans l'exécution des procédures de traitement du matériel médico-chirurgical [18;19].

I.3. Causes des infections nosocomiales

Il existe des facteurs favorisant le manque d'hygiène (éventuellement faute de salles de bain ou douches), le comportement du personnel hospitalier (qui parfois sous-estime le risque ou le comprend mal), ou encore la mobilité des patients (fréquemment transférés d'un établissement ou service à l'autre) [19-21].

I.4. Les champignons

I.4.1. Définitions et positions taxonomiques

Les champignons sont des eucaryotes dépourvus de chlorophylle. Ils ne comportent ni feuilles, ni tiges, ni racines. Ils se nourrissent par absorption transmembranaire. Ils sont en général des saprophytes ou des commensaux mais peuvent devenir parasites sous différentes conditions. C'est le passage de la forme saprophyte à la forme parasite (opportunisme) qui génère la pathogénicité d'un champignon [16; 22].

Selon la classification de Whittaker qui date de 1969, le monde vivant est organisé en cinq règnes.

- Le règne des **monomères ou procaryotes** (bactéries),
- Le règne **des Protistes eucaryotes** uni ou pluricellulaires : il s'agit d'un ensemble disparate où l'on retrouve les protozoaires, les algues et les protistes fongicoïdes ;
- Le règne **des plantes ou végétaux chlorophylliens** ;
- Le règne **des animaux** ;
- Le règne **des champignons ou *Fungi*** [22; 23].

On distingue dans le règne des *Fungi* cinq phyla, selon leur mode de reproduction :

a) **les Champignons inférieurs**

Les **Chytridiomycotina** (Chytridiomycètes), non impliqués en pathologie humaine. Ce sont des champignons aquatiques;

b) Les champignons supérieurs (moisissures, dermatophytes)

- Les **Zygomycotina** (Zygomycètes) exemples : *Mucor* sp, *Rhizopus* sp ;
- Les **Ascomycotina** (Ascomycètes) exemples : *Arthroderma*, *Candida* ;
- Les **Basidiomycotina** (Basidiomycètes) exemple : *Cryptococcus neoformans*,
- Les **Deuteromycotina** (Deutéromycètes) ce sont des champignons imparfaits, qui n'ont pas de reproduction sexuée connue. Exemple : *Acremonium* sp, *Penicillium* sp [24].

La figure 1 ci-dessous présente la classification générale des champignons selon leur mode de reproduction.

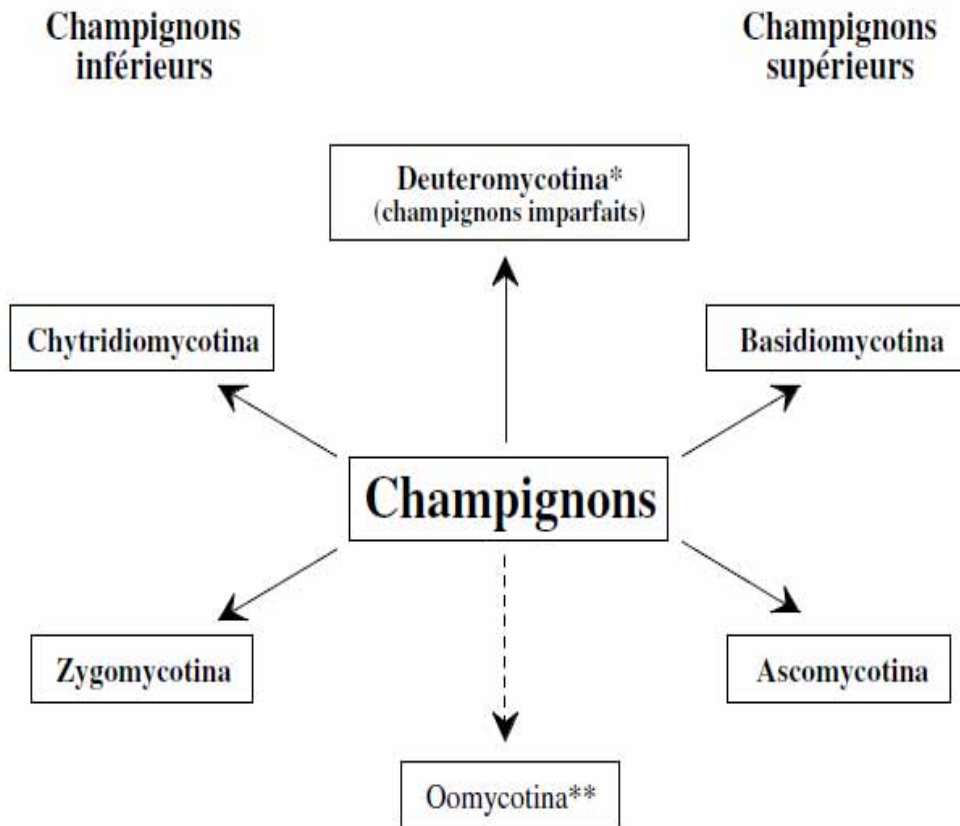


Figure 1: Classification générale des champignons selon leur mode de reproduction. (Hoog , 1995)

I.4.2. Morphologie générale des champignons et reproduction

Le thalle est l'appareil végétatif et reproducteur formé de filaments ou hyphes. Ces derniers sont des tubes ramifiés de 2 à 15µm de diamètre, de longueur indéterminée. L'ensemble des filaments forment le mycélium. Dans certains cas, le thalle est réduit à un élément unicellulaire : la levure [25].

I.4.2.1. Différents types de thalles isolés de l'environnement hospitalier

a) Le thalle filamenteux

Il est constitué de tubes de 2 - 15 µm de diamètre, ramifiée de manière dichotomique et de longueur variable (les moisissures, les dermatophytes et les mucorales) [25].

b) Le thalle levuriforme

Ce thalle est constitué d'éléments unicellulaires, de forme ronde ou ovale, mesurant quelques micromètres de diamètre 3 - 20 μm (*Candida* sp) [26].

c) Le thalle fumagoïde

Il est constitué de mycélium dissocié et constitué d'éléments arrondis isolés ou en groupes, à membrane épaisse et de couleur noirâtre (*Cladospira* sp, *Phialospira* sp etc.) [26].

d) Le thalle en grain

La structure est constituée de grains formés de filaments mycéliens enchevêtrés réunis par ciment plus ou moins compact, responsable des mycétomes (*Madurella mycetomatis*, *Leptosphaeria senegalensis* etc.) [24; 26].

e) Le thalle dimorphique

Il est constitué de thalle filamenteux dans l'environnement et de thalle levuriforme en culture (*Blastomycetes dermatitidis*, *Penicillium marneffeii* etc.) [27].

Toutefois, les thalles rencontrés dans le cadre de notre étude sont ceux levuriformes et filamenteux.

I.4.2.2. Morphologie des champignons étudiés

a) Les dermatophytes

i) Définition

Les dermatophytes sont des champignons microscopiques, appartenant aux genres *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton*. A partir des produits pathologiques, ils se reproduisent sur le milieu de Sabouraud en formant des filaments (mycéliens) et des spores issues d'une reproduction asexuée appelée conidies (macroconidies et microconidies) [28,29].

ii) Habitat

On regroupe les dermatophytes selon leur principal réservoir dans la nature:

- **Les espèces géophiles** (sol) ou telluriques : (les champignons ne se développant que dans le sol), ex : *Microsporum gypseum*
- **Les espèces zoophiles**: les champignons ne se développant que chez certains animaux tels que le chat (*M. canis*), les bœufs et les ovins (*T. verrucosum*), le cheval (*T. equinum*), les hérissons (*T. erinacei*) ; leur transmission implique un contact direct ou indirect avec l'animal.
- **Les espèces anthropophiles**: les champignons ne se développant que chez l'Homme, leur isolement implique une contamination interhumaine. Ex : *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *T. soudanense* [26; 30].

Le tableau 1 ci-dessous présente les principaux dermatophytes et leur habitat d'origine préférentiel.

Tableau I: Les principaux dermatophytes et leur habitat d'origine préférentiel [31].

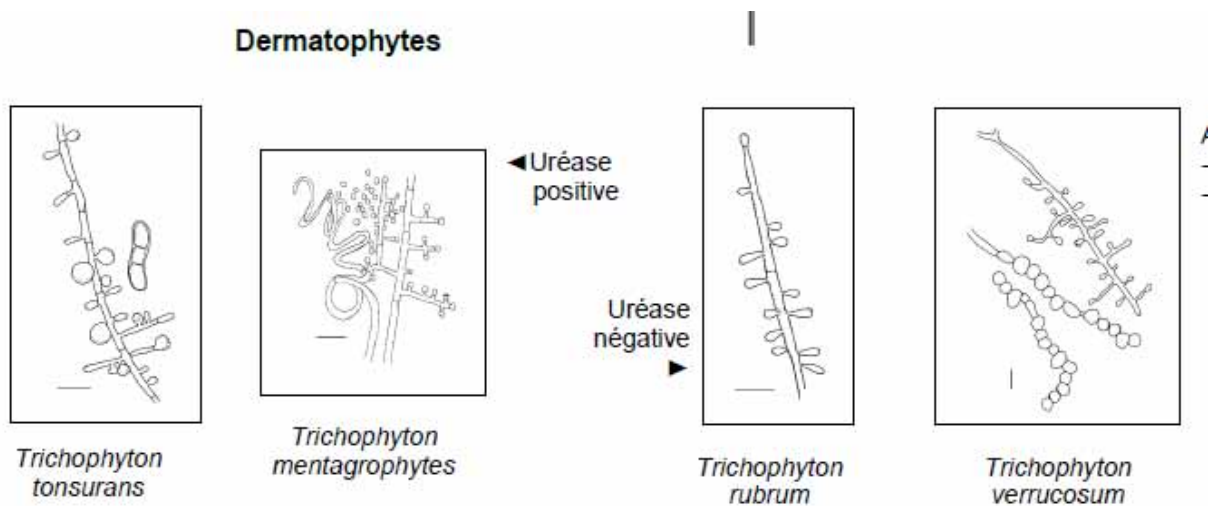
| | |
|--------------------------------------|---|
| <u>ESPECES ANTHROPOPHILES</u> | Genre <i>Microsporum</i> ; <i>M. audouinii</i> var. <i>langeronii</i> , <i>M. ferrugineum</i> , Genre <i>Trichophyton</i> ; <i>T. tonsurans</i> , <i>T. violaceum</i> , <i>T. soudanense</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i> , <i>T. schoenleinii</i> , <i>T. concentricum</i> , Genre <i>Epidermophyton</i> <i>E. floccosum</i> |
| <u>ESPECES ZOOPHILES</u> | Genre <i>Microsporum</i> ; <i>M. canis</i> , <i>M. persicolor</i> , <i>M. praecox</i> , <i>M. equinum</i> , Genre <i>Trichophyton</i> ; <i>T. mentagrophytes</i> (également tellurique), <i>T. erinacei</i> , <i>T. equinum</i> , <i>T. gallinae</i> , <i>T. verrucosum</i> , |
| <u>ESPECES TELLURIQUES</u> | Genre <i>Microsporum</i> ; <i>M. gypseum</i> , <i>M. fulvum</i> , Genre <i>Trichophyton</i> , <i>T. mentagrophytes</i> (également zoophile), <i>T. terrestris</i> , <i>T. ajelloi</i> |

iii) Morphologies microscopiques

On recherchera :

- **les filaments cloisonnés**, de diamètre régulier ou à l'inverse présentant des dilatations (mycélium en raquette) ou constitués d'articles, vésicules, évoquant des chaînes de chlamidospores (filaments toruloïdes de *T. verrucosum*) ;
- **les microconidies** unicellulaires, rondes et piriformes (*T. mentagrophytes* et *T. mentagrophytes var interdigitale*) ;
- **les macroconidies cloisonnées**, à parois lisses (*Trichophyton* et *Epidermophyton*) ou échulées (*Microsporum*) ;
- **d'autres éléments** peuvent se voir macroscopiquement : structure en clou de chandelier ou aspects en bois de cerf chez *T. schoeleinii*, des vrilles chez *M. persicolor* et *T. mentagrophytes*, des excroissances triangulaires pour *T. rubrum*, ou encore des organes pectinés pour *M. audouinii var langeronii* [30 ; 31].

La figure 2 ci-dessous présente la morphologie microscopique de quelques dermatophytes.



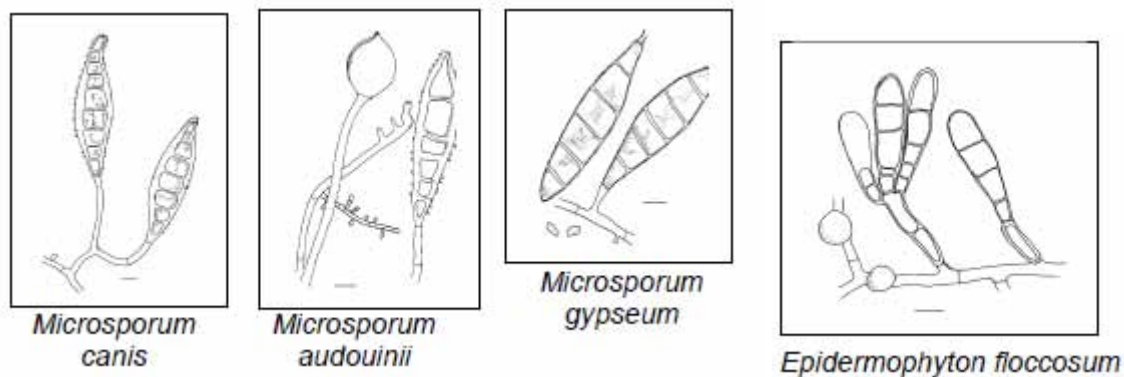


Figure 2: Morphologies microscopiques de quelques dermatophytes (Philippe Dufreshe , 2014) .

b) Les pseudo dermatophytes

i) Définition

Les pseudo dermatophytes sont des moisissures ayant la capacité de parasiter la peau, les ongles de l'Homme, simulant ainsi une dermatophytie. Trois espèces sont individualisées : *Scytalidium hyalinum* (*Neoscytalidium haylinum*), *Scytalidium dimidiatum* (*Neoscytalidium dimidiatum*) et *Onychocola canadensis* [27].

ii) Habitat

Les pseudo filaments sont des champignons du sol, parasites des plantes, des fleurs et des arbres fruitiers [23].

iii) Morphologies microscopiques

Au microscope, deux sortes de filaments mycéliens sont visibles : hyalins, fins et régulièrement septés, ou bruns, plus larges, de diamètre irrégulier et ayant des parois épaisses. Ces filaments bruns se dissocient ensuite en arthrospores uni ou bicellulaires de formes rectangulaires ou de tonnelets chez *Scytaliduum dimidiatum* [32]. Ces filaments se dissocient ensuite en arthrospores uni ou bicellulaires de formes rectangulaires ou ovalaires chez *Scytalidium hyalilum* [33].

Egalement on observe au microscope des chaînes d'arthrospores disposées à angle droit sur les filaments chez *Onychocola canadensis* [34].

c) Les moisissures

Les moisissures sont des champignons filamenteux saprophytes au comportement opportuniste variable selon l'espèce. Les moisissures peuvent se retrouver à l'état pathologique dans n'importe quel site de prélèvement [27].

On distingue les groupes de moisissures suivantes :

- **les Aspergillus** : ce sont des hyalohyphomycètes à hyphes clairs ou hyalins. Ils sont les agents d'aspergilloses ; exemples : *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. versicolor* etc ;
- **les autres moisissures hyalohyphomycètes**, exemples : *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium* etc. Ce sont les agents de fusarioses, scedosporioses et des acremonioses respectivement.
- **les moisissures hyphomycète ou à hyphes foncés ou noirs** encore appelées dématiés: ce sont les agents de phaeohyphomycoses; exemples : *Curvularia*, *Ulacladium*, *Alternaria* etc [27].

i) Les Aspergillus

Définition

Les aspergillus sont des moisissures à filaments cloisonnés, cosmopolites et sont responsables de mycoses superficielles et de mycoses profondes résultant principalement d'une inhalation aérienne des spores [24; 27].

Habitat

Les aspergillus se rencontrent spécifiquement dans l'air, dans la terre, dans l'eau, sur les plantes, les débris végétaux en voie de putréfaction, le foin, la paille tassée et humide, les céréales ou les fruits moisiss. L'humidité favorise leur survie et leur développement [27].

Les principales espèces isolées au laboratoire et par ordre d'importance médicale sont : *A. fumigatus* , *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. versicolor*, *Aspergillus* du groupe *glaucus* (*A. candidus*) [27;35].

Morphologies microscopiques

Les aspergillus sont reconnaissables à l'examen microscopique par des filaments septés portant des têtes aspergillaires (spécifiques du genre *Aspergillus*) qui sont des vésicules à l'extrémité de conidiophores qui donnent naissance à des spores externes allongées (stigmates ou phialides) qui à leur tour donnent des conidies [35 ; 36].

La figure 3 ci-dessous présente les aspects microscopiques des différentes têtes aspergillaires.

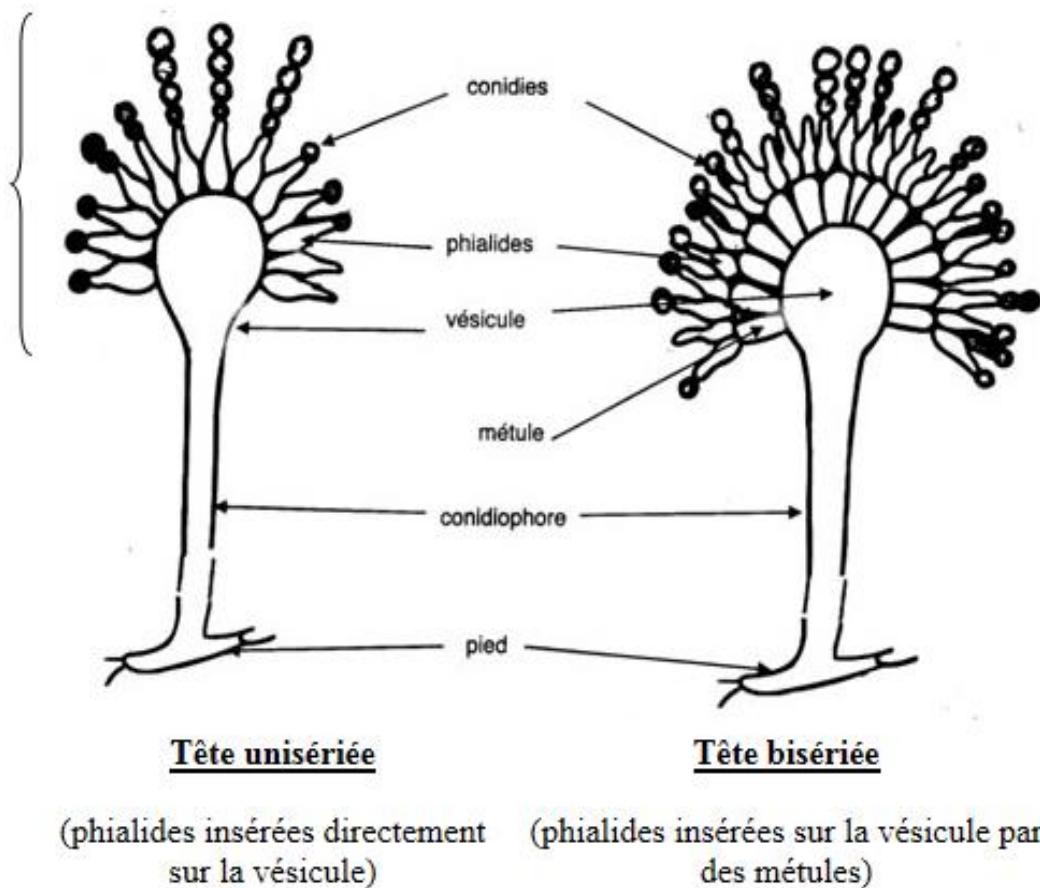


Figure 3: Aspects microscopiques des différentes têtes aspergillaires(Brigitte Veron ,2011)

ii) Les mucorales

Définition

Les Mucorales sont des champignons filamenteux non cloisonnés cosmopolites très répandues. Redoutables opportunistes, notamment chez les sujets diabétiques et les patients atteints d'hémopathies [27 ; 35].

Habitat

Les mucorales sont des saprophytes du sol où ils se nourrissent à partir des végétaux, des céréales et des excréments [35].

Morphologies microscopiques

Le thalle est siphonné, constitué de filaments peu ou pas cloisonnés de diamètre large (10 µm) et irrégulier [27]. Les filaments portent pour la plupart des rhizoïdes sous formes de racines. Les mucorales produisent pour la plupart des stolons, leurs sporocystes sont globuleux ou piriformes portant des spores internes lisses ou striées appelés sporocystospores. L'extrémité du sporocystophore est dilatée en vésicule appelée la columelle qui saillie dans le sporocyste [35 ; 36]. Sous le sporocyste, le sporocystophore peut avoir une forme évasée, c'est l'apophyse. C'est la morphologie des sporocystes et la présence de rhizoïdes qui servent à la détermination de l'espèce [27]

La figure 4 ci-dessous montre l'aspect microscopique de *Rhizopus sp.*

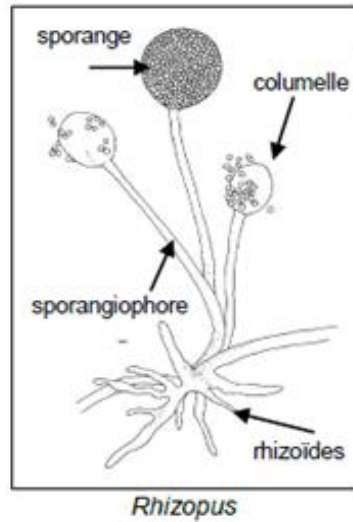
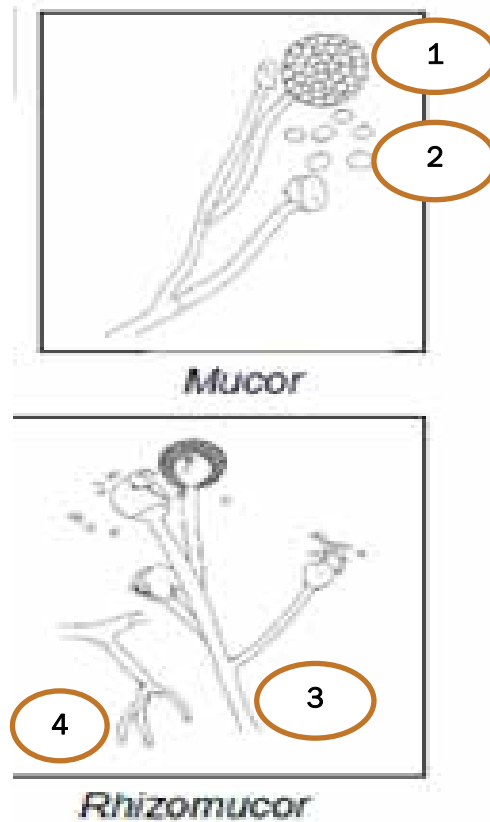


Figure 4: Aspect microscopique de *Rhizopus sp* (Brigitte Veron , 2005) .

La figure 5 ci-dessous présente l'aspect microscopique de *Mucor sp* et *Rhizomucor sp* [35].



- 1- Sporange
- 2- Sporocyste
- 3- Sporangiphore
- 4- Rhizoïdes

Figure 5: Aspect microscopique de *Mucor sp* et *Rhizomucor sp* (Brigitte Veron , 2005) .

La figure 6 ci-dessous montre l'aspect microscopique d'*Absidia* sp.

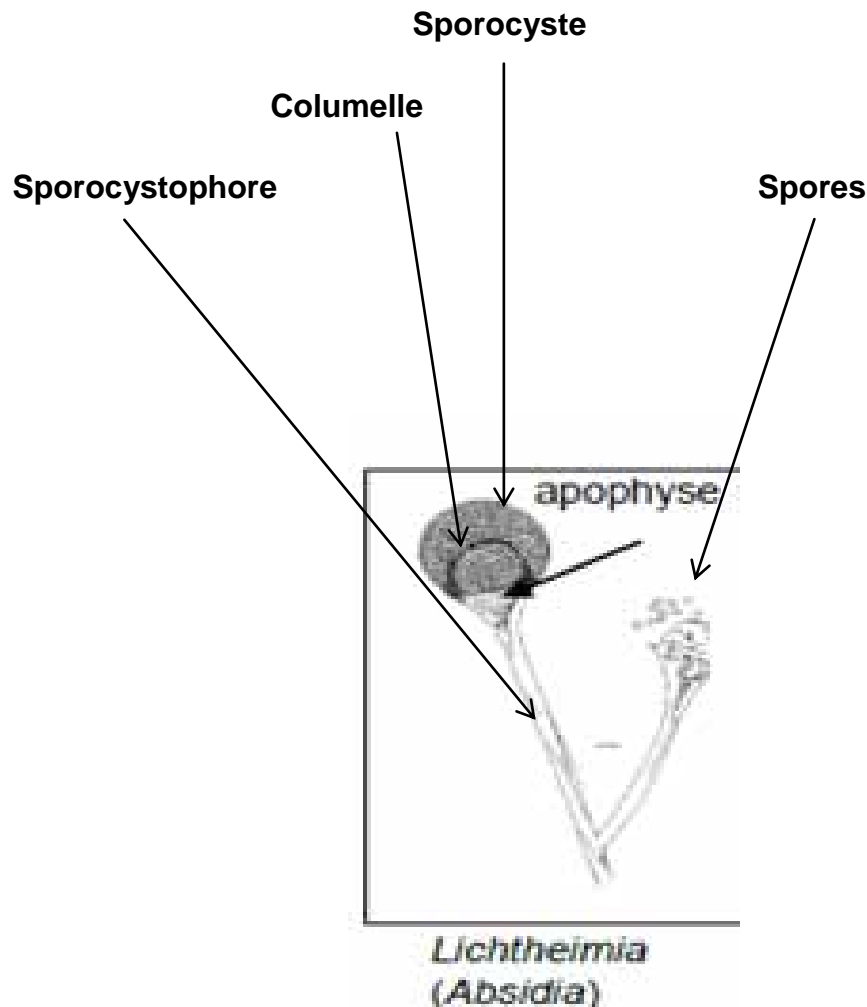


Figure 6: Aspect microscopique d'*Absidia* sp (Brigitte Veron , 2005) .

d) Les champignons levuriformes

Les levures sont des champignons microscopiques présentant un thalle constitué d'éléments unicellulaires rondes ou ovalaires, mesurant 3 – 14 μm de long et 2- 5 μm de large qui peuvent être associés à des pseudo- filaments ou mycélium vrai. Ce sont des champignons saprophytes ou commensaux qui peuvent déterminer des atteintes superficielles ou envahir les organes profonds [35].

i) Les *Candida*

Définition

Les *Candida* sont des levures ovoïdes, en formes de bouquets, larges ou courts selon l'espèce. Ils présentent parfois des pseudo - filaments [37].

Habitat

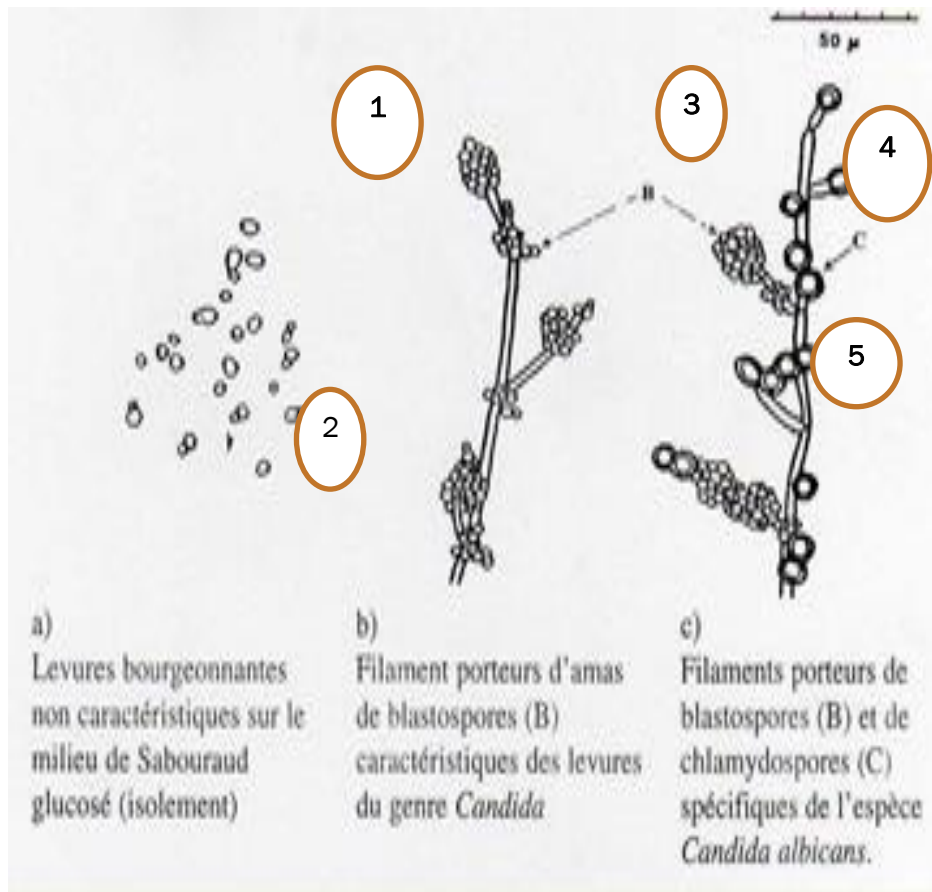
Les levures du genre *Candida* sont des levures ubiquitaires ; elles sont retrouvées dans l'environnement (sol, air) mais aussi dans les produits alimentaires. Il en est ainsi de nombreuses espèces du genre *Candida* telles que, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. albicans* et *C. glabrata* sont les principales levures commensales des voies digestives et génitales, tandis que *C. parapsilosis* et *C. famata* sont des levures commensaux du revêtement cutané [37].

Morphologies microscopiques

Les différentes morphologies microscopiques des levures du genre *Candida* sont les suivantes :

- ***C. albicans*** : ce sont des levures ovoïdes présentant un long pseudo - mycélium et large avec un bouquet de blastospores ;
- ***C. parapsilosis*** : cellules levuriformes se présentant sous forme ovoïde avec pseudo mycélium court, disposé en étoile autour des blastospores en amas ;
- ***C. Krusei*** : il s'agit des levures allongées présentant un pseudo- mycélium long et fin avec un bouquet de blastospores au niveau des ramifications et le long des filaments ;
- ***C. tropicalis*** : elles sont ovoïdes assez grosses avec de longs pseudo-mycéliums, peu ramifiés et quelques blastospores en amas ;
- ***C. glabrata*** : elles se présentent sous formes et rondes avec absence de pseudo-mycélium, cependant les blastospores sont groupées en amas [38].

La figure 7 ci-dessus présente les aspects microscopiques des différents types de levures du genre *Candida* (*Candida* sp, *Candida albicans*) [35 ; 37].



- 1- Cellules rondes
- 2- Cellules bourgeonnantes
- 3- Blastospores en amas
- 4- Chlamydospores
- 5- Pseudo filaments

Figure 7 : Aspects microscopiques des différents types de *Candida* (*Candida* sp , *Candida albicans* (Chabasse D , 2008)

ii) *Geotricum candidum*

Définition

Geotricum candidum est un champignon imparfait du groupe des ascomycètes, constitués de filaments segmentés, dont se détachent des éléments rectangulaires [38].

Habitat

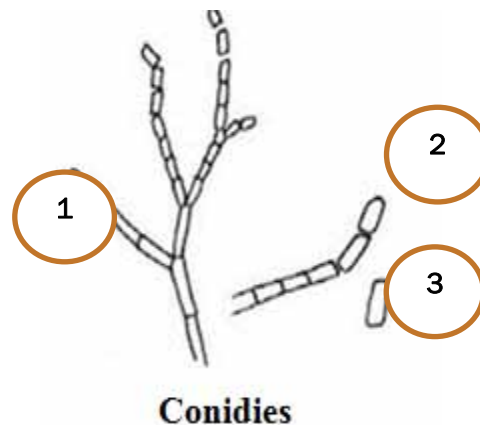
Geotricum candidum est un champignon retrouvé dans le sol, dans l'eau et les laitages. Il provoque des troubles chez des terrains immunodéprimés [38].

Morphologies microscopiques

Au plan microscopique *G. candidum* présente des :

- **des hyphes septés rampants**, à embranchements dichotomiques de 7-11 μm d'épaisseur et produisant des conidies par désarticulation du thalle [38] ;
- **des conidies cylindriques**, en forme de tonneau à ellipsoïdales de taille 6-12 x 3-6 μm à 20 x 9 μm , formées par désarticulation des hyphes fertiles [38].

La figure 8 ci-dessous présente l'aspect microscopique de *Geotrichum candidum*



- 1- Filaments arthrosporés
- 2- Filaments arthrosporés désarticulés
- 3- Arthroconodies

Figure 8: Aspect microscopique de *Geotrichum candidum* (Brigitte Veron , 2011) .

I.4.3. Les principales manifestations cliniques des champignons étudiés

I.4.3.1. Les formes cliniques dues aux dermatophytes

Les dermatophytoses sont des mycoses superficielles provoquées par des dermatophytes. Compte tenu de leur affinité pour la kératine humaine, ces champignons attaquent la peau en particulier l'épiderme (épidermophyties) et les phanères (onyxis et teignes) [39].

I.4.3.2. Les formes cliniques dues aux moisissures

Les moisissures peuvent être retrouvées à l'état pathologique dans n'importe quel site de prélèvement. Il conviendra à la fois d'apprécier si la moisissure est ou non pathogène. Ainsi on a :

(i) **les Aspergillus** (agents des aspergilloses) : ce sont des pathogènes opportunistes responsables dans certaines circonstances d'atteintes pulmonaires chroniques , immuno allergiques (asthme , rhino sinusites, alvéolites allergiques) et , des mycoses pulmonaires invasives . [27]

(ii) **Les Fusaria** : agents des onychomycoses, ils sont de plus en plus impliqués dans des affections systémiques surtout chez les patients atteints d'hémopathies malignes [40] ;

(iii) **Scedosporium apiospermum** : agents des mycétomes, ces moisissures se sont révélées de véritables opportunistes. Elles engendrent des atteintes pulmonaires et cérébrales chez les patients profondément immunodéprimés [30].

(iv) **Les mucorales** : ce sont des agents des mucor mycoses. Ils sont à l'origine des infections graves et dont le pronostic dépend du terrain et de la rapidité du traitement. On n'y range :

-les formes rhino- cérébrales : elles sont rencontrées surtout chez les patients diabétiques [36] ;

-les formes pulmonaires : elles sont retrouvées chez les patients leucémiques et traités par corticothérapie [36] ;

-**les formes gastro intestinales** : on les retrouve chez les enfants atteints de kwashiorkor [21;40] ;

-**les formes disséminées observées** chez les grands immunodéprimés (les broncho pneumopathies) [36,40] ;

- **les formes cutanées primitives** : il s'agit le plus souvent d'une surinfection de plaies chez les grands brûlés ou polytraumatisés [21; 36].

I.4.3.3. Les formes cliniques dues aux levures

- Les levures du **genre Candida** sont des germes impliqués dans les septicémies et les infections nosocomiales . Aussi nous avons les candidoses cutanées , cutanéomuqueuses , muqueuses (génitales et digestives) [36].

- **Geotricum candidum** est une levure impliquée dans les entéropathies et les broncho-pneumopathies [36;38].

I.4.4. Les différentes techniques de diagnostic des champignons microscopiques

Le diagnostic des champignons microscopiques peut se faire par plusieurs techniques biologiques dont les plus importantes sont les suivantes le diagnostic mycologique, immunologique, moléculaire et histologique.

I.4.4.1. Diagnostic mycologique

a) Les prélèvements

Les prélèvements utilisés en mycologie pour le diagnostic des champignons sont les suivants [27] :

- **les prélèvements cutanés** : les prélèvements de l'épiderme sont constitués de squames obtenues par grattage à la curette et les phanères (les cheveux, les poils et les ongles) obtenues à l'aide d'une pince par coupure ;

- **les prélèvements sous cutanés** ; les nodules sous cutanés, les fistules et les abcès constituent les prélèvements à réaliser ;

- **les liquides biologiques** : les selles, les urines, le liquide pleural et le LCR ;

- **Les produits d'expectorations**, les produits d'aspirations bronchiques et de lavage bronchio – alvéolaires, et les crachats ;

- **Le sang**;

- **L'air, la paille, les murs, les plafonds et les outils (matériels d'opération)** peuvent également servir de prélèvements dans le cadre d'une surveillance de la flore fongique environnementale.

b) L'examen direct

Il est fonction du type de prélèvement et de la recherche du champignon demandé (dermatophytes, autres champignons). Techniquement, il est réalisé entre lame et lamelle, avec adjonction ou non d'un colorant éclaircissant (KOH, Noir Chlorazol, Bleu de méthylène, Bleu de lactophénol et le Calcofluor).

L'examen de la préparation se fait à l'objectif x 20 pour le repérage, puis x 40 pour l'identification [24, 27].

c) La culture

i) Les différents milieux d'ensemencement

Les méthodes d'ensemencement sont fonctions du prélèvement, ainsi :

- **pour les dermatophytes** : on utilise le milieu Sabouraud + Chloramphénicol et/ou gentamycine (AB inhibe la croissance bactérienne) + Cycloheximide (Actidione®). Ce dernier inhibe la croissance des moisissures saprophytes ; les milieux sont coulés en tube ou en boîte de pétri [30] ;

- **pour les moisissures** : la culture se fait sur le milieu Sabouraud + Chloramphénicol et/ou gentamycine (ces derniers sont des antibiotiques utilisés pour éviter la contamination bactérienne) [27] ;

- **pour les levures du genre *Candida*** : la culture se fait sur le milieu Sabouraud + Chloramphénicol et/ou gentamycine, puis une petite colonie est ensemencée sur un milieu chromogénique (substrat donnant la coloration pendant la croissance du champignon : la levure) [33; 40].

ii) Les différentes conditions d'incubation

- **Pour les dermatophytes** : les cultures sont incubées à l'étuve entre 25-30°C et le développement des colonies se fait au bout 3 à 10 jours, voire plus [27].

-**Pour les moisissures** : l'incubation des cultures est faite entre 30 - 37°C et le développement des colonies s'observe en 3 à 5 jours [27].

-**Pour les levures du genre *Candida*** : les cultures sont incubées à l'étuve entre 30-35°C et le développement des colonies se fait au bout de 24 - 48h [30].

d) L'identification

Elle se base sur les caractères macroscopiques et microscopiques des colonies.

i) Le temps de pousse

- **Pour les levures** : la croissance est rapide et pousse au bout de 48h [35] ;

- **Pour les moisissures** : la croissance se fait en 3 jours pour *Aspergillus* et supérieur ou égale à 5 jours pour les autres moisissures [35] ;

- **Pour les dermatophytes** : la croissance est lente et pousse au bout 3 à 10 jours, voire plus [35] ;

ii) Aspect macroscopique des cultures

Les aspects macroscopiques des champignons d'importance médicale sont les suivants:

- **pour les levures** :

Candida : les levures présentent des colonies crémeuses et blanches ;

Rhodotorula : les levures de ce genre ont des colonies rouges ou orangées ;

Cryptococcus : cette levure présente des colonies beiges, coulantes, muqueuses,

Trichosporon : les colonies de cette levure sont beiges sèches, bombées, rugueuses et plissées,

Geotricum : la levure présente des colonies blanches crémeuses, sèches, plâtreuses, muqueuses ou rugueuses) [27] ;

- **pour les filamenteux** : on s'appuiera sur la taille, la consistance, la surface, la couleur, le pigment et la texture [30] ;

- **pour les moisissures** ; les colonies peuvent être de couleur blanches ou foncées, parfois colorées et de texture duveteuses, poudreuses, cotonneuses ou veloutées [30; 35].

iii) Caractères microscopiques des cultures

Les caractères microscopiques des champignons d'importance médicale sont les suivants :

- **pour les levures** : on prélève un petit fragment de colonies à dilacérer dans une goutte de lactophénol ou bleu-lactophénol, déposé préalablement sur une lame porte objet et on observe [27; 35, 37] pour :

Candida : les spores ou conidies sont des cellules rondes et bourgeonnantes ;

Rhodotorula : on note l'absence de pseudomycélium sur les milieux Riz Agar Tween (RAT) ou Pomme de terre Carotte Bile (PCB) (ou très réduit). Ce sont des levures ovales assez allongées, de taille moyenne (6 à 9 μm sur 2,5 à 4 μm), à paroi épaisse, pouvant même simuler une capsule, à bourgeonnement multipolaire ;

Cryptococcus : C'est une levure ronde de 3 à 8 μm de diamètre, entourée d'une capsule mucopolysaccharidique (absence de pseudomycélium) ;

Trichosporon : cette levure présente des filaments mycéliens et arthrospores bourgeonnantes),

Geotricum : cette levure présente des filaments mycéliens et arthrospores non bourgeonnantes.

- **pour les champignons filamenteux (les dermatophytes et les moisissures) :** après l'étalement sur une lame porte objet par la technique du drapeau qui consiste à prendre un bout de cellophane sur la culture puis sur une lame, on y ajoute une goutte de lactophénol ou bleu-lactophénol et on procède à l'observation de la préparation au microscope. On observe des spores et des filaments visibles au microscope.

Les spores au microscope sont ensuite décrites en fonction de leur morphologie, leur mode de formation, et les types de filaments [31, 35; 36, 40].

e)Tests complémentaires d'identification des levures

i) Test de filamentation ou de blastèse

Principe : A base du sérum humain ou animal, il permet en effet de procéder rapidement à l'identification de *Candida albicans*. Il repose sur le principe que *Candida albicans*, incubé pendant 2 à 4h à 37°C, émet directement un tube de germination, sans constriction à sa base, ce qui le différencie du pseudo-mycélium éventuellement produit dans ces conditions par d'autres espèces du genre *Candida*.

Technique : elle consiste à :

- repartir 0,5 ml de sérum dans un tube à hémolyse ;
- ensemencer la souche à tester prélevée sur un milieu solide à l'anse de platine pour obtenir une suspension d'opacité légère ;
- incuber le tube à l'étuve à 37 °C pendant 2 à 3 heures ;
- déposer une goutte de la suspension entre lame et lamelle ;
- examiner au microscope x 10 pour le repérage et x 40 pour l'identification.

Lecture : le tube germinatif ne présente pas d'étranglement à la base contrairement au bourgeon habituel ou au pseudo filament [27; 37; 41].

La figure 9 ci-dessous présente l'aspect microscopique, d'un tube germinatif, d'un pseudo filament et d'un chlamydospores

Tube germinatif

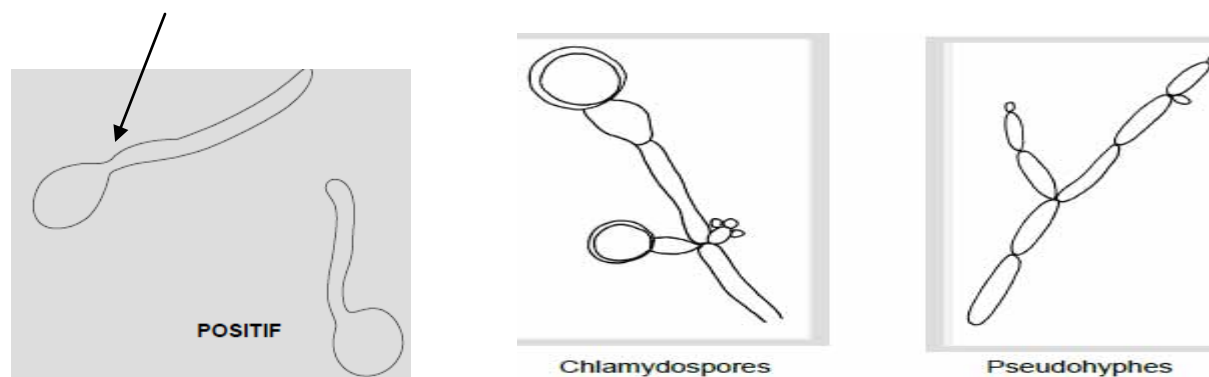


Figure 9: Aspect microscopique, d'un tube germinatif, d'un pseudo filament et d'un chlamydospore (Anne Marie, 2010).

ii) Test de chlamydosporulation

La technique est utilisée pour l'identification de *C. albicans*. Elle consiste à mettre en une colonie de *Candida* sp sur du milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile) appauvri. On observe après incubation (24-48h à 30 - 37°C) une filamentation avec production de spores de résistance, appelées chlamydospores [27].

iii) Identification sur milieu chromogénique

C'est un milieu sélectif et différentiel permettant d'isoler les champignons.

Des substrats chromogènes étant incorporés au milieu, les colonies de *C. albicans* / *C. dubliniensis*, de *C. tropicalis* et de *C. krusei* produisent des couleurs distinctes qui permettent de détecter directement ces espèces de levure sur la boîte d'isolement.

L'échantillon est strié afin de créer l'isolement sur la surface du milieu. Les boîtes de cultures sont ensuite incubées en position retournée et en conditions aérobie à 37°C pendant 20 à 48h pour que les colonies de *Candida* atteignent leur coloration complète. Il faudra maintenir les boîtes à l'abri de la lumière avant et pendant l'incubation. Les couleurs émises par les colonies sont identifiées selon les recommandations du fabricant.

Ce milieu présente l'avantage supplémentaire de faciliter la détermination des cultures de levures mélangées, leurs colonies apparaissant dans des couleurs

différentes. Des peptones spécialement sélectionnées fournissent les éléments nutritifs du milieu chromogénique. Ce mélange chromogène spécialement mis au point se compose de substrats artificiels (chromogènes) qui libèrent des composés de diverses couleurs lorsqu'ils sont dégradés par des enzymes spécifiques. Cela permet de différencier certaines espèces ou de détecter certains groupes de microorganismes à l'aide d'un nombre minimum de tests de confirmation. Le chloramphénicol inhibe la plupart des contaminants bactériens. (Confère figure 25 en *Annexe1*).

► Le test au latex pour l'identification du complexe *Candida albicans* – *Candida dubliniensis*

C'est un test de coagglutination sur carte permettant l'identification rapide de *Candida dubliniensis* - *Candida albicans*; directement à partir de colonies.

Son principe est basé sur la coagglutination des blastospores du complexe d'espèces *Candida dubliniensis* - *Candida albicans* avec des particules de latex bleue (en suspension dans un contre colorant rouge) sensibilisées par un anticorps monoclonal, reconnaissant spécifiquement un antigène à la surface de cette levure.

Lorsqu'on dissocie des colonies de *Candida dubliniensis* - *Candida albicans* dans le réactif, la coagglutination entre les blastospores et les particules de latex se traduit par une réaction positive caractérisée par l'apparition d'agglutinats bleue sur un fond rouge/ rose au bout de 3 à 5 mn, visible à l'œil nu. Avec des colonies de levures non *Candida dubliniensis* et en particulier avec *Candida albicans*, on n'observe aucune agglutination. La suspension reste homogène et de couleur bleue (confère figure 26 photo en *Annexe2*).

► Le test au latex pour l'identification de *Candida krusei*

C'est un test au latex de coagglutination sur carte permettant l'identification rapide de *Candida krusei*, directement à partir de colonies. Il est basé sur le principe de la coagglutination de particules de latex rouge, sensibilisées par un anticorps monoclonal permettant de déterminer spécifiquement un antigène de surface de *Candida krusei*.

La dissociation de colonies de *Candida krusei* dans le réactif entraîne une coagglutination entre les blastospores portant l'antigène et les particules de latex

sensibilisées par l'anticorps monoclonal. Cette réaction positive se traduit par l'apparition d'agglutinats rouges, visibles à l'œil nu. Avec des colonies de levures non *Candida krusei*, on observe aucune agglutination. La suspension reste alors homogène et rouge.

Les résultats sont rapidement obtenus en 5 mn (confère figure 27 photo en Annexe 3).

► Le test pour l'identification de *Candida glabrata*

On utilise le test d'identification de *Candida glabrata*, dont le principe est basé sur l'hydrolyse rapide du tréhalose en glucose. La révélation de cette production de glucose permet alors l'identification de la levure à la lecture. A cet effet une apparition d'une coloration orange plus ou moins foncée indique une réaction positive tandis qu'une absence de coloration signifierait une réaction négative (confère figure 28 photo en Annexe 5).

L'interprétation de la réaction observée est comparée à celle de deux (2) témoins (confère tableau 14 en Annexe 4):

- Un témoin avec maltose car certains isolats de *C. tropicalis* peuvent aussi dégrader le tréhalose mais contrairement à *Candida glabrata*, ils assimilent le maltose.
- Un témoin sans ose (témoin milieu de base du réactif) car les milieux d'isolement contiennent du glucose et un mauvais prélèvement des colonies, qui contiendrait de la gélose pourrait conduire à une réaction faussement positive.

-

iii) Les galeries de Tests biochimiques

Elles sont constituées de micro tubes ou de copules contenant des substrats réactionnel (Auxanogramme) : en incluant une suspension de champignon avec les différents substrats, il se crée un changement de couleur spontanée et révélée à l'aide d'un révélateur. Chaque galerie à sa méthode d'inoculation et son temps d'incubation [37;42].

iv) Spectrométrie de masse, type MALDI-TOF (Matrix – Assisted – laser Desorption – Ionization-Time Of Flight)

Le spectromètre de masse MALDI TOF utilise une source d'ionisation assistée à une matrice (MALDI) et un analyseur à temps de vol (TOF). La séparation des molécules par cette technique est plus douce que les autres méthodes. Cette technique permet d'ioniser des molécules de grandes tailles (protéines), peu volatiles et sensibles à la chaleur sans les dégrader [42].

I.4.4.2. Diagnostic immunologique

Ce diagnostic s'applique aux mycoses profondes quand le diagnostic direct n'est pas possible, il comporte la recherche des anticorps et des antigènes.

a) La recherche des anticorps

En cas de suspicion d'une aspergillose et ou d'une candidose profonde par les techniques, suivantes: Immunofluorescence, immun-précipitation (immunoélectrophorèse, immunodiffusion), ELISA, hémagglutination.

b) la recherche des antigènes

En cas de suspicion d'une aspergillose, d'une candidose ou d'une cryptococcose, les techniques suivantes sont utilisées ; ELISA sandwich en microplaques (par la détection des mannanes circulants), Test agglutination (agglutination des mannanes de particules de latex par un anticorps monoclonal) [36].

I.4.4.3. Diagnostic moléculaire

Il est réalisé sur tout type de prélèvement : elle utilise la technique d'amplification de l'ADN fongique par la PCR. Cette dernière est utilisée pour le diagnostic des mycoses invasives graves telles que l'aspergillose, la candidose, la cryptococcose et la pneumocystose [30].

Dans notre étude, seul le diagnostic mycologique a été utilisé. Il a consisté à mettre en évidence les champignons après un examen direct entre lame et lamelle, suivi de la mise en culture du prélèvement et de l'identification (macro et microscopique) du champignon. Des techniques complémentaires ont été utilisées pour les levures (Latex, milieu chromogénique, Blastèse, chlamydosporulation).

I.4.5. Les antifongiques et les antifongigrammes

I.4.5.1. Les antifongiques

Les antifongiques sont des substances naturelles, semi-synthétiques ou synthétiques capables d'inhiber ou d'arrêter la croissance des champignons à différentes concentrations [43; 44].

Le tableau 2 ci-dessous présente les classes pharmacologiques, les groupes chimiques et les spectres d'activité des antifongiques.

Tableau II: Classe pharmacologique, groupes chimiques et spectre d'activité des antifongiques [44-49].

| Classe pharmacologique | Groupe chimique | Spectre d'activité |
|------------------------|--|---|
| Polyènes | Amphotéricine B Conventionnelle (AMB) | Large spectre <i>in vitro</i> sur les levures (<i>Candida sp</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Trichosporon sp</i>), les champignons dimorphiques et les champignons filamenteux (<i>Aspergillus sp</i>) |
| | Nystatine (NYS) | idem à celui l'Amphotéricine B |
| Azolés | | |
| Imidazoles | Kétoconazole (KET) | Spectre large sur <i>Candida spp</i> et les dermatophytes (peu efficace sur <i>Aspergillus sp</i>) |
| | Miconazole (MIC) | Spectre large sur <i>Candida spp</i> , les dermatophytes et peu actifs sur les autres champignons filaments |
| | Fluconazole (FLU) | Large spectre d'activité sur <i>Candida sp</i> , sauf <i>Candida krusei</i> constamment résistant et <i>Candida glabrata</i> de sensibilité inconstante, efficace sur <i>Cryptococcus neoformans</i> et il n'a pas d'activité sur <i>Aspergillus sp</i> . |
| Thiazolés | Itraconazole (ITR) | Spectre large sur les levures, les champignons dimorphiques, les champignons filamenteux |

| | | | |
|-------------------------|---|---------------------------|---|
| | <p>Voriconazole (VOR)</p> <p>Clotrimazole (CTR)</p> | <p>————→</p> <p>————→</p> | <p>(les dermatophytes, les <i>Aspergillus</i> et les dématiés sauf <i>Fusarium</i>, <i>Acremonium</i>, les mucorales).</p> <p>Spectre large <i>in vivo</i> sur les levures, les champignons filamenteux et dimorphiques. on note une faible activité sur les zygomycètes.</p> <p>Spectre large, incluant <i>Aspergillus</i>, <i>Candida</i> (y comprise <i>C. Krusei</i>), <i>Scedosporium spp.</i> ou <i>Fusarium spp.</i></p> |
| Anti métabolites | Flucytosine (5FC) | ————→ | Spectre d'activité étroite sur les levures (<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i>), certains <i>Aspergillus</i> et les agents des chromomycoses (<i>Fonsecaea pedrosoi</i> , <i>Phialophora verrucosa</i> , <i>Fonsecaea compacta</i>) |
| Echinocandines | Caspofungine (CASP) | ————→ | Spectre d'activité large sur les <i>Aspergillus</i> , les <i>Candida</i> certains dématiés et les autres champignons tels que <i>Rhizopus arrhizus</i> , <i>Sporothrix scheinkii</i> et <i>Fusarium sp.</i> |

I.4.5.2. Antifongigrammes

Le but de l'antifongigramme est de détecter une résistance, donc un possible échec thérapeutique.

a) Les techniques de référence [51–53]

Il existe deux techniques de référence : la technique **EUCAST** (European Committee on Antimicrobial Susceptibility) et la technique **CLSI** (Clinical and Laboratory Standards Institute). Ces méthodes n'étant pas commercialisées, elles sont réservées uniquement aux centres de référence.

La technique européenne, **EUCAST** mise au point après celle américaine (**CLSI**) visait à standardiser la lecture des résultats (remplacement de la lecture visuelle par celle spectrophotométrique) et à réduire la durée de lecture (24 au lieu de 48 heures).

La méthode **EUCAST** est une technique européenne dérivée de la méthode **CLSI**. Elle s'en distingue par un inoculum plus dense ($1-5 \times 10^5$ UFC au lieu de $0,5-2,5 \times 10^3$ UFC), une concentration supérieure en glucose (2 % au lieu de 0,2 %) et une lecture par spectrophotométrie. Par rapport à la technique CLSI, ces modifications permettent une possible automatisation de lecture des plaques et en outre, une lecture plus précoce (24 heures au lieu de 48 heures). Cependant, les CMI obtenues par la méthode **EUCAST** sont généralement plus basses que celles enregistrées avec la technique **CLSI**. Les seuils de CMI définissant la résistance ou la sensibilité par la méthode **EUCAST** ne pouvant être transposés à la méthode CLSI, des seuils spécifiques ont été définis pour chaque technique.

b) Les techniques utilisées en routine

(i) La technique Etest® [51–53].

Le **Etest®** est une méthode **d'antifongigramme en bandelette**. Le verso des bandelettes est imprégné d'un gradient exponentiel et continu d'antifongique ; le recto, gradué, représente une échelle de concentrations permettant la lecture d'une CMI ($\mu\text{g/ml}$). Elle présente une excellente corrélation avec la technique CLSI.

Il s'agit d'une technique quantitative pour la détermination sur milieu gélosé de la concentration minimale inhibitrice des agents antifongiques vis-à-vis des champignons et pour la détection des mécanismes de résistance.

Lorsqu'une bandelette E-test est appliquée sur la surface d'une gélose ensemencée, le gradient exponentiel préformé de l'agent antifongique est immédiatement transféré dans la matrice de l'agar. Le gradient de concentration, continu et prédéfini, établi le long de la bandelette reste stable pendant une longue période de temps. Après une période d'incubation, de 24h à 48h, une ellipse d'inhibition symétrique centrée le long de la bandelette est formée et permet ainsi de déduire les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des différents antifongiques testés (confère figure 30 en annexe 7).



Figure 10: Résultats ATF avec les bandelettes d'E-test d'antifongiques

(ii) La technique de diffusion en milieu gélosé

Il repose sur la détermination du diamètre de zone d'inhibition des souches testées. Les disques imprégnés avec une concentration déterminée d'antifongique à évaluer sont déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec un inoculum calibré, préparé à partir d'une culture pure de la souche à tester. Un gradient de concentration s'établit autour des disques dans la gélose. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition observées autour des disques permet de déduire les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des différents antifongiques évalués pour la

souche testée et la catégorisation clinique des souches testées à l'égard de l'antifongique évalué (confère figure 31 en annexe 7) [51–53].



Figure 11: Résultats ATF avec les disques d'antifongiques (CHU de Bobo-Dioulasso)

(iii) Les autres techniques

Les autres tests commercialisés sont nombreux. On peut citer entre autres le Sensititre Yeast One®, etc. Actuellement, en dehors de l'Etest®, seul le Sensititre Yeast One® permet de tester les nouveaux antifongiques (échinocandines, posaconazole) [54].

I.5. Revue de la littérature sur la flore fongique de l'environnement hospitalier

I.5.1. Données africaines

I.5.1.1. En Côte d'Ivoire

En 2015, Monero P et al dans une étude microbiologique environnementale du service de réanimation au CHU de Bouake durant le mois de Mars ont rapporté les résultats suivants : sur **31** échantillons, le taux de positivité a été de **48,4%** dont **11** moisissures identifiées et ces moisissures ont représentés **61,1%** des isolats dont le genre *Aspergillus* **45,5%** [4].

I.5.1.2. Au Sénégal

En 2013, Entre avril et mai, **73** échantillons ont été prélevés de **45** compartiments au sein de **sept** services à risque infectieux fongique (RIF) au CHU Aristide Le Dantec (Dakar) par **Diongue K et al**. De ces prélèvements les résultats suivants ont été rapporté : un taux de culture positive de **100 %**, les espèces les plus représentées ont été *Aspergillus* spp (**86,6 %**), *Penicillium* spp (**71,1 %**) et *Candida* spp (**57,7 %**). Les espèces *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* ont été isolées respectivement à **15,5 %** et **11,1 %** [3].

I.5.1.3. En Tunisie

En 2015, Imed C et Al dans une étude sur l'incidence des infections nosocomiales associées aux dispositifs médicaux au service de Réanimation du CHU Hached de Sousse ont enregistré les résultats suivants : sur **105** patients hospitalisés durant les 48h pendant la période d'étude, **83,3 %** des patients ont été incubés ou ventilés et le un taux d'incidence de **16,2 %** [50].

I.5.1.4. En Méditerranée

En 2016, Amazian K et Al dans une étude sur la prévalence des infections nosocomiales dans **27** hôpitaux de la région méditerranéenne (Algérie, en Egypte, en Italie, au Maroc et en Tunisie) ont enregistré les résultats suivants : Sur **4634** patients, **483** ont contractes une IN (**10,5 %**), **11,3 %** dans les services pédiatriques [55].

I.5.2. En France

En 2006, Cangneux J P et al dans une étude sur la maîtrise du risque fongique environnemental dans les établissements de santé de France, ont noté une positivité de culture de **63,3 %** des prélèvements (**n = 202**) respectivement sur les surfaces et l'air. Les espèces d'*A. fumigatus* ont été les plus isolées dans des prélèvements d'air positifs avec une prévalence **66,7 %** : [59]

En 2010, Gilles Hilbert et al dans une étude sur les infections fongiques invasives en réanimation et place de l'anidulafungine dans l'arsenal thérapeutique à Hôpital Pellegrin Bordeaux, France ont apportés les résultats suivants : un taux **17 %** pour les infections fongiques acquises en réanimation [58].

En 2015, Arnould et Al dans une revue sur les infections fongiques des brûlés ont enregistré les suivantes : Un taux de **5 %** de patients ont été des soins intensifs, **70%** et **80 %** des plaies infectieuses ont été respectivement dues à des **Candida** et des **Aspergillus** [57].

En 2016, Christine M et Al dans une étude sur les infections nosocomiales dues aux aspergillus au service de Réanimation de l'hôpital Nord Marseille ont rapportés les résultats suivants : Sur **4** patients hospitalisés **4** ont décédés d'un *Aspergillus fumigatus*, le taux d'infections nosocomiales dues aux agents fongiques a été **3,7 %** et le facteur favorisant a été la ventilation à longue durée [56].

DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE

II. Etude expérimentale

II.1. Objectifs

II.1.1. Objectif général

Décrire la flore fongique et la sensibilité aux antifongiques des champignons isolés de l'environnement du Service de la réanimation du CHU Sanou Sourô (CHUSS) de Bobo-Dioulasso.

II.1.2 Objectifs spécifiques

- 1) Identifier les différents agents fongiques identifiés au service de la réanimation du CHUSS ;
- 2) Déterminer la prévalence des différents agents fongiques isolés de l'environnement du service de réanimation du CHUSS ;
- 3) Déterminer la sensibilité des différents agents fongiques isolés de l'environnement du service de la réanimation du CHUSS ;

II.2. Méthodologie

II.2.1. Le cadre d'étude

Notre étude s'est déroulée à Bobo-Dioulasso, au Centre hospitalier universitaire Sourô Sanou (CHU-SS) Créé en 1920, l'actuel CHUSS est l'héritier de l'ancienne ambulance militaire de la période coloniale ; ce qui explique sa position géographique en face du camp militaire Ouézzin COULIBALY. En 1955, il est érigé en hôpital civil et en 1984, il prend le nom de Centre Hospitalier National Sourô Sanou (CHNSS) en mémoire d'un célèbre tradipraticien.

Le CHNSS est érigé en Etablissement Public à caractère Administratif (E.P.A) le 18 mai 1990. Il devient Etablissement Public de Santé (E.P.S) par la loi 035/AN/2002 du 26 novembre 2002 portant création des Etablissements Publics et en Centre Hospitalier Universitaire en mars 2003

Les services cliniques et médicotechniques sont organisés en six (06) Départements que sont : la Chirurgie, la Gynécologie Obstétrique et Médecine de la Reproduction (DGOMR), la Médecine, la Pédiatrie, la Pharmacie et les Laboratoires.[60].

II.2.2. Le site d'étude

Les services de la réanimation et le laboratoire de Parasitologie mycologie ont servi de site d'étude. Nos échantillons biologiques ont été collectés dans le Département de chirurgie et plus précisément au Service de la réanimation du CHUSS.

Le service de la réanimation du CHUSS est organisé au sein d'un grand bâtiment subdivisé en pièces que nous avons désigné par des salles dans notre étude .

- Une (1) salle de surveillance intensive qui comporte 4 lits ;
- Une (1) salle de suivi de 6 lits ;
- Deux (2) salles d'observations
- Une salle de remplissage et de gestion des dossiers des malades
- Une salle de gardes ;
- Les bureaux .

Le personnel se compose comme suit :

- 1 chef de service ;
- 5 médecins spécialistes ;
- 1 surveillant d'unité de soins ;
- 11 infirmiers d'état ;
- 5 infirmiers brevetés .

Les pathologies les plus couramment rencontrées dans ce service sont surtout les traumatismes crâniens et maxillo faciaux , les polytraumatismes et le diabète .

Les analyses de nos échantillons biologiques ont été réalisées au **Département des Laboratoires du CHU-SS**. Ce Département est subdivisé en six (6) Services que sont : le Service d'accueil-prélèvement et des urgences des examens biologiques, le Service d'Anatomo-pathologie, le Service de Biochimie, le Service d'Immuno - Hématologie, le Service de Bactériologie-Virologie, et le Service de Parasitologie-Mycologie.

Toutes les manipulations ont été réalisées dans le **Service de Parasitologie-Mycologie du CHUSS**.

II.2.3. Le type d'étude et la période d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale à visée descriptive qui s'est étendue du mois d'Août 2016 à Janvier 2017.

II.2.4. Les critères d'inclusion

Ont été inclus dans la présente étude les espaces (air et espaces) du service de la réanimation. Les espaces qui ont été prélevés sont les suivants :

- l'air ambiant;
- le poignet de la porte de l'entrée principale de la réanimation ;
- le tuyau du climatiseur de la Réanimation ;
- la paillasse du personnel soignant.

II.2.5. Les matériels de collecte /diagnostic mycologique et les outils de collecte

Nous avons utilisé les matériels et consommables ci-dessous au cours de notre étude.

II.2.5.1. Les matériels de collecte d'échantillons et de diagnostic mycologique

a) Les consommables

- Boites de pétri stériles,
- Scotch (bandes de cellophane adhésives),
- Ciseaux,
- Pincettes,
- Ecouvillons,
- Ensemenceurs,
- Pipettes pasteur,
- Tube en verres

b) Les équipements

- Microscope optique,
- Vortex,
- Hotte à flux laminaire.

c) Les réactifs et milieux de culture/milieu d'identification

► Les réactifs et milieux de culture utilisés étaient composés de :

-la solution éclaircissante

- La solution de KOH 10% et 30%

- colorants

- Bleu de lactophénol

- Bleu de méthylène

- Giemsa

► Les milieux d'identification comprenaient :

- La gélose Sabouraud + chloramphénicol (pour les dermatophytes, les moisissures et les levures)

- La gélose Chromagar *Candida Mediu*n (®pour les levures du genre *Candida*)

d) Les tests de diagnostic rapide (pour les levures du genre *Candida*)

- Latex (Bicho – Dubli Fumouze) ; Annexe 2

- Latex (*Krusei* – Color Fumouze); Annexe 3

- latex (*Glabrata* R.T.T. Fumouze) ; Annexe 4 ,5et 6

II.2.5.2. Les outils de collecte des données et des échantillons

Pour la collecte de nos données, nous avons élaboré une fiche (annexe 9) de collecte des données comportant les variables suivantes :

a) Collecte des données

- ✓ La provenance du prélèvement, (espace et air)
- ✓ Date de collecte de l'échantillon,
- ✓ Type de prélèvement collecté,
- ✓ Résultats de l'analyse mycologique,
- ✓ Type d'agent fongique : moisissure, levure et autres (genre et espèce),
- ✓ Sensibilité des agents fongiques aux antifongiques usuels

b) Collecte de prélèvements

Les prélèvements ont été faits par écouvillonnage (des paillasses, portes, surfaces) et dans des boîtes de pétri contenant le milieu Sabouraud + Chloramphénicol exposées à l'air ambiant des espaces concernés (pour les prélèvements atmosphériques). Les prélèvements suivants ont été collectés :

- **les prélèvements d'air** : ils ont été obtenus après une exposition sur une courte période de 4-5 heures sur le milieu Sabouraud + Chloramphénicol portant toutes les informations (la provenance du prélèvement et la date de collecte de l'échantillon) ;

- **les prélèvements de surfaces** : ils ont été effectués à partir des portes, du tuyau, et des paillasses du personnel, à l'aide d'écouvillonnage etensemencés sur milieu Sabouraud + Chloramphénicol.

Tous ces prélèvements ont été réalisés tous les deux jours pendant six mois. Le choix de ces rythmes de collectes permettait un meilleur suivi des cultures et un diagnostic microscopique de qualité car une multitude d'échantillons pourrait affecter la qualité du diagnostic microscopique en termes de volume de travail.

II.2.6. Transport et conservation des échantillons

Les conditions de transport et de conservation déterminent la qualité des résultats d'analyse mycologique, pour cela on a utilisé :

- des contenants et des écouvillons stériles pour les échantillons de surface,
- tous les échantillons ont été scellés dès leur prélèvement pour prévenir une contamination ultérieure,
- les échantillons de surface ont été rapidement transportés pour empêcher une perte de viabilité de l'échantillon ou une dénaturation des structures, ce qui pourrait empêcher une bonne identification des champignons.

II.2.7. Les techniques d'analyse au laboratoire

II.2.7.1. L'examen direct

Le matériel solide ou gazeux (air et matériels) a été examiné entre lame et lamelle, aux objectifs x10 et x 40, après éclaircissement à la potasse (KOH 10% ou 40%). Les lames de scotch test ont été directement examinées au microscope aux objectifs x10 et x40

II.2.7.2. La culture

Les prélèvements ont été ensemencés sur deux milieux gélosés : gélose Sabouraud + Chloramphénicol (ce milieu inhibe la croissance des bactéries) et la gélose Sabouraud + chloramphénicol + Actidione (l'actidione inhibe la croissance des moisissures et favorise celle des dermatophytes). Ces géloses étaient ensuite incubées à 25°C pendant 2-3 semaines voir un mois pour l'isolement des dermatophytes et à 37°C pendant 2-4 jours pour les levures et les moisissures.

II.2.7.3. L'identification des cultures

Elle a tenu compte du temps de pousse, de l'aspect macro et microscopique des colonies.

a) Les dermatophytes

i) Identification macroscopique

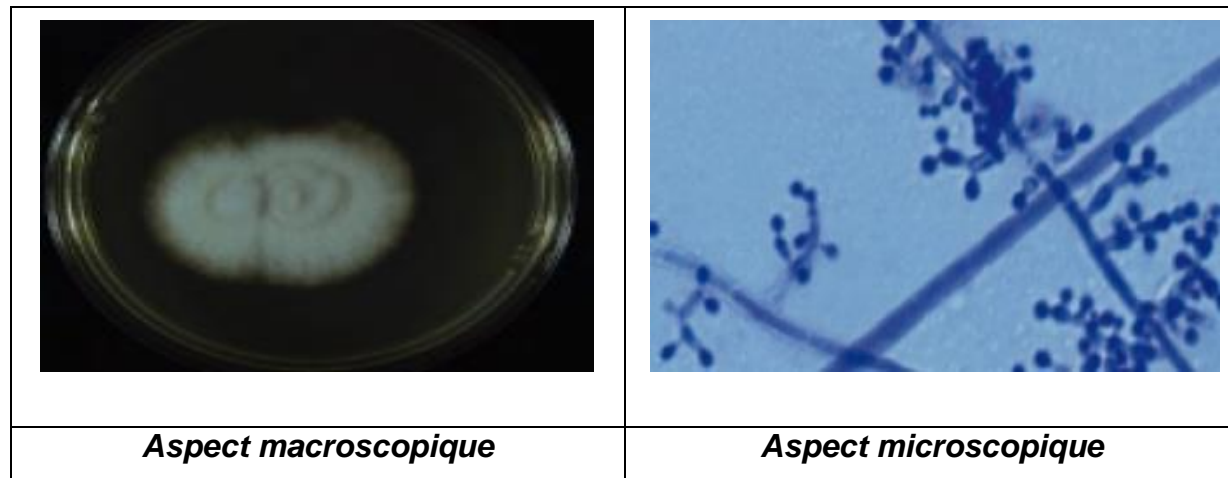
L'examen macroscopique a comporté l'analyse de l'aspect des colonies : la couleur de la colonie (au recto et au verso), la forme (ronde et étoilée), leur relief (colonie plate et plissée), les caractéristiques de la surface (duveteuse, poudreuse, granuleuse et glabre). Nous avons aussi recherché la présence de pigment diffusant dans la gélose [30;31].

ii) Identification microscopique

Les éléments suivants ont été recherchés :

- des microconidies unicellulaires, rondes ou piriformes ;
- des macroconidies cloisonnées, à paroi lisse (*Trichophyton* et *Epidermophyton*) ou échinulée (*Microsporum*).

- d'autres éléments pouvant se voir au microscope tels que le "clou de chandelier" ou aspect "en bois de cerf" chez *T. schoeleinii* ont été également recherchés [30,31].



**Figure 12: Résultats de l'aspect macroscopique et microscopique des colonies
Culture de *Trichophyton mentagrophytes* (grossissement X40)
(CHU de Bobo-Dioulasso)**

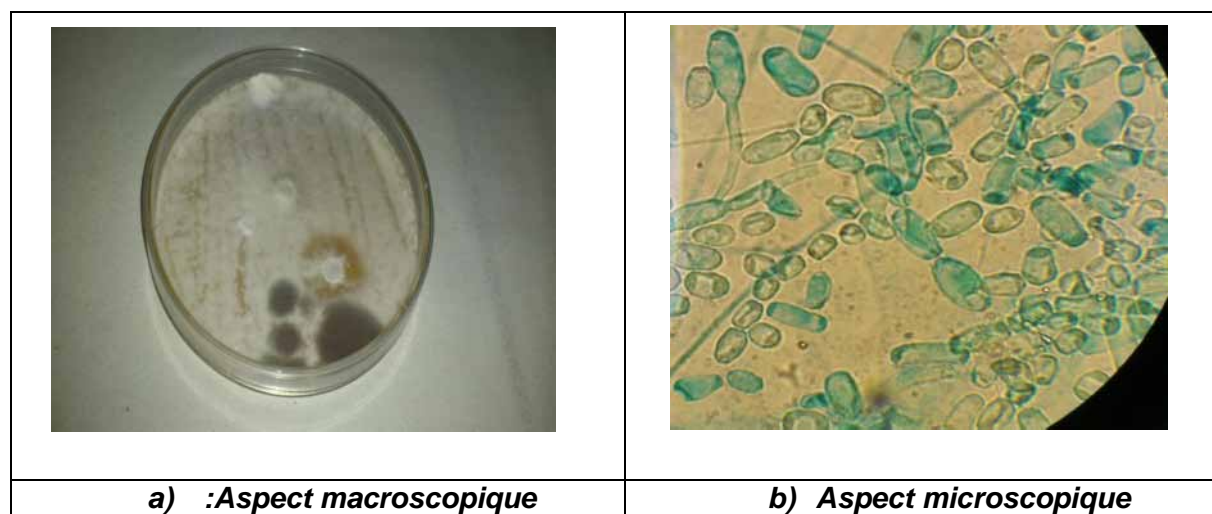
b) Les pseudo – dermatophytes

i) Identification macroscopique

Les colonies de *Scytalidium hyalinum* étaient extensives, cotonneuses, blanches à gris clair [33]

i) Identification microscopique

- ***Scytalidium hyalinum*** : au microscope, ce champignon laissait observer des filaments mycéliens hyalins septés et réguliers. Ces filaments se dissociaient ensuite en arthrospores uni ou bicellulaires [33] (annexe10)



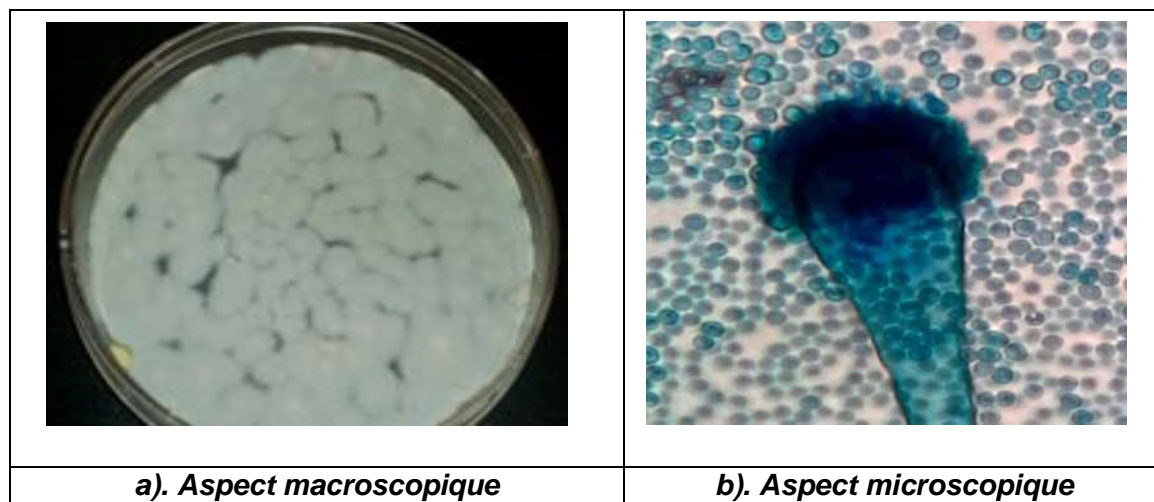
**Figure 13 : Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies
Culture de *Scytalidium hyalinum* (grossissement X100)
(CHU de Bobo-Dioulasso)**

c) Les moisissures

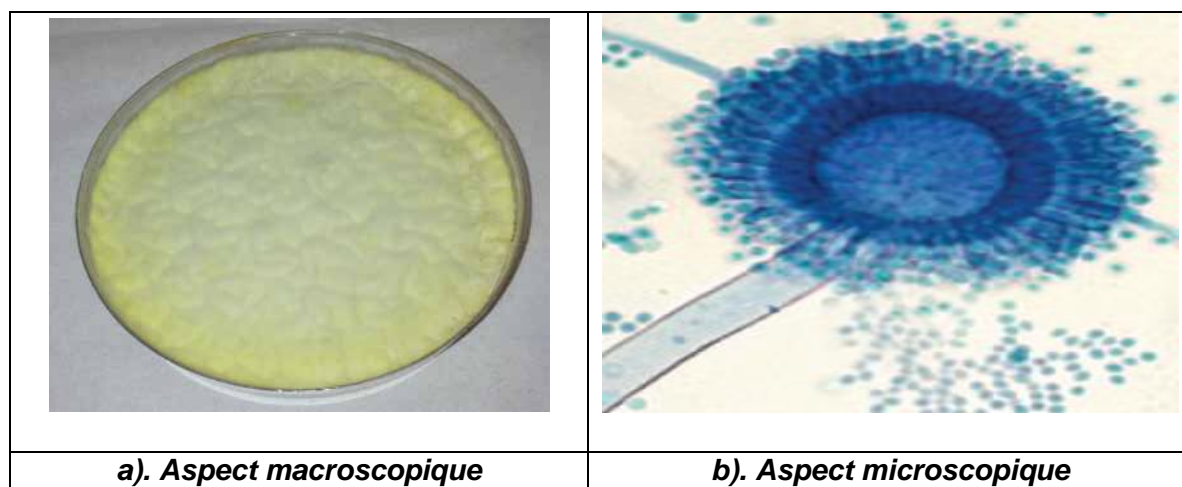
i).Les aspergillus

► Identification microscopique

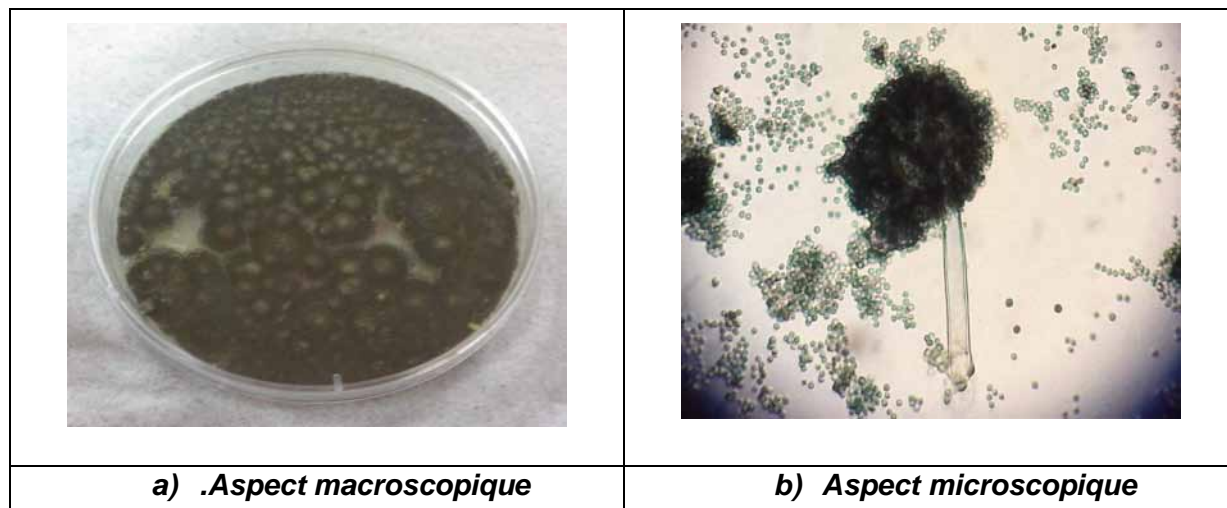
L'identification microscopiques des différentes espèces a été faite en fonction des structures du conidiophore (long/court), lisse / réfringent, de la vésicule (hémisphérique / sphérique), uni / bisériée, de la présence de la métule et du phialoconidie (lisse / échinulé) [27]



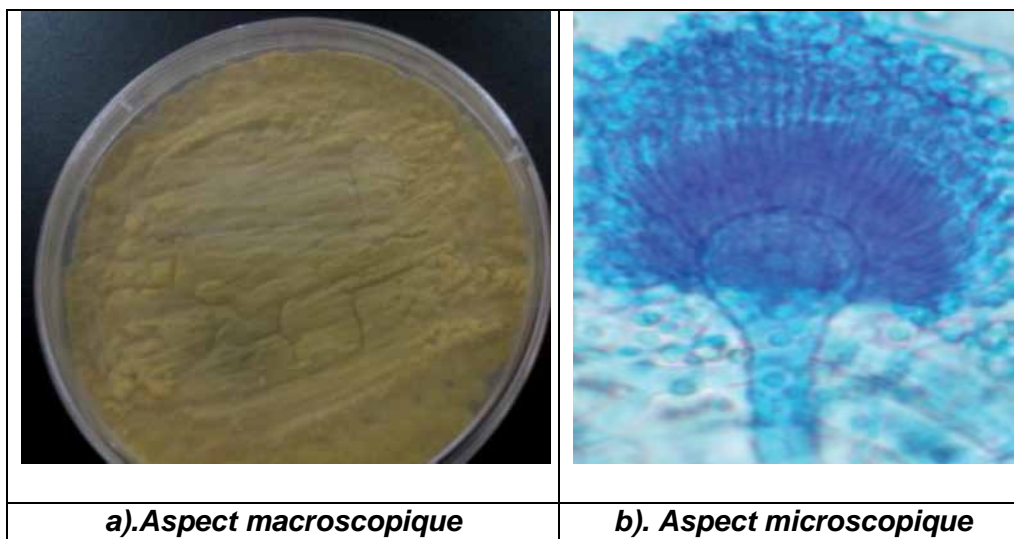
**Figure 14 : Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies
Culture d'*Aspergillus fumigatus* (grossissement X100)
(CHU de Bobo-Dioulasso)**



**Figure 15: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies
Culture d'*Aspergillus flavus* (grossissement X100)
(CHU de Bobo-Dioulasso)**



**Figure 16 : Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies
Culture d'*Aspergillus niger* (grossissement X100)
(CHU de Bobo-Dioulasso)**



**Figure 17: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies
Culture d'*Aspergillus terreus* (grossissement X40)
(CHU de Bobo-Dioulasso)**

b) Les mucorales

► Identification macroscopique

Les mucorales poussaient tous à 37°C pendant 2 à 4 jours.

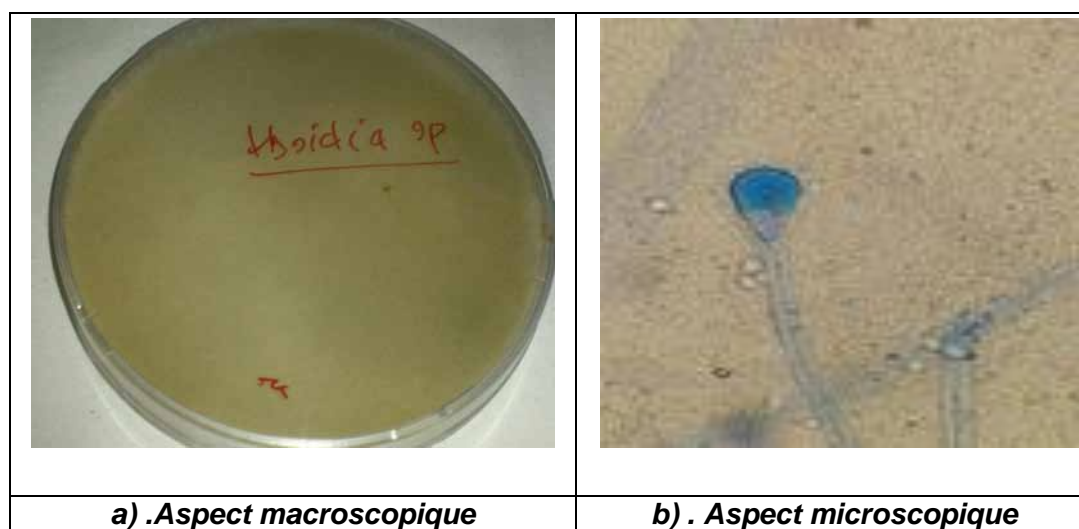
- ***Absidia sp*** : les colonies présentaient une texture laineuse ou floconneuse de couleur grise et au verso incolore.

- ***Rhizopus sp*** : les colonies étaient cotonneuses de couleur blanche au départ, puis grise foncée. (annexe 9)

- ***Mucor sp*** : les colonies étaient de texture laineuse et de couleur brune avec un verso incolore [31].

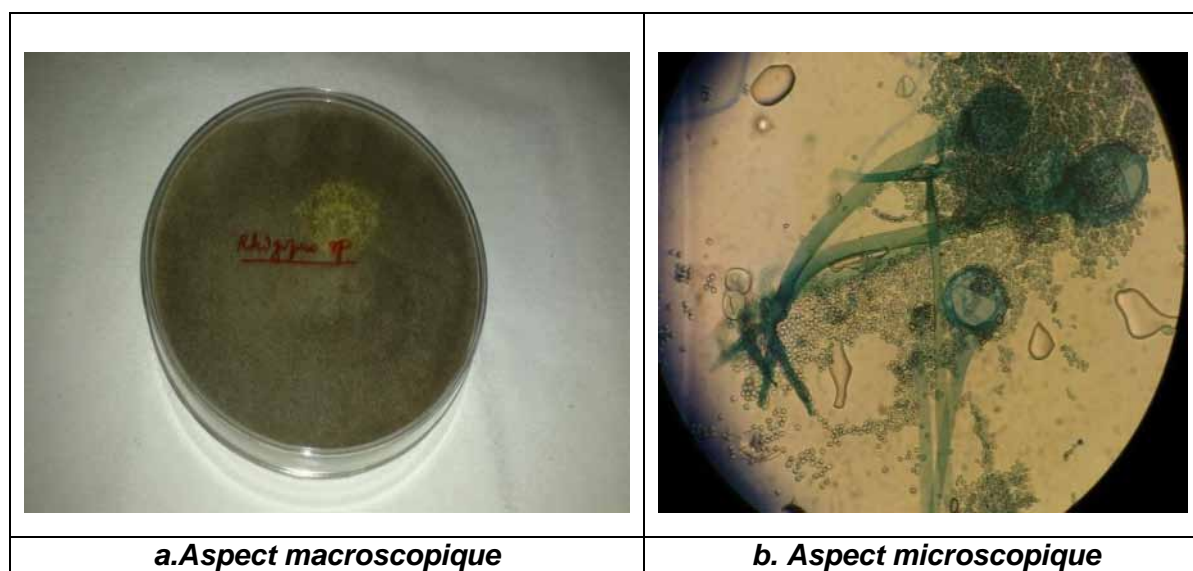
► Identification microscopique :

Le thalle était siphonné, constitué de filaments peu ou pas cloisonnés de diamètre large d'environ 10 µm et irrégulier. Les filaments portaient pour la plupart des rhizoïdes sous forme de racines qui étaient observées chez *Rhizopus sp*. Les Mucorales produisaient pour la plupart des stolons qui étaient également observés chez les *Rhizopus sp*. Les sporocystes étaient globuleux ou piriformes portant des spores lisses ou striées. Chez les mucorales, l'extrémité du sporocystophore était observée sous forme dilatée en vésicule, appelée la columelle qui fait saillie dans le sporocyste. Cette structure était observée chez *Absidia sp* [27;35].



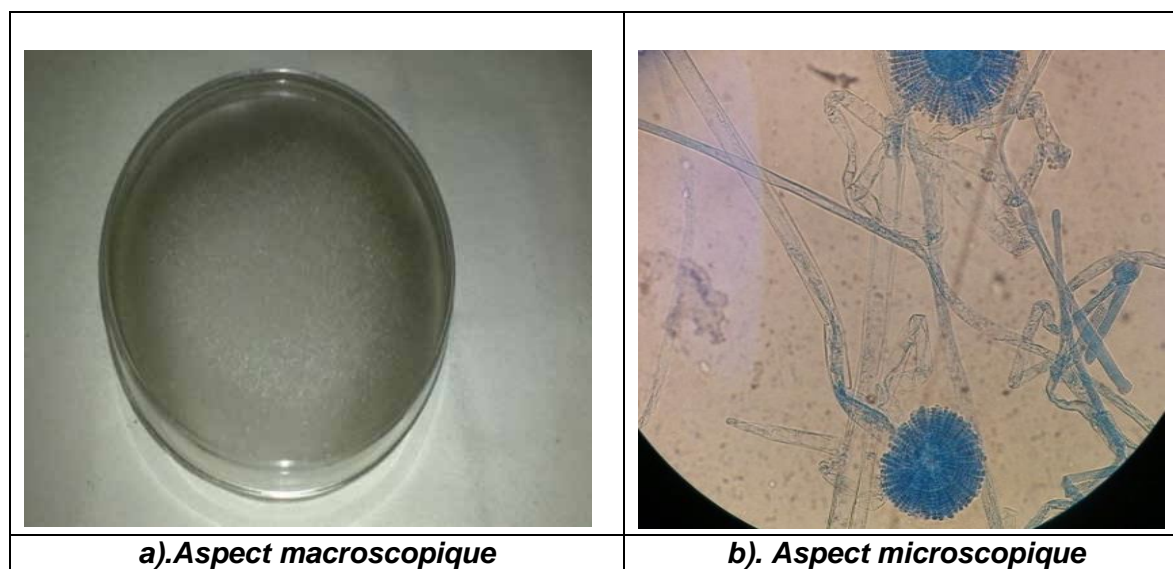
**Figure 18: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies
Culture d'*Absidia sp* (grossissement X40)**

(CHU de Bobo-Dioulasso)



**Figure 19: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies
Culture de *Rhizopus sp* (grossissement X40)**

(CHU de Bobo-Dioulasso)



**Figure 20: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies
Culture de *Mucor* sp (grossissement X40)**

(CHU de Bobo-Dioulasso)

c) Les levures

i) Identification des levures du genre *Candida*

Les techniques suivantes ont été mise en œuvre pour identifier les espèces du genre *Candida* :

► Test de blastèse

Pour la réalisation de ce test, une ose de la culture de la levure a été incubée pendant 3h à 37°C dans du sérum humain. On a recherché la production des tubes germinatifs. Il s'est 'agi de tube fins et sinueux, à paroi mince, émis par des blastospores, de diamètre régulier dépourvus de constriction à la base.

Figure 32 : Photo de la lame avec des tubes germinatifs. (Confère annexe 8)

► Tests d'agglutination au latex

Les différents tests utilisés étaient :

- le Latex (BICHRO-DUBLI FUMOUE) 2
- le Latex (GLABRATA R.T.T. FUMOUE) 3 ;
- le Latex (KRUSEI – COLOR) 4, 5 et 6;

Le Latex *Candida* est un test de coagulation sur lame permettant l'identification rapide de *Candida spp*, directement à partir de colonies. Son principe est basé sur la coagulation de particules de latex (en fonction de la couleur) sensibilisées par un anticorps monoclonal permettant de détecter spécifiquement un antigène sur la surface de *Candida spp* [37].

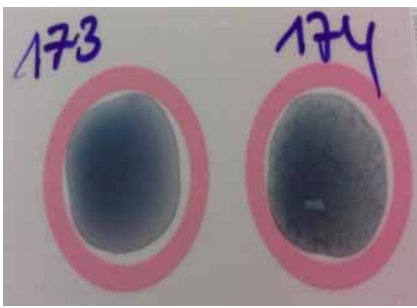
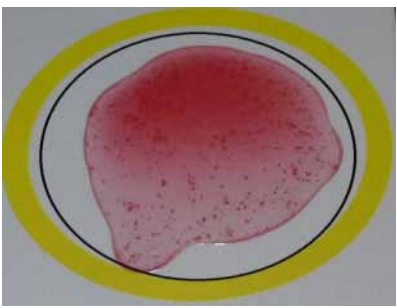
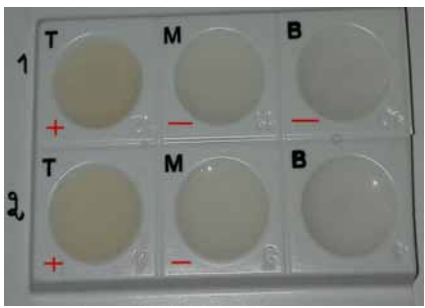
| | | |
|---|--|--|
|  |  |  |
| <p>Figure 21 a : Photo de Plaque de Latex <i>Candida albicans</i>/C.dubliniensis</p> | <p>Figure 21 b : Photo de Plaque de Latex <i>Candida Krusei</i></p> | <p>Figure 21 c : Photo de Plaque de Latex <i>Candida glabrata</i></p> |

Figure 21 : Photo de Plaque de Latex *Candida albicans* / C .dubliniensis, Latex *Candida Krusei* , *Candida glabrata* .(CHU de Bobo-Dioulasso)

II.2.8. Antifongigramme

Dans notre étude, la technique de la diffusion de gélose à l'aide des disques imprégnés d'antifongiques a été la technique utilisée pour la détermination de la sensibilité des champignons isolés aux antifongiques.

II.2.8.1. Principe

Des disques de papiers imprégnés avec des concentrations déterminées d'antifongiques ont été disposés à la surface de la gélose Muller Hilton pour l'amphotéricine B (AMB100), la nystatine (NYS100), le fluconazole(FLU100), le clotrimazole(CTR50), le miconazole (MIC50), le kéteconazole (KET50), préalablement ensemencé avec un inoculum calibré, préparé à partir d'une culture pure de champignon à tester. Un gradient de concentration d'antifongique s'est établi autour des disques dans la gélose. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition a été observé autour des disques permettant de déduire les CMI des différents antifongiques pour la souche testée et la catégorisation clinique (sensible, intermédiaire, résistant) [48, 51, 53].

II.2.8.2. Technique

a) Préparation

- Une petite quantité d'un inoculum standardisé correspondant à 1 ml, a été préparé à partir d'une culture pure de 24h et obtenue sur milieu d'isolement (gélose Sabouraud + chloramphénicol ou gélose Sabouraud gentamicine) ;
- Une ose calibrée à partir d'une colonie isolée a été préparée et mise en suspension dans 10ml d'eau distillée stérile;
- Cette suspension a été ensuite bien homogénéisée, ce qui correspondait à 11 ml environ ;
- Une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ de cette suspension a été effectuée en introduisant 1ml (20 gouttes de pipette Pasteur) dans 9 ml d'eau distillée stérile afin d'obtenir une suspension finale correspondant à 10ml environ.

b) Ensemencement

- L'ensemencement et le dépôt des disques d'antifongiques ont été réalisés en inondant la surface de gélose avec 3-5ml d' inoculum, puis l'excès du liquide à la pipette Pasteur a été retiré ;
- Le milieuensemencé pendant 15min à 37°C a été séché ;
- Les disques d'antifongiques ont été appliqués à l'aide d'une pince : 5FC50 sur milieu semi synthétique et AMB100, NYS50, CTR50, MIC50, KET50, FLU50 sur milieu Muller Hilton (à aide d'un distributeur de disques) ;
- Les boites ont été laissées 30min à la température ambiante (pré diffusion des antifongiques avant l'incubation [48].

c) Incubation

L'incubation a été faite à 32°C, en aérobiose pendant :

- 24h pour les levures du genre *Candida* ;
- 72 h et plus de 72 h pour les champignons filamenteux [48].

d) Lecture et interprétation

- Les diamètres des zones d'inhibition observées ont été mesurés avec précision
- La correspondance diamètre /CMI/catégorisation clinique a été faite pour chaque CMI mesurée.

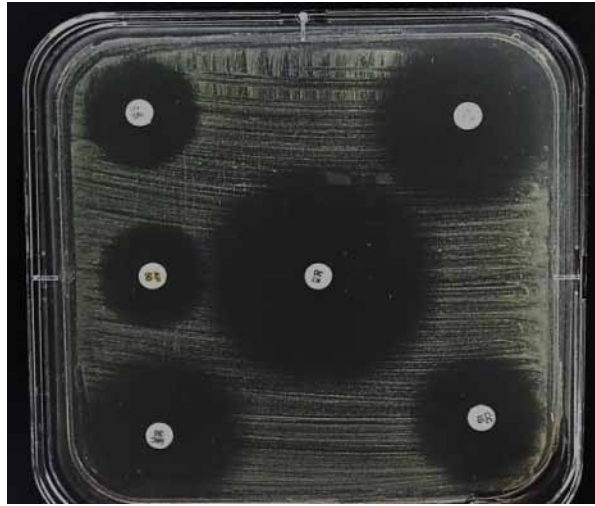


Figure 22 a : Profil d'une gélose sensible aux ATF (*Penicillium sp*)

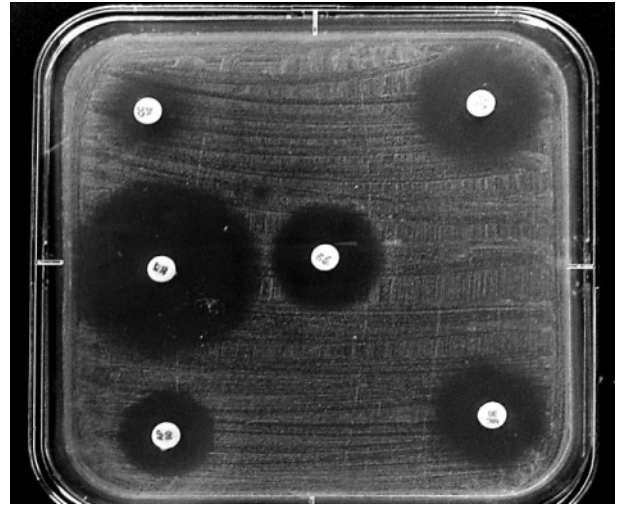
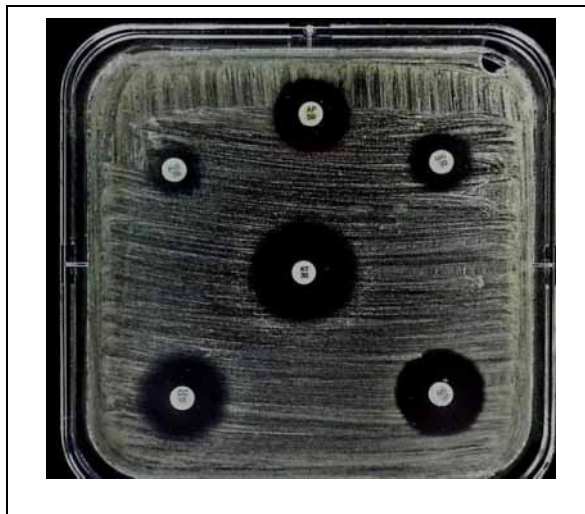


Figure 22b : Profil d'une gélose intermédiaire aux ATF (*Mucor sp*)



**Figure 22c : Profil d'une gélose résistante aux ATF (*C. dubliniensis*)
(CHU de Bobo-Dioulasso)**

**Figure 22 : Profil d'une gélose sensible, intermédiaire et résistante aux ATF
(CHU de Bobo-Dioulasso)**

Le tableau II ci-dessous présente le diamètre des zones d'inhibition des agents fongiques de notre étude en fonction des CMI des différents antifongiques et leur interprétation.

Tableau II : Diamètre des zones d'inhibition des agents en fonction des CMI des différents antifongiques et leur interprétation [48 ; 49].

| | Diamètre de la zone d'inhibition en mm | CMI en µg/ml | Interprétation |
|--|--|--------------|----------------------------|
| Pour les levures (<i>Candida albicans</i> et autres champignons levuriformes) | | | |
| 5FC50 | = 20 | 1,56 | Sensible |
| | 20-10 | 1,56-25 | Intermédiaire |
| | = 10 | 25 | Résistant |
| AMB100 | > 10 | < 1 | Sensible |
| | = 10 | 1 | Intermédiaire ou résistant |
| NYS100 | >10 | - | Sensible |
| | = 10 | - | Résistant |

| | | | |
|--|-------|------------|----------------------------|
| CTR50, MICZ50, KET50, FLU50 (imidazoles) | = 20 | 1,56 | Sensible |
| | 20-10 | 1,56 – 6,4 | Intermédiaire |
| | =10 | 6,4 | Résistant |
| Pour <i>Aspergillus fumigatus</i> | | | |
| 5FC1 | >10 | - | Sensible |
| | =10 | - | Intermédiaire ou résistant |

II.3. Analyse statistique

Au cours de notre étude , toutes les données collectées sur chaque sites ont été consignées dans une fiche de collecte.

Les logiciels tels que IBM SPSS 20, Epi info 60.4 dfr et Epi infoTm 7 ont été utilisés pour l'exploitation et l'analyse des données statistiques . Ces données ont été préalablement saisies par les outils Word 2010 et Excel 2010 . Aussi celles-ci ont servies également pour la construction des tableaux et la conception des figures provenant des fiches de collectes .

III. RESULTATS

III.1. Résultats globaux de l'identification mycologique

Au total **200 échantillons** ont été collectés de l'environnement du Service de la Réanimation et mis en culture sur la gélose Sabouraud + Chloramphénicol et la gélose Sabouraud + chloramphénicol + Actidione. Après culture, **176** échantillons se sont révélés positifs.

La prévalence de la contamination fongique de l'environnement du Service de la réanimation était de **88% (176/200)**.

III.2. Résultats selon les caractéristiques de la culture

Sur **176 cultures positives**, nous avons enregistré **31 mixtes** composées d'association de deux espèces fongiques soit un taux de **17,61%** contre **145 (82,39%)** de monocultures

III.3. Résultats des monocultures

III.3.1. Distribution des différents genres fongiques isolés en monoculture

Sur **145 cultures** positives en monocultures, les différents genres fongiques isolés sont présentés dans le tableau III.

Tableau III : Répartition des principaux genres fongiques isolés en mono culture

| Genres fongiques isolés | Nombre(N=145) | Pourcentage (100%) |
|--|---------------|--------------------|
| <u>Les levures</u> | 36 | 24,80% |
| <i>Candida</i> | 35 | 24,10% |
| <i>Geotricum</i> | 1 | 0,70% |
| <u>Les Moisissures</u> | 97 | 66,90% |
| <i>Aspergillus</i> | 71 | 48,90% |
| <i>Rhizopus</i> | 11 | 7,60% |
| <i>Mucor</i> | 9 | 6,20% |
| <i>Absidia</i> | 2 | 1,40% |
| <i>Fusarium</i> | 1 | 0,70% |
| <i>Penicillium</i> | 1 | 0,70% |
| <i>Rhizomucor</i> | 1 | 0,70% |
| <i>Scedosporium</i> | 1 | 0,70% |
| <u>Les dermatophytes et pseudodermatophytes</u> | 12 | 8,30% |
| <i>Scytalidium</i> | 9 | 6,20% |
| <i>Trichophyton</i> | 3 | 2,10% |
| Total | 145 | 100% |

L'analyse du tableau III montre que les moisissures étaient les principaux genres fongiques les plus isolés (66,90%), suivi des levures (24,80%) et des pseudo dermatophytes/dermatophytes (8,30%).

Aspergillus était le principal genre de moisissures isolé avec une fréquence de 48,90% ; suivi, *Rhizopus* (7,60%), de *Mucor* (6,20%) et *Absidia* (1,40%). Les autres moisissures

telles que *Rhizomucor*, *Fusarium* et *Scedosporium* ont été retrouvées à moins de 1% chacun.

Dans le groupes des levures le genre *Candida* étaient majoritairement représentées (24,10%) versus 0,70% pour *Geotricum* .

Scytalidium était le seul pseudo dermatophyte isolé avec une fréquence de 6,20 % versus 2,10% pour le seul genre de dermatophyte, le *Trichophyton*

III.3.2. Répartition selon les espèces fongiques isolées en monoculture

a) Différentes espèces de moisissures identifiées

Le tableau IV montre une distribution des différentes espèces de moisissures identifiées en monoculture

Tableau IV: Distribution des différentes espèces de moisissures identifiées en monoculture

| Espèces de moisissure | Nombre (N=97) | Pourcentage (100%) |
|---------------------------------|---------------|--------------------|
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | 32 | 32,90% |
| <i>Aspergillus flavus</i> | 14 | 14,40% |
| <i>Aspergillus niger</i> | 13 | 13,40% |
| <i>Aspergillus terreus</i> | 12 | 12,40% |
| <i>Rhizopus sp</i> | 11 | 11,30% |
| <i>Mucor sp</i> | 9 | 9,20% |
| <i>Absidia corymbifera</i> | 2 | 2% |
| <i>Rhizomucor miehei</i> | 1 | 1,10% |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | 1 | 1,10% |
| <i>Scedosporium apiospermum</i> | 1 | 1,10% |
| <i>Penicillium sp</i> | 1 | 1,10% |

Sur un total **97** espèces de moisissures identifiées, *A. fumigatus* était majoritaire (32,9%) suivi des espèces *A. flavus* (14,40%), *A. terreus* (12,40%) et *A. niger* (13,40%).

Les autres moisissures étaient dominées par *Rhizopus* sp (11,30%), *Mucor* sp (9,20%) et *Absidia corymbifera* (2%). Cependant, les espèces telles que *Rhizomucor miehei*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium* sp et *Scedosporium apiospermum* étaient enregistrées à 1, 10% chacune

b) Résultats des espèces de levures isolées en monoculture

Sur les 36 espèces de levures ont été identifiées. Les résultats sont consignés dans le tableau V.

Tableau V: Résultats des espèces de levures isolées en monoculture

| Espèces de levures | Nombre (36) | Pourcentage (100%) |
|-----------------------------|--------------------|---------------------------|
| <i>Candida spp</i> | 20 | 55,50% |
| <i>Candida albicans</i> | 11 | 30,60% |
| <i>Candida dubliniensis</i> | 2 | 5,50% |
| <i>Candida krusei</i> | 1 | 2,80% |
| <i>Candida glabrata</i> | 1 | 2,80% |
| <i>Geotrichum candidum</i> | 1 | 2,80% |

Parmi les levures du genre *Candida*, *Candida spp* représentaient plus de la moitié des espèces identifiées (55,50%) , *C. albicans* était l'espèce prédominante (30,60%) suivie de *C. dubliniensis* (5,50%). Les espèces de *C. krusei* et *C. glabrata* étaient isolée chacune à 2,80%. Par contre,. *Geotrichum candidum* était identifiées à 2,80% des cas.

c) Résultats des espèces de pseudodermatophytes et de dermatophytes

Parmi les 12 pseudo dermatophytes trois étaient des dermatophytes dont deux espèces de *T. mentagrophytes* (16,67%) versus une (8,33%) pour *Trichophyton soudanense*.

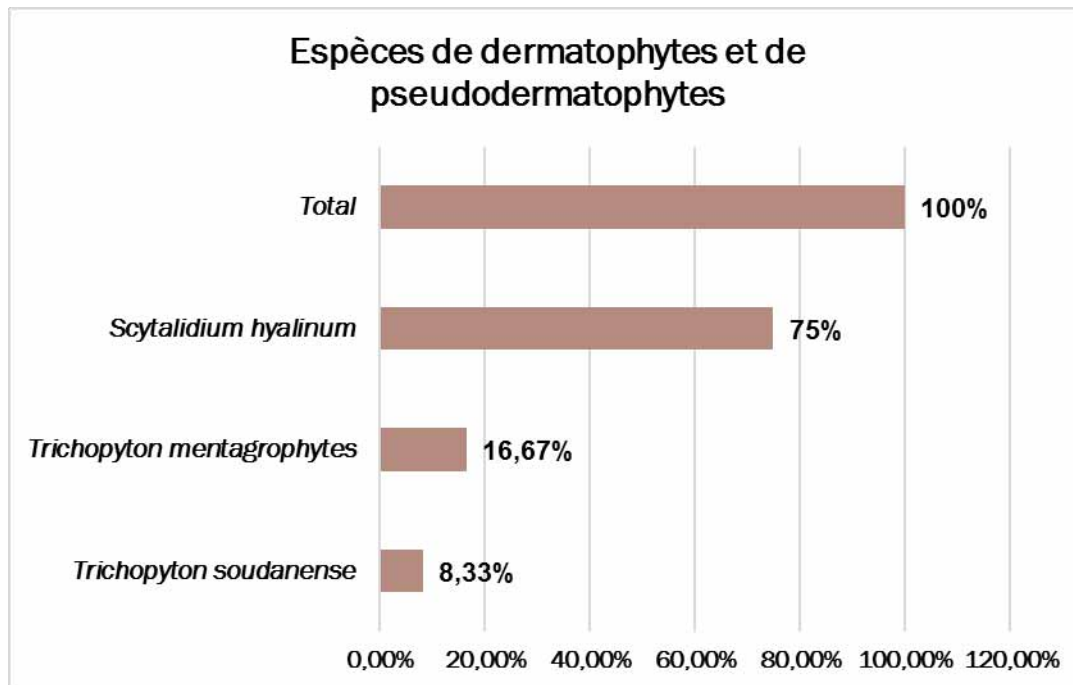


Figure 23: Répartition des espèces de pseudo dermatophytes et de dermatophytes isolées en monocultures

L'analyse de la Figure 23 montre que *Scytalidium hyalinum* (9 cas) était la seule espèce connue et identifiée des pseudo dermatophytes. Aussi, *Trichophyton mentagrophytes* (2 cas) était l'espèce majoritaire de trois dermatophytes isolés en monoculture.

III.3.3. Résultats selon la provenance des échantillons

Sur **176 cultures positives**, près de 50% soit 51% provenaient de l'air ambiant du service de la réanimation. Les résultats selon la provenance des résultats sont présentés par la figure 24.

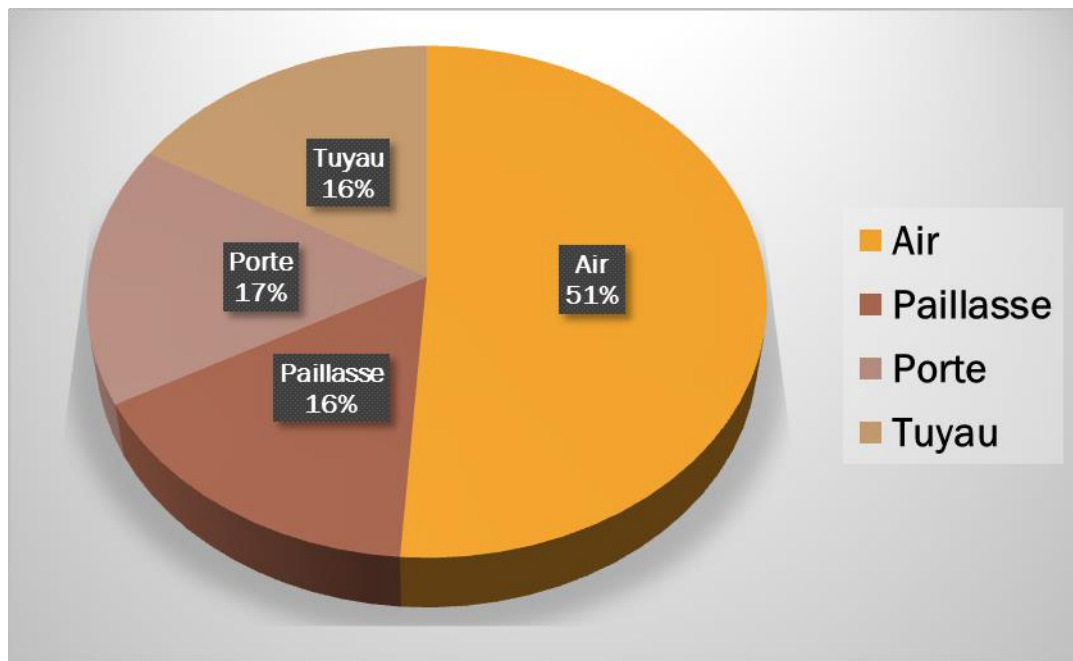


Figure 24: *Répartition des cultures positives selon la provenance à la réanimation*

a) Composition fongique isolée de l'air en monoculture

Au total, **90 cultures positives** étaient enregistrées des prélèvements de l'air dont **71 (78,90%)** genres en **monocultures** et **19 (21,10%)** en **cultures mixtes** (associations de champignons). Le tableau VI nous donne une représentation des genres fongiques isolés en monoculture.

Tableau VI : Distribution des différents genres et espèces isolées dans l'air en monoculture

| Genres | Espèces | Nombre | Pourcentage |
|---|----------------------------|-----------|---------------|
| Les moisissures | | 60 | 84,51% |
| <i>Aspergillus (N=39)</i> | <i>A.fumigatus</i> | 22 | 30,99% |
| | <i>A.flavus</i> | 7 | 9,86% |
| | <i>A.niger</i> | 7 | 9,86% |
| | <i>A.terreus</i> | 3 | 4,22% |
| <i>Rhizopus</i> | <i>Rhizopus sp</i> | 9 | 12,69% |
| <i>Mucor</i> | <i>Mucor sp</i> | 7 | 9,86% |
| <i>Absidia</i> | <i>Absidia corymbifera</i> | 2 | 2,80% |
| <i>Penicillium</i> | <i>Penicillium sp</i> | 1 | 1,41% |
| <i>Rhizomucor</i> | <i>Rhizomucor miehei</i> | 1 | 1,41% |
| <i>Scedosporium</i> | <i>Scedosporium</i> | 1 | 1,41% |
| | <i>apiospermum</i> | | |
| Levures | | 4 | 5,63% |
| <i>Candida</i> | <i>Candida</i> | 3 | 4,22% |
| | <i>albicans</i> | | |
| | <i>Candida spp</i> | 1 | 1,41% |
| Pseudodermatophytes et dermatophytes | | 7 | 9,86% |
| <i>Scytalidium</i> | <i>Scytalidium</i> | 7 | 9,86% |
| | <i>hyalinum</i> | | |
| Total | | 71 | 100% |

Les moisissures étaient les plus fréquemment isolées (84,51%) suivies des pseudo dermatophytes / dermatophytes (9,86%) et des levures (5,63%) composaient l'air ambiant du Service de la réanimation en monoculture.

Du groupe des moisissures, *A. fumigatus* prédominaient (30,99%) suivi de *Rhizopus sp* (12,69%) et des espèces *A. niger*, *A. flavus* et *Mucor sp* isolées à la même fréquence (9,86%). Par contre, *Scedosporium apiospermum*, *Rhizomucor miehi* et *Penicilium sp* étaient des espèces moins fréquemment isolées (1,41%).

Parmi pseudo dermatophytes / dermatophytes, *Scytalidium hyalinum* était la seule espèce de pseudodermatophytes enregistrée (9,86%).

Quant aux levures, une prédominance de *Candida albicans* était notée (4,22%)

b) Composition fongique de la paille du personnel isolée en monoculture

Au total, **28** cultures positives étaient notées des prélèvements de la paille du personnel uniquement en monocultures. Les résultats de la composition fongique de l'air sont consignés dans le tableau VII

Tableau VII: Distribution des différents genres et espèces isolés de la paille du personnel soignant en monoculture

| Genres | Espèces | Nombre d'espèce | Pourcentage |
|------------------------|-------------------------|-----------------|---------------|
| Les moisissures | | 3 | 10,70% |
| <i>Aspergillus</i> | <i>A.fumigatus</i> | 3 | 10,70% |
| Les levures | | 24 | 85,70% |
| | <i>Candida spp</i> | 17 | 60,70% |
| | <i>C.albicans</i> | 4 | 14,30% |
| | <i>C. dubliniensis</i> | 2 | 7,10% |
| | <i>C. krusei</i> | 1 | 3,60% |
| Dermatophytes | | 1 | 3,60% |
| <i>Trichophyton</i> | <i>T.mentagrophytes</i> | 1 | 3,60% |
| Total | | 28 | 100% |

Des différents genres et espèces isolés des 28 monocultures positives de la paille du personnel soignant, les levures prédominaient (85,70%) avec une forte fréquence de *Candida spp* (60,70%) suivie de *C.albicans* (14,30%) et de *C.krusei* (3,60%).

Les moisissures étaient le deuxième groupe fongique identifié (10,70%) avec une seule espèce dont *A. fumigatus*.

Parmi les dermatophytes, *Trichophyton mentagrophytes* (3,60%) était la seule espèce notée.

c) Composition fongique du poignet de la porte de l'entrée principale isolée en monoculture

Au total, **29 cultures positives** étaient notées des prélèvements du poignet de la porte de l'entrée principale **22 (75,86%) en monocultures** . Le tableau VIII montre une répartition de la composition fongique isolée sur le poignet de la porte de l'entrée principale

Tableau VIII : Répartition des différents genres et espèces isolés du poignet de la porte de l'entrée principale

| Genres (Nombre) | Espèces | Nombre d'espèce | Pourcentage |
|---|-------------------------|-----------------|---------------|
| Les moisissures | | 15 | 68,18% |
| <i>Aspergillus</i> (N=14) | <i>A.fumigatus</i> | 5 | 22,72% |
| | <i>A.terreus</i> | 4 | 18,18% |
| | <i>A.niger</i> | 3 | 13,64% |
| | <i>A. flavus</i> | 2 | 9,10% |
| <i>Rhizopus</i> | <i>Rhizopus sp</i> | 1 | 4,54% |
| Les levures | | 3 | 13,64% |
| <i>Candida</i> | <i>C. albicans</i> | 3 | 13,64% |
| Pseudodermatophytes et dermatophytes | | 4 | 18,18% |
| <i>Scytalidium</i> | <i>S hyalinum</i> | 2 | 9,10% |
| <i>Trichophyton</i> | <i>T.mentagrophytes</i> | 1 | 4,54% |
| | <i>T. soudanense</i> | 1 | 4,54% |
| Total | | 22 | 100% |

Les moisissures étaient les plus fréquemment enregistrées (68,18%) suivies des levures (13,64%) et des pseudo dermatophytes / dermatophytes (18,18%).

d) Composition fongique du tuyau de la climatisation isolée en monoculture

Dans notre étude , 29 cultures positives avaient été notés des prélèvements **du tuyau de la climatisation** dont **24 (82, 75%)** en monocultures contre **5 mixtes (17, 25%)**. Les résultats sont consignés dans le tableau IX.

Tableau IX.: **Répartition des différents genres et espèces isolés du tuyau de la climatisation isolée en monoculture**

| Genres (Nombre) | Espèces | Nombre d'espèce | Pourcentage |
|------------------------------|-------------------------|-----------------|---------------|
| Les moisissures | | 19 | 79% |
| <i>Aspergillus</i> (N=15) | <i>A.flavus</i> | 5 | 20,80% |
| | <i>A. terreus</i> | 5 | 20,80% |
| | <i>A.niger</i> | 3 | 12,50% |
| | <i>A.fumigatus</i> | 2 | 8,20% |
| <i>Mucor</i> | <i>Mucor sp</i> | 2 | 8,30% |
| <i>Fusarium</i> | <i>Fusarium</i> | 1 | 4,20% |
| | <i>oxysporum</i> | | |
| <i>Rhizopus sp</i> | <i>Rhizopus sp</i> | 1 | 4,20% |
| Les levures | | 5 | 21% |
| <i>Candida</i> (N=4) | <i>Candida spp</i> | 2 | 8,20% |
| | <i>C. glabrata</i> | 1 | 4,20% |
| <i>Geotrichum</i> | <i>Geotrichum</i> | 1 | 4,20% |
| | <i>candinum</i> | | |
| | <i>Candida albicans</i> | 1 | 4,00% |
| Total | | 24 | 100% |

Sur les **24 monocultures positives** enregistrées. Les moisissures prédominaient (79%) la composition fongique du tuyau de la climatisation suivies des levures (21%).

Parmi les moisissures, le genre *Aspergillus* dominait avec principalement les espèces *A. flavus* et *A. terreus* isolées à la même fréquence (20,80%) suivies d'*A.niger* (12,50%).

Mucor sp représentait 8,30% de la composition fongique contre 4,20% pour les espèces *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus sp* chacune.

III.4. Résultats des cultures mixtes

Nous avons enregistré 31 mixtes dans notre étude soit un taux de 17,61%. Le tableau X représente les cultures mixtes pour l'ensemble des secteurs prélevés de la réanimation.

Tableau X: Distribution des cultures mixtes pour l'ensemble des secteurs prélevés

| Cultures mixtes | Nombre d'espèce | Pourcentage |
|---|-----------------|---------------|
| <i>A terreus</i> + <i>A.niger</i> | 11 | 35,50% |
| <i>A terreus</i> + <i>A.flavus</i> | 9 | 29,10% |
| <i>A. fumigatus</i> + <i>A. terreus</i> | 8 | 25,80% |
| <i>A.flavus</i> + <i>A.fumigatus</i> | 1 | 3,20% |
| <i>A fumigatus</i> + <i>A.niger</i> | 1 | 3,20% |
| <i>A terreus</i> + <i>Rhizopus sp</i> | 1 | 3,20% |
| Total | 31 | (100%) |

Parmi les 31 cultures mixtes pour l'ensemble des secteurs prélevés du Service de la réanimation, l'association *A terreus* +*A. niger* prédominait à une fréquence de 35,50% suivie de *A terreus* +*A.flavus* (29,10%) et *A fumigatus* +*A.terreus* (25,80%). Aussi, *A.flavus*+ *A.fumigatus*, *A fumigatus* +*A.niger* et *A terreus* + *Rhizopus sp* était isolée à la même fréquence (3,20%).


III.5. Résultats des tests de sensibilité *in vitro*

Le profil de sensibilité *in vitro* a été testé pour quatre grands groupes de champignons isolés et identifiés du Service de la réanimation dont les levures (*Candida* et autres levures), les dermatophytes/pseudo dermatophytes et les moisissures.

III.5.1 Résultats du profil de sensibilité des levures

Le tableau XI nous présente le profil de sensibilité des levures (les levures du genre *Candida* et *Geotricum candidum*) aux antifongiques testés.

Tableau XI: Profil de sensibilité des levures (les levures du genre *Candida* et *Geotricum candidum*) aux antifongiques

| <u>Agents fongiques</u> | | <u>Antifongique usuels</u> | | | | | |
|-------------------------|---|---|-----|---------------|-------------------|-----|------------------|
| | | <u>Polyènes</u> | | <u>Azolés</u> | <u>Imidazolés</u> | | <u>Thiazolés</u> |
| | | AMB | NYS | KET | MIC | FLU | CTR |
| <i>C . krusei</i> | } | R | R | R | R | R | R |
| | | R | R | R | R | R | R |
| <i>C . albicans</i> | } |  | S | S | S | S | S |
| | | S | S | S | S | S | S |
| <i>C . dubliniensis</i> | } | R | R | R | R | R | R |
| | | R | R | R | R | R | R |
| <i>C . glabrata</i> | | R | R | R | R | R | R |
| <i>G . candidum</i> | | S | S | S | S | S | S |

Parmi les espèces de levures du genre *Candida*, *C. krusei*, *C. dubliensis* et *C. glabrata* ont été résistantes à tous les antifongiques testés dans notre étude soit une prévalence de 100%.

Les souches de *C. albicans* et *G. candidum* ont été toutes sensibles aux antifongiques à l'exception d'une souche de *C. albicans* qui a donné un profil de sensibilité intermédiaire à l'AMB.

III.5.2. Résultats du profil de sensibilité des dermatophytes et pseudo dermatophytes aux ATF testés

Le tableau XII, nous montre le profil de sensibilité des dermatophytes et pseudo dermatophytes aux antifongiques

Tableau XII : Profil de sensibilité des dermatophytes et pseudo dermatophytes aux antifongiques

| Agents fongiques | Antifongique usuels | | | | | |
|--------------------------|---------------------|-----|--------|------------|-----|-----------|
| | Polyènes | | Azolés | Imidazolés | | Thiazolés |
| | AMB | NYS | KET | MIC | FLU | CTR |
| <i>T. mentagrophytes</i> | S | R | I | I | R | S |
| <i>S. hyalinum</i> | S | S | I | R | R | I |
| <i>S. hyalinum</i> | S | S | S | R | R | S |

Au total deux souches de pseudo dermatophytes, dont *Scytalidium hyalinum* et une souche de dermatophyte avec *Trichophyton mentagrophytes* ont été testés *in vitro*. Toutes ces souches ont été sensibles à l'amphotéricine B (100%), et 100% de souches résistantes au fluconazole.

Aussi nous avons noté que les deux souches de pseudo dermatophytes (66,66%) ont été sensibles à la nystatine alors que celle du dermatophyte *T. mentagrophytes* a été résistante (33,3%).

III.5.3. Résultats du profil de sensibilité des moisissures aux antifongiques testés

Onze souches de moisissures ont été testés *in vitro*. Le profil de sensibilité des 11 souches aux antifongiques testés est représenté dans le tableau XIII

Table XIII : Profil de sensibilité des moisissures aux antifongiques

| <u>Agents fongiques</u> | | <u>Antifongique usuels</u> | | | | | |
|-------------------------|---|----------------------------|-----|---------------|-------------------|-----|------------------|
| | | <u>Polyènes</u> | | <u>Azolés</u> | <u>Imidazolés</u> | | <u>Thiazolés</u> |
| | | AMB | NYS | KET | MIC | FLU | CTR |
| <i>Absidia sp</i> | } | S | S | S | I | R | S |
| | | S | S | S | I | R | S |
| <i>Mucor sp</i> | } | S | S | S | I | R | S |
| | | S | S | I | R | R | S |
| <i>Rhizopus sp</i> | } | S | R | I | R | R | S |
| | | S | R | I | R | R | I |
| <i>Penicillium sp</i> | | S | S | S | S | S | S |
| <i>A. fumigatus</i> | } | S | S | S | R | R | I |
| | | S | S | S | R | R | I |
| <i>A. flavus</i> | } | R | I | S | I | S | I |
| | | R | I | S | I | S | I |
| <i>A. niger</i> | | S | S | S | I | I | I |
| <i>A. versicolor</i> | | S | S | S | S | S | S |
| <i>A. terreus</i> | | S | S | S | I | I | I |

Les neuf espèces isolées ont été **sensibles** à l'amphotéricine B (AMB), versus deux souches dont *A. flavus* et *A. versicolor* résistantes. La prévalence des souches sensibles isolées et testées à l'AMB a été de 81,82% versus 18,18% (2/11) de résistantes. Toutes les souches testées ont été résistantes au fluconazole (FLU) à l'exception du *Penicillium sp* (1/11) soit un taux de résistance de 90,90% (10/11).

Toutes les deux souches de *Rhizopus sp* et l'unique souche d'*A. versicolor* testées à la nystatine ont présenté un profil de résistance soit un taux global de **27,27% (3/11)** de résistance versus **63,63% (7/11)** de sensibilité pour l'ensemble des 11 souches testées. Tandis que *A. versicolor* a présenté un profil de résistance à tous les ATF testés (100%), la souche de *Penicillium sp* a été sensible à toutes ces mêmes molécules (100%).

IV. DISCUSSION

IV.1. Les limites et les contraintes de l'étude

Nous avons réalisé une étude prospective transversale à visée analytique avec inclusion unique du service de la réanimation. Ce qui ne permet pas de généraliser nos résultats à tous les services à risques des infections nosocomiales (Pédiatrie, Néonatalité, Médecine, Chirurgie et Gynécologie-Obstétrique) au CHUSS. Une étude longitudinale avec une surveillance régulière sur plusieurs services à risques d'infections nosocomiales et sur plusieurs périodes permettrait de réduire ces limites.

Aussi, par faute des méthodes d'identification biochimiques telles que les galeries *ID 32C* et *API 20 C AUX* et du MALDI TOF, nous avons été contraints d'utiliser uniquement le milieu *CHromagar* et les tests d'agglutinations au Latex pour l'identification de certaines levures du genre *Candida*, ce qui ne permettait pas d'identifier les autres espèces *Candida spp.* Une identification par la spectrométrie de masse type MALDI- TOF et / ou la PCR permettrait une meilleure distinction des espèces *Candida spp.*

Toutefois, malgré ces limites et contraintes, nos résultats donnent une prévalence de la contamination et de la composition fongique de l'environnement du Service de la réanimation du CHUSS. En outre, ces résultats suscitent un certain nombre de commentaires malgré ces contraintes.

Du choix de la technique de collecte des échantillons, dans la présente étude, la qualité fongique de l'air des environnements du CHU de Bobo-Dioulasso a été évaluée par la technique de sédimentation. Il s'agit d'une technique simple, peu coûteuse et offre une évaluation de l'exposition sur des périodes plus longues que celle de la plupart des méthodes volumétriques [Araujo].

IV.2. Les données de l'étude

Concernant les résultats globaux de l'identification mycologique, nous avons noté une prévalence globale de la contamination environnementale **de 88%** (176/200) après analyse des échantillons collectés au Service de réanimation du CHUSS de Bobo-Dioulasso entre le mois d'août 2016 et janvier 2017. Des résultats supérieurs aux nôtres de 100% de culture positive sur 73 échantillons avaient été trouvés par Diongue et al en 2015 au Sénégal dans une étude sur la composition de la flore fongique au CHU Aristide Le Dantec conduite entre le mois d'avril et mai [3]. Par contre une étude, de Monero et al en Côte d'Ivoire menée au CHU de Bouaké en Côte d'Ivoire durant le mois de mars 2015 sur 31 échantillons rapportait une prévalence inférieure à la nôtre soit 48,4% [4].

La différence de prévalences entre les études ainsi conduites serait liée à la taille des échantillons collectés et analysés. En effet, notre étude a porté **sur 200** échantillons *versus* **73** pour celle conduite au Sénégal [3] et **31 spécimens** pour les investigations conduites à Bouaké en Côte d'Ivoire [4]. Outre la taille des échantillons la période de collecte pourrait influencer le taux de prévalence enregistré lors des différentes études conduites. En effet, notre étude a été conduite du mois d'août 2016 à janvier 2017, toute la période hivernale et le début de la saison sèche (harmattan). Ces périodes sont propices d'une part à la prolifération des champignons (humidité) et d'autre part à la dispersion dans l'environnement (avec harmattan). Contrairement aux études conduites au Sénégal (avril-mai) et au mois de mars pour les investigations menées en Côte d'Ivoire, ces périodes constituent les saisons sèches qui ne sont pas favorables à la survie des spores dans l'environnement et il y a moins de vent pour la dispersion des spores fongiques dans l'environnement.

Selon les caractéristique de la culture, sur un total de **176 cultures positives**, nous avons enregistré **31 mixtes** soit un taux de **17,61%** contre **145 (82,39%)** de monocultures. Par contre, les études de Diongue au Sénégal [3].et de Monemo en Côte d'Ivoire [4] n'ont pas rapporté d'association de champignons en culture (cultures mixtes). Toutefois, l'environnement hospitalier étant composé de plusieurs groupes fongiques

(Tableau 3), l'association d'espèces de champignons serait possible, justifiant la mise en évidence des cultures mixtes (17,61%) dans notre contexte.

Selon la distribution des différents genres fongiques isolés en monoculture, les moisissures étaient les principaux genres fongiques les plus isolés (66,90%), suivies des levures (24,80%) et des pseudos dermatophytes/dermatophytes (8,30%) (Tableau 3).

La prédominance des moisissures dans notre étude a été précédemment décrite dans la littérature [3 ;4 ;61 ;62]. Les moisissures sont en effet des champignons pluricellulaires microscopiques ubiquistes, à croissance filamenteuse, qui regroupent des milliers d'espèces. En outre, lorsque les conditions le permettent, les moisissures produisent, à maturité, de très nombreuses spores très légères qui peuvent être transportées par les courants d'air ou par les humains et les animaux, et se retrouver éventuellement dans les maisons et édifices dont les hôpitaux. Les moisissures, dont les spores sont généralement aérosolisées par le vent sur de grandes distances sont naturellement présentes dans l'air extérieur. Cependant, elles pénètrent aussi facilement dans les locaux comme au sein de l'hôpital, par l'intermédiaire des occupants ou via les systèmes de ventilation. Ces spores peuvent exploiter des niches écologiques diverses dans les environnements intérieurs comme les hôpitaux.

Egalement, les vecteurs de ces spores fongiques sont multiples : l'air, les surfaces, l'eau ou encore l'alimentation [63]. Aussi, parmi les dispositifs médicaux, plusieurs types d'équipements génèrent des aérosols (dispositif d'oxygénothérapie), les microgouttelettes ainsi générées sont le support de microorganismes aéroportés dont les moisissures [64]. Toutes ces circonstances sus - décrites notamment la multiplicité des espèces, la production de spores aérosolisées par le vent pouvant se disperser sur de grandes distances, présence dans le milieu intérieur par l'intermédiaire de vecteurs multiples et la diversité des niches écologiques sont autant de facteurs qui pourraient justifier la fréquence élevée (66,90%) des moisissures dans notre étude.

Outre les moisissures, notre étude a identifié les levures (24,80%) et des pseudos dermatophytes/dermatophytes (8,30%) (Tableau 3).

Les levures proviennent généralement de la flore endogène de l'Homme. Quant aux pseudo dermatophytes, il s'agit des moisissures kératinophiles dont l'habitat dans la nature n'est pas toujours connu [26].

Les dermatophytes isolés dans notre étude peuvent avoir un réservoir humain pour les espèces anthropophiles (*Trichophyton soudanense*). Il s'agit de champignons humains exclusifs, se transmettant par les contacts, le linge, les sols (piscine, plage) [26]. Aussi, des espèces anthro-po-zoophiles, qui se transmettent à l'Homme par le biais d'un animal contaminé ont été isolées (*Trichophyton mentagrophytes*).

Ainsi, ces levures et pseudos dermatophytes/dermatophytes isolées dans notre contexte dans la composition de l'environnement hospitalier ; terme regroupant habituellement l'air, les surfaces, les dispositifs médicaux et autres seraient transportés par les humains (personnel soignant, les patients et les visiteurs) ou véhiculés par les dispositifs médicaux ou lors des soins.

Par ailleurs, des levures ont été isolées dans la composition fongique de l'environnement hospitalier dans les séries de Diongue et al au Sénégal (11,10%) [3], Monero et al en Côte d'Ivoire (36,4%) [4], et d'Afshari (18%) [65]. Par contre, Shams-Ghahfarokhi et al dans leur série en Iran n'ont isolé ni de levures, ni de pseudos dermatophytes. Cette étude ayant porté sur les prélèvements de l'air uniquement pourraient expliquer l'absence de ces genres fongiques [66].

Dans notre étude, *Aspergillus* était le principal genre de moisissures isolé avec une fréquence de 48,90% ; suivi, de *Rhizopus* (7,60%), de *Mucor* (6,20%) et d'*Absidia* (1,40%) (Tableau 3).

La prédominance du genre *Aspergillus* a également été notée dans la série de Monero et al en Côte d'Ivoire (plus de 60%) [4].

Ailleurs au Brésil, des études similaires ont été menées dans diverses villes. Dans ces villes, le genre le plus fréquemment isolé a été *Penicillium spp* (40% à 93,3%) [67 ;71].

Egalement, le genre *Aspergillus spp* a été rapporté par Panagopoulou et al. avec une fréquence plus élevée que celle observée dans cette étude (75,5%) lors de

l'évaluation de trois hôpitaux en Grèce pour la présence de champignons aéroportés [72]. Les *Aspergillus* sont en effet des champignons filamenteux ubiquitaires, cosmopolites très abondants dans l'environnement. Ces moisissures sont présentes sur les débris organiques, dans le sol, sur les poussières, les graines, le foin moisi, les tissus, les vêtements, les meubles, dans les déshumidificateurs ou climatiseurs, elles sont saprophytes sur les matières organiques en décomposition. A partir de ces réservoirs, les spores aspergillaires sont disséminées dans l'atmosphère dont celle hospitalière. Les *Aspergillus* représentent ainsi 1 à 5% des isollements de moisissures dans l'air en général, cette moisissure est peu exigeante puisqu'elle peut se développer dans des milieux très pauvres, dans l'eau, mais aussi dans des conditions de sécheresse extrême [63]. Toutes ces conditions pourraient justifier la forte fréquence des *Aspergillus* dans notre série.

Par contre Diongue et *al* au Sénégal ont isolé *Cladosporium* en majorité (91,1 %) [3]. *Penicillium sp* a été fréquemment isolée (15,18%) dans la série de Gonçalves au Brésil [73].

Selon certains auteurs, une trentaine de genres fongiques sont observés de façon régulière en milieu intérieur contaminé dont les plus fréquents sont *Cladosporium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Apergillus* et *Penicillium* [74 ;75]. Cela peut être dû au fait que *Aspergillus*, *Penicillium* et *Cladosporium* produisent de nombreuses spores petites et légères qui, en général reste dans l'air pendant une longue période, tandis que les autres genres de champignons produisent moins de spores plus grandes et plus lourdes qui ont tendance à avoir une dispersion plus rapide [76].

Au Nigeria, les genres *Aspergillus*, *Penicillum*, *Mucor* et *Fusarium* étaient les moisissures les plus fréquemment enregistrées en milieu hospitalier [77].

Dans notre série, les autres genres de moisissures tels que *Rhizomucor*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Scedosporium* ont été retrouvés à moins de 1% chacune (Tableau 3). Shams-Ghahfarokhi et *al* en Iran ont noté la même tendance de moins 1% avec *Rhizomucor* (0,2%) et *Fusarium* (0,4%) [66].

Gonçalves et al au Brésil ont enregistré les genres *Rhizomucor* et *Fusarium* à des fréquences supérieures aux nôtres : 5,1% et 12, 65% respectivement [73]. Sautour et al. (2009) ont répertorié le *Fusarium* [78].

Par contre, la plupart des auteurs n'ont pas noté le genre *Scedosporium* [3 ;66, 67 ;68 ;69 ;70 ;71 ;73 ;74 ;75;77]. Les spores de *Scedosporium* peuvent comme pour celles des autres moisissures contaminées le milieu intérieur dont les hôpitaux. Cependant, malgré qu'il soit un champignon cosmopolite, il a une écologie restreinte par rapport aux autres champignons avec des exigences spécifiques. Ce champignon a en effet été isolé du sol, de substrats variés riches en matières organiques : litières animales, fumiers, boues, eaux salées, etc. Ces exigences pourraient limiter sa présence dans la plupart des études comme dans notre contexte.

Concernant les champignons du genre *Fusarium*, ils sont en effet cosmopolites, on les isole du sol où ils persistent grâce à des chlamydospores, ils parasitent de nombreuses variétés de plantes. Les spores ou conidies peuvent également être isolées de l'air ambiant, mais beaucoup moins fréquemment que les spores aspergillaires puisqu'elles ne représentent que 1 ou 2% des espèces fongiques isolées dans l'air [26 ;73]...

Quant aux Zygomycètes dont ceux du genre *Rhizomucor* isolé dans notre étude, ils représentent des isolats relativement rares dans le laboratoire clinique, reflétant des contaminants environnementaux ou, moins souvent, une maladie clinique appelée zygomycose [71 ;72 ;73 ;75].

La répartition des données selon les espèces fongiques isolées en monoculture indique que parmi les espèces de moisissures identifiées, *A. fumigatus* était majoritaire (32,90%) suivie des espèces *A. flavus* (14,40%), *A. terreus* (12,40%) et *A. niger* (13,40%) (Tableau 4).

Ailleurs, Ortiz et al. (2009) ont analysé la flore aérobie totale dans 3 endroits de l'hôpital de Murcia en Espagne et ont noté que 1,42 % des moisissures étaient représentées par *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus* [61]. En outre, Sautour et al. (2009) ont rapporté trois moisissures dont *A. fumigatus*, *A. niger* et *P. citrinum*. *A. fumigatus* plus fréquemment dans les salles informatiques, les laboratoires hospitaliers, les salles d'opération, à la réanimation, à l'infirmerie et dans le local du scanner [78].

Egalement, Lacaz et al dans leur étude ont rapporté que les espèces les plus courantes comprenaient *A. flavus* et *A. fumigatus* [79].

Selon la fréquence des espèces du genre *Aspergillus* isolées, *A. fumigatus* a été l'espèce majoritaire dans notre étude (32,9%). Ailleurs, cette espèce a été isolée en milieu de soins dans diverses circonstances, que ce soit la contamination par l'*Aspergillus* des réseaux d'alimentation en eau, des systèmes de ventilation et de filtration d'air ou l'introduction de poussières générées lors de travaux de construction [80 ;81]. Ce champignon en effet est un saprophyte de répartition mondiale, fréquemment isolé à partir du sol, de la matière végétale en décomposition, du compost, des copeaux de bois, et du foin [82 ;84]. Aussi, il constitue un des microorganismes les plus communs présents dans la tourbe, le compost et tout autre matériel organique se décomposant à des températures élevées. Ce caractère thermo tolérant et thermophile pourrait justifier sa prédominance dans notre contexte de climat tropical chaud et humide. En outre, ce mycète se développe bien sur les substrats organiques en milieu intérieur telle que la poussière domestique. Ce mycète peut également contaminer des articles usuels composés de toile, de cuir ou de papier [82 ; 85]. La multiplicité de niches écologiques pour ce champignon justifierait sa forte prévalence dans notre série.

Dans notre série, *A. flavus* a été la deuxième espèce enregistrée (14,40%). En plus de pouvoir croître sur des produits alimentaires et des fourrages, l'*Aspergillus flavus* est connu pour avoir la capacité de se développer sur le papier, le bois, les matériaux de construction peints, les textiles, le cuir; il a même été trouvé sur des matériaux synthétiques, des vernis et des cires ainsi que sur des composantes électroniques et des plaques photographiques en verre [82]. Les études en milieu intérieur comme dans les hôpitaux ont prouvé que l'*A. flavus* peut être présent dans la poussière intérieure des résidences, dans les conduites de ventilation et sur les matériaux de construction contaminés. Dans une étude réalisée en Croatie, l'*A. flavus* a été identifié dans 4% des échantillons de surface de murs, prélevés dans des résidences humides [86]. *A. flavus* a été également identifié dans des filtres HEPA qui peuvent servir de source à la contamination intérieure pour des hôpitaux [87].

A. niger occupait 13,40% de la composition fongique de notre étude. De façon générale, cette espèce est répandue en milieu intérieur. Ainsi, dans 49 appartements de Bucarest, les spores d'*A. niger* étaient présentes dans un pourcentage élevé d'échantillons (concentration non donnée), et la présence de ces spores a été associée aux réactions positives à un allergène spécifique d'*A. niger* chez les occupants [88].

Dans une autre étude, *A. niger* était parmi les 5 mycètes les plus répandus dans les échantillons prélevés dans des maisons de patients allergiques aux moisissures, et il était le plus important du genre *Aspergillus* : il a été détecté dans 19,20 % des échantillons d'air intérieur et dans 25,3 % des échantillons d'air extérieur [82].

Quant à *Aspergillus terreus*, la quatrième espèce isolée dans notre série, il s'agit d'une espèce essentiellement tellurique, fréquente dans les terres arides des régions chaudes [Chabasse]. On trouve aussi cette espèce cosmopolite dans un grand nombre de matériaux (graines de céréales, coton et autres matériels fibreux) [89]. Le coton utilisé dans les hôpitaux pourrait être un des niches écologiques de cette espèce, expliquant sa présence dans notre contexte.

Les autres espèces de moisissures ont été dominées par *Rhizopus* sp (11,30%), *Mucor* sp (9,20%) et *Absidia corymbifera* (2%). Cependant, les espèces telles que *Rhizomucor miehei*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium* sp et *Scedosporium apiospermum* étaient enregistrées à 1,10% chacune (Tableau 4).

Ailleurs, Afshari et al dans leur série ont isolé *Rhizopus* spp et *Fusarium* spp à un taux de moins de 1% chacun [65].

Concernant l'espèce *Absidia corymbifera* isolée dans notre étude (2%), des rares rapports ont été publiés ailleurs concernant la prévalence des espèces d'*Absidia* dans la nature ou dans les environnements habités. Une étude brésilienne a ainsi démontré que les espèces d'*Absidia* ne constituent que des contaminants mineurs de l'air extérieur, car elles ne sont présentes que dans 2,20% des échantillons d'air; de plus, ce genre est rencontré plus fréquemment pendant les périodes sèches [90]. *Absidia* a aussi été identifié dans des échantillons d'air extérieur prélevés en Turquie [91].

Absidia corymbifera est ubiquitaire et est rencontré couramment en milieu intérieur comme dans les hôpitaux, justifiant sa présence dans notre série.

Par ailleurs, notre série a identifiée *Penicillium sp* à 1,1%. D'autres études ont démontré que *Penicillium sp* est souvent rapporté comme étant le principal mycète dans les échantillons d'air contaminé prélevés dans les hôpitaux [92 ;95]. Étant donné que ce mycète prolifère facilement sur les matériaux de construction absorbants [96 ; 97] on a même suggéré d'utiliser sa concentration comme index de contamination [95]. En outre, Sautour *et al.* ont rapporté *P. citrinum* plus fréquemment aux laboratoires hospitaliers et à la réanimation [78].

Quant à l'espèce *Fusarium oxysporum* identifiée dans notre série, elles sont omniprésentes et peuvent être trouvées dans le sol, dans l'air et sur les plantes [98]. Les espèces *Fusarium sp* sont surtout connues comme étant associées aux récoltes de céréales et à la poussière de grains (seigle, orge, maïs, avoine, blé et sarrasin) [99, 100]. Cependant, plusieurs espèces de *Fusarium* peuvent être trouvées dans l'air extérieur et en milieu intérieur comme les hôpitaux [102 ;103]. Ainsi, les espèces de *Fusarium* ont été récupérées à partir d'échantillons provenant du système de distribution d'eau de l'hôpital ou d'échantillons d'aérosols prélevés pendant que coulait une douche [80].

Quant aux espèces de levures isolées en monoculture, parmi les levures du genre *Candida*, *C. albicans* était l'espèce prédominante (30,60%) suivie de *C. dubliniensis* (5,50%). Les espèces de *C. krusei* et *C. glabrata* étaient isolées chacune à 2,80%. Par contre, *Candida spp* représentait plus de la moitié des espèces identifiées (55,50%). (Tableau 5). *C. albicans* est en effet, de loin l'espèce la plus isolée du genre *Candida*. La prédominance du groupe d'espèces *Candida spp* serait liée à la limite des techniques diagnostiques dans notre contexte. La disponibilité des techniques complémentaires telles que les galeries d'identification et la spectrométrie de masse type MALDI TOF améliorerait l'identification des espèces de ce groupe de *Candida*.

En outre, l'isolement des autres espèces comme *C. dubliniensis*, *C. krusei* et *C. glabrata* dans notre série confirme le caractère émergent de ces levures ; caractère lié

à l'augmentation des patients immunodéprimés suite au nombre croissant des facteurs de risque (VIH, Corticothérapie, chimiothérapie, diabète...) [104].

La levure *Geotricum candidum* était identifiée à 2,80% des cas (Tableau 5). Toutefois, Monero et al en Côte d'Ivoire ont enregistré une prédominance de cette espèce (36,4%) par rapport aux espèces du genre *Candida* [4]. Quoiqu'il en soit, ces levures sont d'origine endogène [26]. Leur présence dans l'environnement hospitalier serait liée aux soins (fibroscopie, oxygénothérapie, l'implantation temporaire d'un cathéter vasculaire, d'une sonde vésicale ou d'une sonde endotrachéale..), à l'usage des dispositifs médicaux (Sonde) et au personnel soignant/patients [7-12].

Concernant des espèces de pseudodermatophytes et de dermatophytes, parmi les 12 pseudo dermatophytes trois étaient des dermatophytes dont deux espèces de *T. mentagrophytes* (16,67%) versus une (8,33%) pour *Trichophyton soudanense* (Figure 23). Les dermatophytes peuvent survivre sur nombre de surfaces et milieux, notamment le sable, les planchers, les cabines de douche, les vêtements et les brosses à cheveux [105]. L'eau peut également être une source d'infection (contamination signalée dans des bains publics). Selon l'espèce, les dermatophytes peuvent survivre jusqu'à 20 mois sur les squames de peau à température ambiante [106]. La plupart des dermatophytes peuvent survivre dans l'eau salée (NaCl à 50 %) pendant au moins 52 semaines [107] Toutes des conditions de résistance en milieu extérieur justifie sa persistance sur la paillasse du personnel soignant malgré la désinfection régulière du milieu.

L'Homme malade peut donc être la clé de transmission de ces dermatophytes en milieu hospitalier par contact, dans les douches...justifiant leur isolement dans l'environnement du Service de la réanimation du CHU de Bobo-Dioulasso. Toutefois, ces espèces n'ont pas été isolées dans la plupart des séries, du fait que ces dernières ont concerné l'air ambiant du milieu intérieur dont les hôpitaux. Les spores des dermatophytes sont absentes dans l'air. On peut les retrouver dans le sol pour les espèces géophiles (*Microsporum gypseum*), chez l'animal (avec les espèces zoophyles

dont *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum*)) et chez l'Homme (avec des espèces anthrophiles dont *T. soudanense*, *T. tonsurans*..).

Par ailleurs, dans notre étude, *Scytalidium hyalinum*, un hyalohyphomycète (mycètes hyalin) était la seule espèce connue et identifiée des pseudo dermatophytes. Il s'agit une moisissure phytopathogène fréquente sur les arbres dans les pays chauds. Elle a été isolée de divers arbres fruitiers ainsi que de légumes essentiellement dans les pays tropicaux et subtropicaux [63]. Ces spores peuvent se retrouver en milieu hospitalier à travers un réservoir humain contaminé. Cependant, la deuxième variante de cette espèce à savoir *Neoscytalidium dimidiatum* est un phaeohyphomycète produisant des hyphes mélanisés de couleur brun noir [63]. Elle est également largement répandue en zones tropicales. Cependant, elle n'a pas été isolée dans notre série. Ces deux variantes sont isolées en milieu hospitalier notamment de l'air et du sol [108].

En tenant compte de la provenance des échantillons, pour les prélèvement de l'air, les moisissures ont été les plus fréquemment isolées (84,51%) suivi des pseudos dermatophytes / dermatophytes (9,86%) et des levures (5,63%). Les moisissures sont des champignons filamenteux cosmopolites fréquemment rencontrés dans l'air et sur les sols et, pour certains d'entre eux, sur les matières en décomposition. La prédominance des moisissures dans l'air ambiant a été rapportée par plusieurs auteurs [3 ;4 ;72 ;73]. Ceci serait dû à la petitesse de la taille (2 à 250 µm, avec une majorité entre 2 et 20 µm) des spores de moisissures et à sa capacité de parcourir de longue distance et à perdurer dans l'air. Aussi, ces moisissures étant observées sur des matières en décomposition dont la nourriture, dans notre contexte, les nourritures des patients et/ou des accompagnants sont conservées à leurs chevets à la réanimation. Leur pourriture génère des milliers de spores de moisissures qui sont dispersées dans l'atmosphère. Ceci pourrait expliquer la prédominance des genres de moisissures dans notre étude au CHU de Bobo-Dioulasso.

Le genre *Aspergillus* prédominait le groupe des moisissures isolées de l'air. La même tendance a été notée en Iran par Shams-Ghahfarokhi et al [66]. Par contre,

Diougue et al au Sénégal ont noté une prédominance de *Cladosporium* spp. (91,1 %) suivi d'*Aspergillus* spp. (86,6 %) [3].

Du genre *Aspergillus*, *A. fumigatus* était l'espèce prédominante (30,99%) suivi de *Rhizopus* sp (12,69%) et des espèces *A. niger*, *A. flavus* et *Mucor* sp isolées à la même fréquence (9,86%). La prédominance d'*A. fumigatus* a été rapportée dans des études antérieures [61;78]. Par contre, Lacaz et al dans leur étude ont rapporté que les espèces les plus courantes comprenaient *A. flavus* et *A. fumigatus* [79]. Diongue au Sénégal isolée *A. fumigatus* à 15,5% après *Cladosporium* et *Penicillium* [3].

Toutefois, les champignons ayant une large gamme de température de croissance présentent un avantage compétitif par rapport aux autres organismes. C'est le cas notamment d'*Aspergillus fumigatus*, capable de se développer à des températures comprises entre 12 et 52°C. Cependant, les moisissures présentes en environnement intérieur sont majoritairement mésophiles : leur croissance est optimale à des températures proches de la température ambiante des locaux (hôpitaux). Ces conditions de températures pourraient justifier la prédominance de cette espèce dans notre étude [63].

Par contre dans notre série, *Scedosporium apiospermum*, *Rhizomucor miehei* et *Penicillium* sp étaient des espèces moins fréquemment isolées (1,41%). Des études précédentes sur la composition fongique de l'air ont rapporté la présence de toutes ces espèces à des fréquences variables [3 ;4 ;61 ;73]. Cependant, la plupart des études n'ont pas retrouvé *Scedosporium apiospermum*, [3 ;66 ;67 ;68 ;69 ;70 ;71 ;73 ;74 ; 75 ;77] probablement liée à ses exigences de croissance : présence de substances organiques substrats variés riches en matières organiques (litières animales, fumiers, boues, eaux salées, etc) [63].qui conditionneraient sa présence dans l'environnement, en particulier dans l'air

Parmi les pseudo dermatophytes / dermatophytes, *Scytalidium hyalinum* était la seule espèce de pseudodermatophytes enregistrée (9,86%). Les espèces *Scytalidium hyalinum* sont des moisissures généralement isolées des sols et arbres fruitiers des régions chaudes et humides. Leur présence dans l'air ambiant n'est pas fréquente, expliquant son absence dans la plupart des séries antérieures qui ont étudié la

composition fongique de l'air [3 ;66 ;67 ;68 ; 69 ;70;73 ;74 ;75 ;77]. Par contre, Asmaa et al au Maroc ont isolé *Scytalidium hyalinum* dans l'air hospitalier [108].

Quant aux levures, une prédominance de *Candida albicans* était notée (4,22%). Cependant, Diongue et al au Sénégal ont noté une forte prévalence de *Candida sp* (57,7%) versus *C. albicans* à 11,1% [3].

Par contre en côte d'Ivoire, Monero et al ont identifié *Geotrichum candidum* en majorité (36,4%) au service de la réanimation [4].

Les *Candida* et les autres levures de par leur origine endogène (*in situ*), leur présence dans l'air n'est pas courante et serait liée aux soins médicaux, à l'usage de dispositifs médicaux et à l'hygiène inappropriée de l'environnement hospitalier. La majorité des études conduites antérieurement en effet n'ont pas isolé de l'air ambiant hospitalier les espèces de levures du genre *Candida* et de *Geotrichum* [66 ;73 ;77].

De la composition fongique de la paillasse du personnel isolée en monoculture, les levures prédominaient (85,7%) avec une forte fréquence de *Candida spp* (60,70%) suivie de *C. albicans* (14,30%) et de *C. krusei* (3,60%) (Tableau 7). Ces levures étant endogènes, leur prédominance sur la paillasse du personnel serait due à la mauvaise hygiène des mains des agents de santé après l'utilisation des dispositifs médicaux (Sonde, l'implantation temporaire d'un cathéter vasculaire, d'une sonde vésicale ou d'une sonde endotrachéale) et l'administration des soins (oxygénothérapie, nutrition parentérale...) aux patients [7 ;12].

Par ailleurs, la prédominance des espèces de *Candida spp* (60,70%) dans notre série est comparable à celle notée au Sénégal par Diongue et al [3]. Cette prédominance dans notre contexte serait liée à la limite des techniques d'identification des levures utilisées (Test de blastèse, Milieu chromogénique limité à seulement quatre espèces, tous couplés au tests d'agglutination au latex). L'utilisation du MALDI TOF permettrait d'améliorer l'identification de ces espèces.

En outre, notre série a enregistré une proportion de *Candida albicans* de 14,30%, taux en hausse par rapport à celui de 11,10% noté au Sénégal par Diongue et al [3].

Toutefois, l'identification de *C. krusei* (3,60%) dans notre série sur la paille du personnel doit être prise avec beaucoup de considération [109 ;111]. En effet, *C. krusei* est connue aujourd'hui comme une espèce émergente. Des études font état de sa résistance aux azolés avec plus particulièrement, celle intrinsèque au Fluconazole [12] qui est l'antifongique disponible au CHU de Bobo-Dioulasso. L'introduction de ce champignon via les soins ou usage de dispositifs médicaux pourrait avoir des répercussions graves chez les patients immunodéprimés du Service de la réanimation, avec une prise en charge thérapeutique délicate à cause de non réponse de *C. krusei* aux antifongiques dont le fluconazole utilisés au CHU de Bobo-Dioulasso.

Quant aux moisissures, elles étaient le deuxième groupe fongique identifié (10,71%) avec une seule espèce dont *A. fumigatus* sur la paille du personnel (Tableau 7). Les moisissures sont omniprésentes, justifiant leur présence sur cette paille. En outre, la large gamme de température de croissance (12°C à 52°C) associée à une forte prévalence générale d'*Aspergillus fumigatus* (32,90%) augmenteraient sa probabilité d'occurrence qui pourrait expliquer sa présence comme seule espèce de moisissures identifiée dans notre contexte.

Parmi les dermatophytes, *Trichophyton mentagrophytes* (3,60%) était la seule espèce isolée à partir des prélèvements de la paille du personnel. *Trichophyton mentagrophytes* est un dermatophyte cosmopolite à la fois tellurique et zoophile. La contamination se fait par contact avec les animaux malades ou porteurs de spores, par la terre, les objets souillés, par les poils infestants, les douches collectives et les vestiaires [63]. Leur présence sur la paille du personnel peut être une source de contamination pour les patients à travers les objets mal désinfectés (dispositif d'oxygénothérapie), les mains du personnel lors des soins etc. Aussi, la contamination du personnel peut se faire via les patients hospitalisés [7 ;12].

Selon la composition fongique du poignet de la porte de l'entrée principale isolée en monoculture, les moisissures étaient les plus fréquemment enregistrées (68,18%) (Tableau 8). La prédominance des moisissures se justifierait par la production en grande quantité des spores qui vont se disperser dans l'environnement et se poser

sur le poignet de la porte de l'entrée principale du Service de la Réanimation. *A. fumigatus* était l'espèce majoritaire (27,72%). La forte fréquence d'*A. fumigatus* serait en rapport avec sa forte prévalence dans la base de données de notre étude (32,90%). Aussi, la large gamme de température de croissance (12°C à 52°C) supportée par *A. fumigatus* serait en faveur de sa prédominance au niveau du poignet de la porte de l'entrée principale du Service de la réanimation.

Les levures ont été également isolées (13,64%) du poignet de la porte de l'entrée principale de la réanimation de même que des pseudo dermatophytes / dermatophytes (18,18%) (Tableau 8). Aussi, du groupe des levures, *Candida albicans* était la seule espèce identifiée (13,64%) du poignet de la porte de l'entrée principale de la réanimation (Tableau 8). Egalement, la présence de *Scytalidium hyalinum* (9,10%), de dermatophytes dont *T. mentagrophytes* et *T. soudanense* enregistrées à la même fréquence (4,5%) (Tableau 8)

Candida albicans est de loin l'espèce la plus fréquemment isolée dans la littérature (près de 50%). D'origine endogène, la présence de *C. albicans* dans notre série serait consécutive comme précédemment décrite à l'administration des actes de soins (pose de sonde, pose de cathéters) ou à l'utilisation de dispositif médical (oxygénothérapie, ...) et le tout associé au manque d'hygiène appropriée des mains du personnel soignant et des visiteurs [7 ;12].. En outre, la présence de *Scytalidium hyalinum* (9,10%), de *T. mentagrophytes* et *T. soudanense* au niveau du poignet de la porte de l'entrée principale de la réanimation serait due à une contamination via le personnel soignant par contact avec les patients ou des visiteurs eux-mêmes ou à travers le malade hospitalisé. Tout ceci serait favorisé par une mauvaise hygiène appropriée des mains et des dispositifs médicaux.

De la composition fongique du tuyau de la climatisation isolée en monoculture, les moisissures prédominaient la composition fongique du tuyau de la climatisation en monoculture suivie des levures (21%). Parmi les groupes fongiques isolés, les moisissures étaient les plus fréquentes (79%) et le genre *Aspergillus* dominaient. (Tableau 9) Les *Aspergillus* étant des champignons ubiquitaires et cosmopolites très abondants dans l'environnement, ils ont été isolés dans les déshumidificateurs, les

systèmes de climatisation, les conduites de ventilation et les systèmes de filtration d'air. A partir de ces réservoirs, les spores aspergillaires sont disséminées dans l'atmosphère dont celle hospitalière [80 ;81].

Aussi, les autres moisissures comme *Mucor sp* représentait 8,30% de la composition fongique contre 4,20% pour les espèces *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus sp* chacune (Tableau 9). Toutes ces espèces ont été identifiées en milieu hospitalier de façon générale. Ainsi, les espèces de *Fusarium sp* ont été isolées à partir après analyse des prélèvements collectés du système de distribution d'eau de l'hôpital [113].

Quant aux résultats des cultures mixtes nous avons enregistré **31** mixtes soit un taux de **17,61% (Tableau 10)**. La plupart des études sur la composition fongique de l'environnement hospitalier n'a pas souligné la mise en évidence de cultures mixtes (associations fongiques) [3 ;66 ;67 ;68 ;69 ;70 ;71 ;73 ;74 ;75 ;77].

Sur les 31 cultures mixtes isolées pour l'ensemble des secteurs prélevés du Service de la réanimation, l'association *A terreus* +*A. niger* prédominait à une fréquence de 35,5% suivie de *A terreus* +*A .flavus* (29,10%) et *A fumigatus* +*A.terreus* (25,80%). *A. flavus*+ *A.fumigatus*, *A fumigatus* +*A .niger* et *A terreus* + *Rhizopus sp* étaient isolées à la même fréquence (3,20%) (Tableau 10). Tous ces champignons ont d'abord été isolés en monoculture (Tableau 4). Ces cultures mixtes n'ont concerné que des moisissures avec en majorité deux espèces du genre *Aspergillus*.

En zone tropicales et subtropicales, plusieurs centaines d'espèces de moisissures sont présentes. Les spores de moisissures, ainsi que les fragments mycéliens en suspension dans l'air, peuvent pénétrer à l'intérieur des bâtiments. Il suffit d'un milieu chaud, humide, sombre et mal ventilé pour offrir à certaines moisissures des conditions favorables à leur développement. En outre, les spores des moisissures produites en grande quantité sont très volatiles et peuvent se disperser sur de grandes distances [63]. Tous ces facteurs pourraient expliquer la prédominance des moisissures dans notre série en monocultures d'abord puis leur mise en évidence uniquement en culture mixtes dans notre contexte.

Egalement, dans notre série, les cas de cultures mixtes avec les espèces d'*Aspergillus sp* ont été prédominants. Cette observation serait due au fait que les spores d'*Aspergillus* croissent rapidement et auraient tendance à envahir l'environnement hospitalier au Service de la réanimation offrant peu d'espace aux autres champignons non identifiés en cultures mixtes, qui pourtant ont été isolés en monocultures (Tableau 3). Aussi, ces spores sont généralement résistantes à la chaleur; toutefois, on a observé qu'un traitement à 60 °C pendant 45 minutes inactivait totalement les spores d'*A. niger* et d'*A. flavus* [114]. Cette procédure ne permet pas d'inactiver totalement l'espèce *A. fumigatus*, considérée comme la plus pathogène, même si elle a pour effet de diminuer sa concentration initiale de 3 logarithmes [95].

Par ailleurs, *A. terreus* + *Rhizopus sp* a été la seule association d'*Aspergillus* avec une autre moisissure (3,20%). Il s'agit toujours d'association de deux moisissures. Celle-ci a été possible après une compétition qui aurait permis le développement de *Rhizopus sp* à côté d'*A. terreus* qui est généralement envahissante comme les autres espèces du genre *Aspergillus*.

En Somme toute, notre étude souligne la contamination fongique du Service de l'environnement de la réanimation du CHU de Bobo-Dioulasso par la mise en évidence de divers groupes fongiques dont les moisissures, les levures et les pseudo dermatophytes/dermatophytes. La présence de spores de ces champignons dans le milieu intérieur en particulier hospitalier est une préoccupation majeure de santé publique et a d'importantes implications sanitaires, économiques et sociales [7 ;12].

L'ensemble des activités autour du patient, d'ordre médical, paramédical, ou encore les visites de la famille, sont des situations pouvant générer un risque d'infection [14].

Les infections fongiques dues aux champignons filamenteux en effet sont des maladies redoutables à l'hôpital en dépit de l'évolution récente des stratégies thérapeutiques. Le risque d'acquisition de ces infections et leur pronostic varient selon le niveau d'exposition d'un individu aux sources de spores fongiques et de ses capacités à mettre en place une réponse anti-infectieuse efficace [7 ;12]. Les infections à *Aspergillus* figurent au premier rang en termes de gravité, puisque le taux de mortalité

lié aux aspergillooses est proche de 50% en France [115]. La plupart des cas d'aspergilliose sont causés par *A. fumigatus*, tandis qu'*A. flavus* et *A. niger* viennent au deuxième rang des espèces pathogènes du genre *Aspergillus* les plus répandues dans le monde [116]. En outre, presque toutes les éclosions d'aspergillooses nosocomiales sont attribuées à des sources aéroportées, et, la plupart du temps, à des travaux de construction [76 ;85].

Certes *Aspergillus fumigatus* est responsable de la grande majorité des infections fongiques invasives [115 ;117], cependant diverses moisissures présentes dans l'environnement peuvent induire des infections telles que des zygomycoses, des scédosporioses, des fusarioses, etc [31 ;118]. De la même manière, les cas d'infections causées par ces champignons environnementaux ont été décrits chez des personnes immunocompétentes dans un environnement avec une forte quantité d'inoculum fongique. Par exemple, des mycoses telles que l'endophtalmie mycosique [119], l'aspergillome intracrânien [120], l'aspergilliose cérébrale [121], scédosporiose pulmonaire [122], aspergilliose gastro-intestinale [123] ont été rapportées entre autres mycoses dans la littérature. Ces mycoses sont plus graves chez les patients immunodéprimés, tel est le cas chez les enfants hospitalisés présentant une hypersensibilité liée à la présence de champignons à l'intérieur de l'hôpital [124 ;128].

En d'autres termes, il convient de mentionner la pertinence des champignons à faible prévalence notés dans notre série. C'est le cas des champignons Zygomycètes isolés avec une faible fréquence relativement faible de 7,60% pour *Rhizopus* et de 6,20% pour *Mucor*, (Tableau 3), responsables de la zygomycose, qui est une infection rare, cependant invasive et à évolution rapide, affectant les sujets immunodéprimés et éventuellement immunocompétents [128 ;131]. Les mêmes résultats ont été rapportés par Afshari et al/ en Iran [65].

Par ailleurs, les réactions allergiques chez l'Homme peuvent résulter de l'inhalation de champignons aéroportés, pouvant occasionner des maladies respiratoires, entre autres [132]. En raison de leurs caractères invasifs et opportunistes, la présence des genres *Penicillium sp* et *Aspergillus sp* dans les hôpitaux peuvent causer une morbidité et une mortalité élevées chez les patients immunodéprimés, tels

que les sujets atteints de cancer sous chimiothérapie, les personnes atteintes du sida, les patients souffrant de traumatismes multiples qui sont entre autres les plus touchés par les mycoses opportunistes [132 ;136]. Tous ces patients peuvent être hébergés dans le Service de la Réanimation du CHU de Bobo-Dioulasso qui est une structure de réanimation polyvalente pour tous les malades de l'hôpital.

Concernant les dermatophytes isolés de notre étude, ils sont transmis par contact direct ou indirect avec la peau ou les lésions du cuir chevelu de personnes ou d'animaux infectés ou de vecteurs passifs (p. ex. planchers, cabines de douche, vêtements, brosses à cheveux [105], etc. contaminés par de l'épithélium desquamé [137]. Chez les personnes dont l'immunité à médiation cellulaire est déficiente, l'infection peut se transmettre par des lésions cutanées comme dans les services de soins intensifs.

Quant aux levures isolées de notre série, en réanimation, *Candida* devient un pathogène de plus en plus fréquemment responsable d'infections associées aux soins [7 ;8 ;9 ;10 ;11 ;12 ;109 ;110 ;136]. Dans une étude de cohorte prospective multicentrique récente, menée dans des réanimations françaises, les infections à *Candida spp* représentent la 3ème cause de choc septique [138]. L'incidence des candidémies en réanimation est proche de 7 pour 1000 patients, avec une augmentation de la mortalité globale atteignant 14,5% et un allongement de la durée de séjour de 10 jours [110;111;139].

Ailleurs, des études ont noté que, de nombreux champignons présentent des résistances aux antifongiques conventionnels (amphotéricine B et/ou voriconazole). Nous avons pu tester 11 souches à aux polyènes (Amphotéricine B (AMB), Nystatine (NYS)) et aux triazolés (Kétoconazole (KET), Miconazole (MIC) Fluconazole (FLU) et Clotrimazole (CTR).

Concernant les résultats du profil de sensibilité des levures aux ATF testées, parmi les espèces de levures du genre *Candida*, *C. krusei*, *C. dubliniensis* et *C. glabrata* ont été résistantes à tous les antifongiques testés dans notre étude soit une prévalence de 100% (Tableau 11). De façon générale, la prévalence des levures du

genre *Candida* résistantes aux triazolés de première génération est faible. Des résistances primaires ont été décrites dans moins de 2,5 % des cas pour le fluconazole [140]. Toutefois, *Candida albicans* est le plus souvent sensible, *Candida glabrata* est souvent sensible-dose dépendant. *Candida krusei* est le plus souvent résistant. Quelques résistances secondaires ont été décrites chez des patients sous prophylaxie par le fluconazole : patients VIH présentant une candidose oro-pharyngée [141,142], mais aussi patients greffés de moelle [143]. Des résistances croisées entre différents azolés ont également été décrites [143 ;144].

Les résistances secondaires à l'AMB sont rares, décrites pour quelques souches de *C. glabrata*, de *C. krusei* et de *C. albicans*.

Ces espèces de levures du genre *Candida* circulent déjà à Bobo-Dioulasso au Burkina Faso [145].

C. dubliniensis, une levure du genre *Candida* qui partage des caractères phénotypiques avec *Candida albicans* est considérée comme une nouvelle espèce émergente. Des auteurs rapportent qu'elle est moins sensible que *Candida albicans* aux antifongiques azolés et cette résistance augmente avec l'utilisation prophylactique ou thérapeutique de ces antifongiques, particulièrement avec le fluconazole [146 ;148].

Le caractère opportuniste de *C. dubliniensis* associé au sida est documenté [104]. Le fluconazole est l'ATF distribué gracieusement au Burkina Faso dans le cadre de la prévention des infections fongiques chez les patients vivant avec le VIH et le sida [145]. L'utilisation prophylactique des azolés dont le fluconazole pourrait justifier la résistance de cette espèce à cette famille des ATF.

Aussi, la nystatine est l'antifongique prescrit dans le cas des candidoses buccales (suspension) et vaginales (comprimés gynécologiques) de façon empirique au Burkina Faso. La pression médicamenteuse de la nystatine pourrait être à l'origine de la résistance de certaines espèces du genre *Candida* isolées dans notre série et qui sont impliquées dans ces candidoses dont *C. krusei*, *C. dubliniensis* et *C. glabrata* et *Candida glabrata* (qui est souvent retrouvé au niveau des muqueuses génitales). Ceci pourrait justifier la résistance à la nystatine (prescrite de façon empirique au Burkina Faso) de nos souches de *Candida* isolées dans l'environnement hospitalier (Service de la réanimation) qui sont toutes d'origines endogènes, donc pouvant se retrouver dans

les prélèvements cliniques. Ainsi, Bamba et al en 2014 ont isolés toutes ces espèces de la flore fongique digestive des patients asymptomatiques au CHU de Bobo-Dioulasso [145].

Les souches de *C. albicans* et *G. candidum* ont été toutes sensibles aux antifongiques à l'exception d'une souche de *C. albicans* qui a donné un profil de sensibilité intermédiaire à l'amphotéricine B. Les auteurs ont rapporté la sensibilité de *Candida albicans* aux triazolés de première génération testés dans notre série (Kétoconazole, Miconazole et le Clotrimazole). Aussi, les résistances secondaires à l'AMB sont rares, décrites pour quelques souches dont *C. albicans*. [146-148].

Concernant les résultats du profil de sensibilité des dermatophytes et pseudo dermatophytes aux ATF testés, au total deux souches de pseudo dermatophytes, dont *Scytalidium hyalinum* et une souche de dermatophyte avec *Trichophyton mentagrophytes* ont été testés *in vitro* (Tableau 12). Toutes ces souches ont été sensibles à l'amphotéricine B (100%), et 100% de souches résistantes au fluconazole. La sensibilité de *Trichophyton mentagrophytes* au fluconazole a diminué, tout comme, probablement, sa sensibilité au kétoconazole et à la griséofulvine [149].

Des données du profil de sensibilité des moisissures aux antifongiques testés, les neuf espèces isolées et testées ont été **sensibles** à l'amphotéricine B (AMB), *versus* deux souches dont *A. flavus* et *A. versicolor* résistantes. La prévalence des souches sensibles isolées et testées à l'AMB a été de 81,82% *versus* 18,18% (2/11) de résistantes. Aussi, toutes les souches testées ont été résistantes au fluconazole (FLU) à l'exception du *Penicillium* sp (1/11) soit un taux de résistance de 90,90% (10/11) (Tableau 13). Des études ont montré en effet la résistance des champignons filamenteux en particulier les moisissures celles testées dans notre contexte : *Aspergillus*, le *Mucor*, *Absidia* au Fluconazole [150].

En outre, dans notre étude, toutes les deux souches de *Rhizopus* sp et l'unique souche d'*A. versicolor* testées à la nystatine ont présenté un profil de résistance soit un taux global de **27,27% (3/11)** de résistance *versus* **63,63% (7/11)** de sensibilité pour l'ensemble des 11 souches testées (Tableau 13). De façon générale, les souches

d'*Aspergillus* spp et de Zygomycètes sont résistantes aux polyènes dont la nystatine. Ce qui justifierait la même tendance notée dans notre série [150].

Tandis que *A. versicolor* a présenté un profil de résistance à tous les ATF testés (100%), la souche de *Penicillium sp* a été sensible à toutes ces mêmes molécules (100%). Ces deux souches ont été testées en sigle contrairement aux autres étudiées en duplicata. Une étude ultérieure sur un nombre important de souches permettrait de mieux justifier les tendances notées dans notre contexte.

Conclusion

Très répandues dans l'environnement hospitalier, les agents fongiques constituent aujourd'hui un problème de santé publique pour les services hébergeant les patients à haut risque (réanimation). Nous avons mené une étude transversale à visée descriptive ayant pour but d'étudier la biodiversité fongique de l'environnement de soins intensifs et leur sensibilité aux antifongiques .

Nous avons noté une prévalence globale de (88%) , ce qui témoigne d'une forte présence des agents fongiques disséminer dans la flore environnementale du service de la réanimation . Les moisissures étaient le groupe fongique le plus isolé avec 8 genres dont *Aspergillus* le plus prédominant. Dans la catégorie des cultures mixtes , *A. terreus* – *A. niger* était l'association mixte la plus enregistrée en réanimation. L'air environnemental constituait le site le plus contaminé de la réanimation. Cette air favorisant la dissémination et l'expansion des spores fongiques et participerait à la survenue des infections nosocomiales fongiques dans les services du CHUSS . Aussi *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis* étaient toutes résistantes en ATF usuels ceux qui est inquiétants en santé humaine particulièrement dans les services de soins intensifs dont le service de la réanimation .

Au regard de ces résultats , il est important d'entreprendre des mesures de lutte contre la dissémination des champignons dans l'environnement hospitalier. Ces mesures consistent au renouvellement de l'air , à la désinfection des paillasse mais également à la sensibilisation du personnel vis-à-vis de leur comportement (lavages des mains et la mobilité entre les salles) .

Recommandations

➤ Au Ministère de la Santé

- Mobiliser les ressources nécessaires à la mise en œuvre d'un programme de prévention des infections fongiques nosocomiales ,
- Elaborer un programme national de prévention des infections nosocomiales et de maîtrise de la résistance aux antifongiques .

➤ A la Direction Générale du CHUSS

- Créer et rendre fonctionnel un Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) au CHUSS ,
- Faire respecter les règles de prévention des infections fongiques au CHUSS ,
- Faire appliquer et respecter les bonnes pratiques médicales en milieu hospitalier à travers la sensibilisation du personnel vis-à-vis des comportements favorisant la survenues des infections nosocomiales d'origine fongique ,
- Faire respecter la limitation des personnes au sein du service de Réanimation .

➤ Au personnel de santé

- Respecter les règles de prévention des infections nosocomiales ,
- Appliquer et respecter les Bonnes pratiques en matière de soins et d'hygiène hospitalière .

➤ Au personnel de laboratoire du CHU du Burkina Faso

- Evaluer et étudier régulièrement les agents fongiques de l'environnement hospitalier dans le but d'une meilleure connaissance de ces champignons et de pouvoir les maîtriser en cas d'infection nosocomiale .

Perspectives

- Elargir l'étude à l'ensemble des CHU du pays ,
- Faire passer au MALDI TOF l'ensemble des isolés des différents services ,
- Séquencer les gènes résistants aux antifongiques et les agents fongiques émergents
- Isoler , repiquer et conserver l'ensemble des agents fongiques non identifiés à la microscopie ,
- Augmenter la taille de l'échantillon dans les différents services de soins intensifs .

REFERENCES

Références

1. **Aissa S.** Hygiène hospitalière et lutte contre les infections associées aux soins : Risques infectieux en milieux de soins. Hygiène 2009 ; 2 : 5 - 6 .
2. **Laure Méric.** Qualité de l'air dans les espaces de conservation : impact des moisissures sur la santé, Risques et Santé, 2011 ; p :383-389 .
3. **Diongue K, Badiane AS, Seck MC, Ndiaye M, Diallo MA, Diallo S et al.** Composition qualitative de la flore fongique de l'environnement de 07 services à risque d'infections fongiques au CHU Aristide Le Dantec (Dakar). *Journal de Mycologie Médical* 2015 ; 25 ; p : 39 - 45.
4. **Monemo P, Thia H, Zika KD, Brouh Y, Adoubry KD, Cisse A et al.** Etude microbiologique environnementale du service de Réanimation CHU de Bouake : Résultats d'une enquête préliminaire. *Journal de Mycologie Médical*, 2015 ; 14 ; p : 2
5. **Société française d'Hygiène hospitalière (SFHH)**. Surveiller et prévenir les infections liées aux soins. Hygiène, 2010 ; 18 (4) : 1-165
6. **El Jouharil FZ.** Particularisme des champignons dits « émergents » en pathologie humaine, *Journal de mycologie médicale*, 2008 ; 25 ; p : 3.
7. **Ducel G, Fabry J, Nicolle L.** Guide pratique pour la lutte contre l'infection hospitalière 2 eme Edition. WHO/BAC/79.1, 2011 ; p : 3
8. **Fabry J, Nicolle L.** Guide pratique de prévention des infections nosocomiales. Who/CDS / 2012; p: 23 .
9. **Kirkland KB.** The impact of surgical-site infections in the 1990's: attributable mortality, excess length of hospitalization and extra costs. *Infect Contr Hosp Epidemiol*, 2011; 20:725–730
10. **Horan TC.** CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 2009: a modification of CDC definition of surgical wound infections. *Am J Infect Control*. 2009; 13:606–608.

11. **McGeer C.** Definitions of infection for surveillance in long-term care facilities. *Am J Infect Control.* 2006;19: 1–7.
12. **Contet-Audonnet N.** Comment prévenir les infections nosocomiales ? *Mycologie science.* 2011 ; 4 ; p 3 – 4.
13. **Risdail P.** Epidemiologie et diagnostic biologique des dermatophytes. Facultés de Médecine de Montpellier – Nîmes . 2010 ; 5 ; p : 11 – 16.
14. **Mallarat MR, Bosseray A, Micoud M.** Infections nosocomiales. *Encyl. Med. Chr.* (Elsevier-Paris). 2007 ; p : 6.
15. **Canus C, Thomas R.** Bactéries hospitalières multi résistantes aux antibiotiques et infections nosocomiales. Lettre de l'infectiologue. 2009. XIII (6) ; p: 269-72.
16. **Waller J.** Mycologie et Pathologie Tropicale (ULP). 2007, 4 ; 62 – 63 p.
17. **Astagneau P.** Epidémiologie des infections nosocomiales. *Revue du Praticien.* 2011; 48 : 1525- 29.
18. **Joly-Guillou M.** Le point sur les infections nosocomiales. *Presse Médicale* 2009. 5 : 47 - 50.
19. **Joual A, Aghzadi R, Zerouali N.** L'infection nosocomiale en milieu chirurgical. *Maghreb Médical* 2005. 259 : 19 – 23 .
20. **Gouin F, Garrigues B.** Infections nosocomiales comme indicateur de la qualité des soins en réanimation. *Presse Médicale*, 2014 ; 14 : 669 – 73.
21. **Phillipe Reinet.** Infections nosocomiales. *Revue, Développement et Sante*, 2010. 199 : 15-17 .
22. **Association Française des Enseignants de Parasitologie -Mycologie. Mycologie Médicale.** Parasitologie Mycologie : **AFEP, ANOFEL.** 2002, p : 299-378.
23. **Association Française des professeurs de parasitologie. Parasitologie – Mycologie.** Paris : 2001; p : 231-247 ; 260-268.

24. **Bioforma.** Cahier de formation N°25. Les moisissures d'intérêt médical .2002-9;p : 12.
25. **Delahaye A.** Généralités sur les champignons microscopiques. *Ed Mycology Online.* 2014 ; p : 3 - 4.
26. **Chabasse D, Bassile AM, Contet – Andenneau N, Bouchara JP.** Moisissures, dermatophytes et levures : Du prélèvement au diagnostic. *Ed Biomerieux.* 2008 ; p : 8 – 9.
27. **Bourrée P.** Dictionnaire de Parasitologie. Ed, Ellipses .2007 ; p : 39.
28. **Badillet G.** Atlas clinique et biologique. 4° éd Dermatophyties et Dermatophytes. Paris, Ed. varia .2008 ; p : 31-57.
29. **Zagnoli A, Chevalier B, Sassolas B.** Dermatophyties et dermatophytes. *Encycl. Méd.Chir.* (Elsevier SAS, Paris), Maladies Infectieuses. 2009 ; p : 1-14.
30. **Dufreshe P.** Identification des champignons d'importance médicale. Laboratoire de santé Publique Québec. 2014 ; p : 23.
31. **Chabasse D, Contet – Andenneau N .** Dermatophytes et Moisissures d'intérêt médical : Dossier 1 dermatophytes. Ed Masson. 2007 ; p : 1- 2.
- 32.—**Claire Lacroix, Guillaume Kac, Louis Dubertret, Patrice Morel, et al.,** Scytalidiosis in Paris, France, *Journal of the American Academy of Dermatology* 48 (6): 854-855.
33. **Pihet M, Dubois D, Leclech C, Croue A.** Phaeohyphomycose cutanée à *Scytalidium dimidiatum* chez une transplantée rénale. *Journal de Mycologie Médicale.* 2007 ; 17 (2): 109-110.
34. **Contet-Audonneau N, Schmutz J.L, Basile AM , Bièvre C .** A new agent of onychomycosis in the elderly: *Onychocola canadensis*, *European Journal of Dermatology.* 2009 ; 7 : 115-7.

35. **Veron B.** Identification des champignons. *Mycologie Médicale*, Paris : Flammarion. 2005 ; p : 1-18.
36. Les moisissures d'intérêt médical, **Cahier de formation en biologie médicale**. 2002 : 18, 49, 51, 48-99, 86-87, 100-101, 122-123
37. **Brigitte Veron.** Levures. *Mycologie Médicale*. Paris : Flammarion. 2011 ; p : 1-
38. **Ellis D.** *Geotrichum candidum*. Ed, *Mycology Online*. 2016 ; p : 1-3.
39. **Bioforma.** Cahier de formation N°31. Les dermatophytes. 2004 ; p : 52 – 54.
40. **Duvalier AM.** Mycologie : Généralités sur les champignons et les mycoses. Ed Biomerieux. 2010 ; p : 2 – 4.
41. **Sawadogo M.,** Aspects épidémiologiques des mycoses cutanéophanéariennes chez les PVVIH au service de médecine interne du CHU-YO. Mémoire de Master de Parasitologie et mycologie médicale. Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. 2013 ; p : 117.
42. **Desoubeaux G, François N, Poulain D, Christina C.** Spectrométrie de masse MALDI-TOF, un nouvel outil que la mycologie médicale ne peut contourner. *J Mycol Méd . (2010) , 20:263–267*
43. **Lortholary O, Tod M, Dupont B .** Antifongiques. *Encycl. Med Chir* (Elseviren, Paris) Maladies infectieuses . 2008 ; p : 21 .
44. **Petit Jean O, Jacolot A.** Todd M Pharmacologie des antifongiques azolés systémiques. *Med. Mal infect* . 2012 ; 25 : 14 – 26
45. **Denning D, Delfavero A, Gluckman E, Norfolk D, Ruhnke M .** A novel wide spectrum triazole derivate for the treatment of fungal infections : clinical efficacy in acute invasive aspergillosis In : Abstracts of the 35th interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy . 2007 (80) : p : 1 – 3 .

46. **Goak C , Baradel L B** . Unpadate of its pharmacodynamic and pharmacocinetics properties and therapeutic use in major superficial . *Ed , Mycology Science* . 2013 ; p : 2 – 3 .
47. **Le Moing V, Lortholary O, Casassus P, Guillerin L, Dupont B** . Traitement des aspergilloses par l'itraconazol . *Journal of Medical Mycology* . 2010 ; p :3 - 4 .
48. **Veron B**. Antifongigramme par la méthode de diffusion en milieu gélose .*Journal de mycologie médical* . 2012 ; p : 13 .
49. **Paugam A** . Le point sur l'antifongigramme , Trends in antifungal susceptibility test methods . *Médical Science* . 2010 ; p : 5 .
50. **Imed C , Nabiha B , Asma B , Behja T , Mansour N , Radihia H et al** . Incidence des infections associées aux dispositifs médicaux dans un service de réanimation CHU F . Hached de Sousse (Tunisie) . *Revue de Sante publique* . 2015, vol 27 ; p : 69-78 .
51. **Paugam A, Lassal H, Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J**. Évaluation d'une nouvelle technique d'antifongigramme : le Etest®. Étude de la sensibilité au fluconazole de souches de *Candida* référencées. *J Mycol Med* 1995;5:163-4. 6.
52. **Espinel-Ingroff A, Barchiesi F, Cuenca-Estrella M et al**. International and multicenter comparison of EUCAST and CLSI M27-A2 broth microdilution methods for testing susceptibilities of *Candida spp.* to fluconazole, itraconazole, posaconazole, and voriconazole. *J Clin Microbiol* 2005;43:3884-9. 3.
53. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing: approved standard, 3rd ed; M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA 2008
54. **Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Jones RN**. Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal plate for antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posaconazole, and ravuconazole. *J Clin Microbiol* 2004; 42:4577-80.
55. **Amazian K , Rosselo A , Castilla A , Sekkat S , Fabry J , Terzaki S et al** . Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la régions

méditerranéenne . *Revue de Sante de la Méditerranée Orientale* . 2016 (16) ; p ; 1070-1071 .

56. **Mateus C** .Infections fongiques dues aux aspergillus : études de 4 cas à Hôpital Georges Pompidou au Service de réanimation . *Journal de mycologie médical* . 2016 ; p : 1-2 .

57. **Arnould JB et Le Floch R** . Infections des brûlés , revue .*Journal of Mediterranean Council for burns and fire Disasters* . 2015 , 28 (1) ; p: 21-28 .

58. **Gilles Hilbert** . Infections fongiques invasives en réanimation et place de l'anidulafungine dans l'arsenal thérapeutique à Hôpital Pellegrin Bordeaux. *Science Direct* . 2010 ; p : 280-284 .

59. **Cangneux J P , Bousseau A , Cornillet A , Kauffman** – La croix .Maitrise du risque fongique environnemental dans les établissements de sante de France . *Journal de mycologie médical* . 2006 ; 26 : 204- 211 .

60. **Institut national de statistique et de la démographie (INSD)** . Résultats définitifs du recensement général de la population et de l'habitat . 2012 Accessible sur : [http : // www.Depliant](http://www.Depliant) – Résultats – Définitifs – du RGPH – 2012 .

61. **Ortiz G, Yagüe G, Segovia M_ et al.** A study of air microbe levels in different areas of a hospital. *Cur. Microbiol.* 2009; 59(1):53-8.

62. **Lugauskas A, Krikštonis A, Šeškauskas V.** Species of Conditionally Pathogenic Micromycetes in the Air of Dwellings and Occupational Premises. Indoor+Built Environment. 2003, 12(3): 167-177

63. **Chabasse D, Guiguen C, Contet-Audonneau N.** *Mycologie médicale*. Collection abrégé 1999.

64. **Brucker G.** Infections nosocomiales et environnements hospitalier. *Ed Flammarion. Médecine-sciences. Paris*, 1998.

65. **Afshari MA, Riazipour M, Kachuei R, Teimoori M, Einollahi B.** A qualitative and quantitative study monitoring airborne fungal flora in the kidney transplant unit. *Nephro-Urology Monthly*; 2013; 5 (2): pp. 736-740.
66. **Shams-Ghahfarokhi M, Aghaei-Gharehbolagh S, Aslani N, Razzaghi-Abyaneh M.** Investigation on distribution of airborne fungi in outdoor environment in Tehran, Iran. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. 2014; 12 (1):. 54-61.
67. **Flores LH & Onofre SB.** Determinação da presença de fungos anemófilos e leveduras em unidade de saúde da cidade de Francisco Beltrão – PR. *Revista de Saúde e Biologia*. 2010; 5 (2) : 22-26.
68. **Souza Júnior UP & Vieir KVM.** Microbiota fúngica anemófila de hospitais da rede pública da cidade de Campina Grande, PB. *Revista de Biologia e Farmácia*. 2010; 4 (1) :102-116.
69. **Melo LLS, Lima AMC, Damasceno CAV, Vieira ALP.** Flora fúngica no ambiente da Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica e Neonatal em hospital terciário. *Revista Paulista de Pediatria*. 2009; 7 (3) : 303-308.
70. **Lobato RC, Vargas VS & Silveira ES.** Sazonalidade e prevalência de fungos anemófilos em ambiente hospitalar no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba*. 2009 ;11 (2) : 21-28.
71. **Carmo ES, Belém LF, Catão RM, Lima EO, Silveira IL, SOARES LHM.** Microbiota fúngica presente em diversos setores de um hospital público em Campina Grande – PB. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2007; 39 (3) : 213-216
72. **Panagopoulou P, Filioti J, Petrikkos G, Giakouppi P, Anatoliotaki M, Farmaki E et al.** Environmental surveillance of filamentous fungi in three tertiary care hospitals in Greece. *The Journal of Hospital Infection*. 2002, 52 (3) : 185-191.
73. **Gonçalves CL, Mota FV, G. F. Ferreira GF, Mendes JF, E. C. Pereira EC, Freitas CH, Vieira JN, J. P. Villarreal JP and Nascente. PS.** Airborne fungi in an intensive care unit. *Braz. J. Biol.* 2014 ; p : 2-5 .

74. **Garrett, M. H., Rayment, P. R., Hooper, M. A., Abramson, M. J., and Hooper, B. M.** (1998). Indoor airborne fungal spores, house dampness and associations with environmental factors and respiratory health in children. *Clin Exp Allergy*. 28 (4), 459-467.
75. **Husman, T.** (1996). Health effects of indoor-air microorganisms. *Scand.J Work Environ Health*. 22 (1), 5-13.
76. **Vonberg R-P, Gastmeier P:** Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. *J Hosp Infect* 2006, 63:246–254.
77. **Ekhaïse FO, Ighosewe OU:** Hospital indoor airborne microflora in private and government owned hospitals in Benin city, Nigeria. *World J Med Sci* 2008, 3:19–23.
78. **Sautour M, Dalle F, Olivieri C.** A prospective survey of air and surface fungal contamination in a medical mycology laboratory at a tertiary care university hospital. *Am. J. Infect. Control*. 2009 ; 37(3):189-94.
79. **Lacaz, CS, Porto E, Martins JEC, Vaccari EMH, Melo NT.** 2002. *Tratado de micologia médica*. 9th ed. São Paulo: Sarvier. 1104 p.
80. **Anaïssie, E. J., Stratton, S. L., Dignani, M. C., Summerbell, R. C., Rex, J. H., Monson, T. P., Spencer, T., Kasai, M., Francesconi, A., and Walsh, T. J.** (2002). Pathogenic *Aspergillus* species recovered from a hospital water system: a 3-year prospective study. *Clin.Infect.Dis*. 34 (6), 780-789
81. **Munoz, P., Guinea, J., Pelaez, T., Duran, C., Blanco, J. L., and Bouza, E.** Nosocomial invasive aspergillosis in a heart transplant patient acquired during a break in the HEPA air filtration system. *Transpl. Infect. Dis*. 2004; 6 (1), 50-54.
82. Centre de recherche sur la conservation des documents graphiques. (2007). Moisissures et biens culturels. Ministère de la culture et de la Communication, France
83. **Raper, K. B. and Fennell, D. I.** (1965). *The Genus Aspergillus*. Baltimore, Md, The Williams & Wilkins Co.

84. **Bart-Delabesse E and Latgé, JP.** (2003). Ecology and genetics diversity of *Aspergillus fumigatus*. Domer JE & Kobayashi GS (eds). In *The Mycota*. [XII. Human Fungal Pathogens]. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag.
85. **Storey, E, Dangman, K H, Schenck, P, DeBernardo, R L, Yang, C S, Bracker, A, and Hodgson, M J.** (2004). Guidance for clinicians on the recognition and management of health effects related to mold exposure and moisture indoors. -58 p. Farmington, Center for Indoor Environment and Health, University of Connecticut Health Center.
86. **Segvic, Klaric M., Kosalec, I., Mastelic, J., Pieckova, E., and Pepeljnak, S.** (2007). Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Lett. Appl Microbiol.* 44[1], 36-42.
87. **Price, D. L., Simmons, R. B., Crow, S. A., Jr., and Ahearn, D. G.** (2005). Mold colonization during use of preservative-treated and untreated air filters, including HEPA filters from hospitals and commercial locations over an 8-year period (1996-2003). *J Ind. Microbiol Biotechnol.* 32[7], 319-321.
88. **Chhabra, A., Handa, K. K., Chakrabarti, A., Mann, S. B., and Panda, N.** (1996). Allergic fungal sinusitis: clinicopathological characteristics. *Mycoses.* 39 (11-12), 437-441.
89. **Sinegre M.** Le rapport sur la stérilisation et désinfection des dispositifs médicaux, *Technique hospitalière*, 2001; 652 : 34-44.
90. **Menezes, E. A., Trindade, E. C., Costa, M. M., Freire, C. C., Cavalcante, Mde S., and Cunha, F. A.** (2004). Airborne fungi isolated from Fortaleza city, State of Ceara, Brazil. *Rev Inst. Med Trop Sao Paulo.* 46 (3), 133-137
91. **Colakoglu, G.** (2003). Airborne fungal spores at the Belgrad forest near the city of Istanbul (Turkey) in the year 2001 and their relation to allergic diseases. *J Basic. Microbiol.* 43 (5), 376-384.

92. **Randhawa, P. S., Nouraei, S. R., Howard, D. J., Sandhu, G. S., and Petrou, M. A.** (2008). *Penicillium* species as a rare isolate in tracheal granulation tissue: a case series. *J.Med.Case. Reports.* 2:84., 84.
93. **Krajewska-Kulak, E., Lukaszuk, C., Tsokantaridis, Ch, Hatzopoulou, A., Theodosopoyloy, E., Hatzmanasi, D., and Kosmois, D.** (2007). Indoor air studies of fungi contamination at the Neonatal Department and Intensive Care Unit an Palliative Care in Kavala Hospital in Greece. *Adv Med Sci.* 52 Suppl 1:11-4., 11-14.
94. **Chakrabarti, A., Nayak, N., Kumar, P. S., Talwar, P., Chari, P. S., and Panigrahi, D.** (1992). Surveillance of nosocomial fungal infections in a burn care unit. *Infection.* 20 (3), 132-135.
95. **Araujo R, Cabral JP:** Fungal air quality in medical protected environments. In *Air Quality*, Chapter 17. Edited by Kumar A. Croatia: InTech Open Access Publisher; 2010:357–382.
96. **Fox, B. C., Chamberlin, L., Kulich, P., Rae, E. J., and Webster, L. R.** (1990). Heavy contamination of operating room air by *Penicillium* species: identification of the source and attempts at decontamination. *Am J Infect Control.* 18 (5), 300-306
97. **McLellan, E. and Fenton, P.** (2007). The problem with *Penicillium*. *J Hosp Infect.* 66[1], 87-88.
98. **Gupta, A. K., Baran, R., and Summerbell, R. C.** (2000). *Fusarium* infections of the skin. *Curr Opin Infect.Dis.* 13 (2), 121-128.
99. **Land, C. J., Hult, K., Fuchs, R., Hagelberg, S., and Lundstrom, H.** (1987). Tremorgenic mycotoxins from *Aspergillus fumigatus* as a possible occupational health problem in sawmills. *Appl. Environ Microbiol.* 53[4], 787-790
100. **Krysinska-Traczyk, E., Perkowski, J., and Dutkiewicz, J.** (2007). Levels of fungi and mycotoxins in the samples of grain and grain dust collected from five various cereal crops in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 14 (1), 159-167.

101. **Hargreaves, M., Parappukkaran, S., Morawska, L., Hitchins, J., He, C., and Gilbert, D.** (2003). A pilot investigation into associations between indoor airborne fungal and non-biological particle concentrations in residential houses in Brisbane, Australia. *Sci Total Environ.* 312 (1-3), 89-101.
102. **Basilico, Mde L., Chiericatti, C., Aringoli, E. E., Althaus, R. L., and Basilico, J. C.** (2007). Influence of environmental factors on airborne fungi in houses of Santa Fe City, Argentina. *Sci Total Environ.* 376[1-3], 143-150.
103. **Aydogdu, H. and Asan, A.** (2008). Airborne fungi in child day care centers in Edirne City, Turkey. *Environ Monit.Assess.*
104. **Anane S, Kaouech E , S. Belhadj S, Ben Othman T, Bejaoui M, Houman H, Mellouli F, Ben Chaabane T, Kallel K, Chaker E.** Identification de *Candida dubliniensis* dans la région de Tunis: *Journal de Mycologie Médicale.* 2009 ; 19 (2) : 116-121
105. **Seebacher, C., Bouchara, J. P., & Mignon, B.** (2008). Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. *Mycopathologia*, 166(5-6), 335-352.
106. **Csucos, M., & Csucos, C.** (1999). Microbiological obseration of water and wastewater. United States: CRC Press.
107. **Anderson, J. H.** (1979). *In vitro* survival of human pathogenic fungi in seawater. *Sabouraudia*, 17(1), 1-12.
108. **Asmaa Sirbou.** Aérocontamination fongique au bloc opératoire de l'Hmimv-Rabat. Thèse en Pharmacie N°: 83/2011
109. **Pfaller MA.** Nosocomial candidiasis: emerging, species, reservoir and modes of transmission. *Clinical Infectious Diseases.* 1996; 22 (2) : 89-94.
110. **Kett DH, Azoulay E, Echeverria PM, Vincent J-L,** Extended Prevalence of Infection in ICU Study (EPIC II) Group of Investigators. *Candida* bloodstream infections in intensive care units: analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study. *Crit Care Med* 2011; 4: 665–70.

111. **Bougnoux M-E, Kac G, Aegerter P, d' Enfert C, Fagon J-Y**, CandiRea Study Group. Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome. *Intensive Care Med* 2008; 2: 292–9.
112. **Orozco AS, Higginbotham LM, Scott G. Filler SG**. Mechanism of Fluconazole Resistance in *Candida krusei* antimicrobial agents and chemotherapy. 1998, 42 (10): 2645–2649
113. **Chanock, S. J., and Walsh, T. J.** (2001). Fusariosis associated with pathogenic fusarium species colonization of a hospital water system: a new paradigm for the epidemiology of opportunistic mold infections. *Clin Infect.Dis.* 33[11], 1871-1878.
114. **Ryan KJ**. *Candida, Aspergillus, and Other Opportunistic Fungi*. In Ryan KJ and Ray CG. (Ed.), *Sherris Medical Microbiology*. USA: 2004; 4th ed., pp. 659-668.
115. **Lortholary O, Gangneux JP, Sitbon K, Lebeau B, de Monbrison F, Le Strat Y, Coignard B, Dromer F, Bretagne S**; French Mycosis Study Group. Epidemiological trends in invasive aspergillosis in France: the SAIF network (2005-2007). *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17 (12):1882-9.
116. **Verweij, PE & Brandt ME**. *Aspergillus, Fusarium and other opportunistic moniliaceous fungi*. In PR. 2007.Murray (Ed.), (9th ed., pp. 1802-1838). Washington DC : ASM Press
- 117.**Garcia-Vidal C, Upton A, Kirby KA, Marr KA**. Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation. *Clin Infect Dis.* 2008;47 (8):1041-50.
118. **Hocquette A, Grondin M, Bertout S et Mallie M**. Les champignons des genres *Acremonium, Beauveria, Chrysosporium, Fusarium, Onychocola, Paecilomyces, Penicillium, Scedosporium* et *Scopulariopsis* responsables de hyalohyphomycoses, *Journal de Mycologie Médicale*. 2005 ; 15 (3): 141.

119. **Wu JS, Chen SN, Hwang JF, Lin CJ.** Endogenous mycotic endophthalmitis in an immunocompetent postpartum patient. *Retinal Cases & Brief Reports*, 2011, 5 (1): 10-13.
120. **Mohammadi H, Sadeghi S, ZANDI S.** Central Nervous System Aspergilloma in an immunocompetent patient: a case Report. *Iranian Journal of Public Health*. 2015; 44, (6): 869-872.
121. **Bokhari R, Baeesa S, Al-Maghrabi J, Madani T.** Isolated cerebral aspergillosis in immunocompetent patients. *World Neurosurgery*. 2014; 82 (1-2): e325-e333.
122. **Rahman FU, Irfan M, Fasih N, Jabeen K, Sharif H.** Pulmonary scedosporiosis mimicking aspergilloma in an immunocompetent host: a case report and review of the literature. *Infection*. 2016; 44 (1) :127-132.
123. **Koutsounas I & Pylaris E.** Isolated enteric aspergillosis in a non-severely immunocompromised patient. Case report and literature review. *Arab Journal of Gastroenterology*. 2015;16 (2): 72-75.
124. **Zahid MF& Arooqi J.** *Aspergillus fumigatus* spinal abscess in an immunocompetent child. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan*, 2015; 25 (7) : 555-556.
125. **Borkar SA, Sharma MS, Rajpal G, Jain M, Xess I, Sharma BS.** Brain abscess caused by *Cladophialophora bantiana* in an immunocompetent host : need for a novel cost-effective antifungal agent. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2008; 26 (3) : 271-274.
126. **Beck AF, Huang B, Kercksmar CM, Guilbert TW. McLinden DJ, LierL MB et al.** Allergen sensitization profiles in a population-based cohort of children hospitalized for asthma. *Annals of the American Thoracic Society*. 2015; 2 (3): 376-384.
127. **Libbrecht C, Goutagny MP, Bacchetta J, Ploton C, Bienvenu AL, Bleyzac N et al.** Impact of a change in protected environment on the occurrence of severe bacterial

and fungal infections in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *European Journal of Haematology*. 2015; 18 (10), pp. 70-77

128. **Guppy KH, Thomas C, Thomas K, Anderson D.** Cerebral fungal infections in the immunocompromised host: a literature review and a new pathogen – *Chaetomium atrobrunneum*: case report. *Neurosurgery*. 1998; 43 (6): 1463-1469

129. **Souza JM, Sproesser Junior AJ, Felippu Neto, A, Fuks FB, Oliveira CAC.** Zigomicose rino facial: relato de caso. *Einstein*, 2014; 12 (3): 347-350.

130. **Severo CB, Guazzelli LS, Severo LC.** Chapter 7: zygomycosis. *Journal Brasileiro de Pneumologia*. 2010; 36 (1) :134-141.

131. **Prabhu RM & PATEL R.** 2004. Mucormycosis and entomophthoromycosis: a review of the clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 10, no. 7, suppl. 1, pp. 31-47.

132. **Mezzari A, Perin C, Santos Júnior, SA, Bernd LAG, Gesu G.** Os fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2003; 49 (3) : 270-273.

134. **Vesper SJ, Haugland RA, Rogers ME, Neely AN.** Opportunistic *Aspergillus* pathogens measured in home and hospital tap water by quantitative PCR (QPCR). *Journal of Water and Health*. 2007; 5 (3): 427-431.

135. **Moretti ML.** A importância crescente das infecções fúngicas. *Revista Panamericana de Infectologia*. 2007, 9:8-9.

136. **Pfaller MA, Jones RN, Doern GV et al.** Bloodstream infections due to *Candida* species : SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 ; 44 : 747-51.

137. **Dvorak, J., Hubalek, Z., & Otcenasek, M.** (1968). Survival of dermatophytes in human skin scales. *Archives of Dermatology*, 98(5), 540-542.

138. **Quenot J-P, Binquet C, Kara F, Martinet O, Ganster F, Navellou J-C, et al.** The epidemiology of septic shock in French intensive care units: the prospective multicenter cohort EPISS study. *Crit Care* 2013; 2: R65.
139. **Zaoutis TE, Argon J, Chu J, Berlin JA, Walsh TJ, Feudtner C.** The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. *Clin Infect Dis* 2005; 9: 1232–9.
140. **Marr KA, White TC.** Development of fluconazole resistance in *Candida albicans* causing disseminated infection in a patient undergoing marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 1997 ; 25 : 908-
141. **Millon L, Manteaux A, Reboux G et al.** Fluconazole-resistant recurrent oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive patients : persistence of *Candida albicans* strains with the same genotype. *J Clin Microbiol* 1994 ; 32 : 1115-8.
142. **Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA.** Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995 ; 39 : 1-8.
143. **Müller FMC, Weig M, Peter J, Walsh TJ.** Azole cross-resistance to ketoconazole, itraconazole and voriconazole in clinical *Candida albicans* isolates from HIV-infected children with oropharyngeal candidosis. *J Antimicrob Chemother* 2000 ; 46 : 323-42.
144. **Fisher M A, Shen S-H, Haddad J, Tarry W F.** Comparison of *in vivo* activity of fluconazole with that of amphotericin B against *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, and *Candida krusei*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989; 33:1443–1446.
145. **Bamba Sanata, Ouédraogo AS Sangaré I, Zida A, Cissé M Karou D. S, Simporé J, Guiguemdé T. R, Hennequin C.** **Digestive fungal flora in asymptomatic subjects in Bobo Dioulasso, Burkina Faso.** *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014; 4(1):930-33.
146. **Sullivan D, Coleman D.** *Candida dubliniensis* : characteristics and identification. *J Clin Microbiol* 1998 ; 36 : 329-34.

147. **Mirhendi H, Makimura K, Zomorodian K, Maeda N, Ohshima T, Yamaguchi H.** Differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* using a single-enzyme PCR-RFLP method. *Jpn J Infect Dis* 2005 ; 58 : 235-7.
148. **Quindos G, Carrillo-Munoz AJ, Arevalo MP, et al.** *In vitro* susceptibility of *Candida dubliniensis* to current and new antifungal agents. *Chemotherapy* 2000 ; 46 : 395-401.
149. **Barros, M. E., & Hamdan, J. S.** (2005). Determination of susceptibility/resistance to antifungal drugs of *Trichophyton mentagrophytes* isolates by a macrodilution method. *Canadian Journal of Microbiology*, 51(11), 983-987. doi:10.1139/w05-100.
150. **Masiá Canuto M, Gutiérrez Roderio F.** Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. *Lancet Infect Dis.* 2002;2(9):550-63.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Figure des milieux chromogéniques

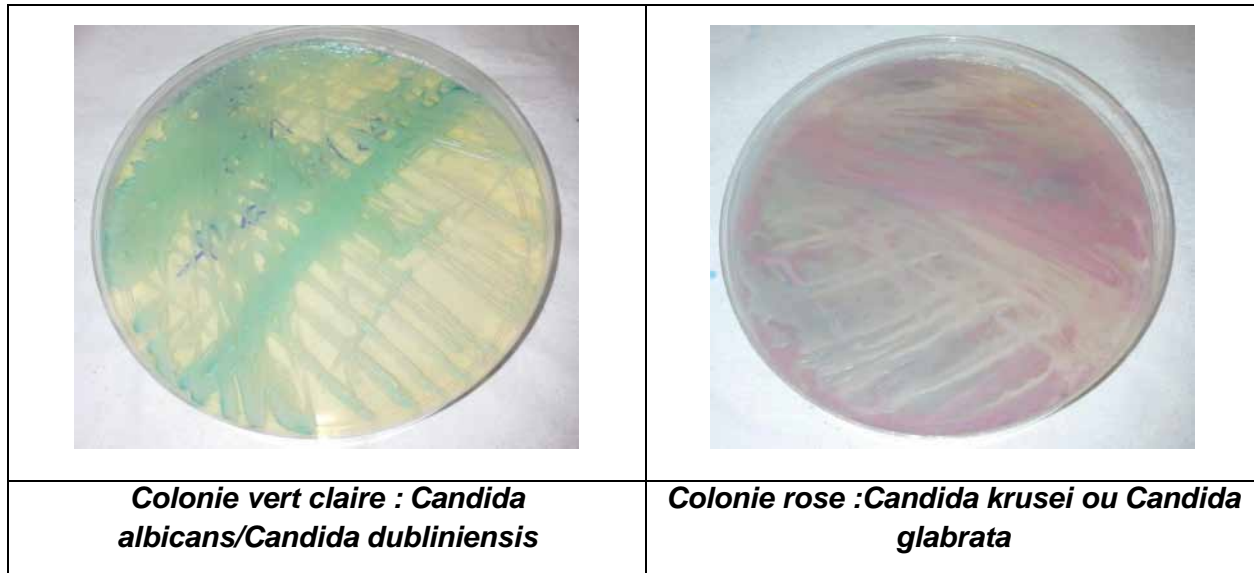


Figure 25: Résultats des milieux chromogéniques Culture sur milieu chromagar BD,CHU de Bobo-Dioulasso

Annexe 2: Figure du réactif Bichro-Dubli Fumouze et de la réaction d'agglutination

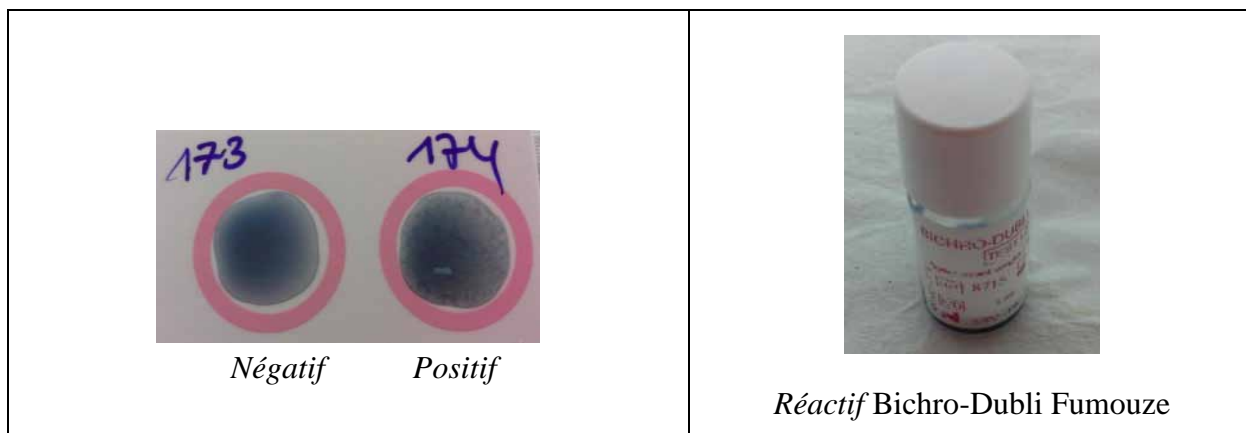


Figure 26: Réaction d'agglutination de *Candida albicans*/ *Candida dubliniensis* et Réactif Bichro-Dubli Fumouze ,CHU de Bobo-Dioulasso

Annexe 3: Figure du réactif Color FUMOUZE krusei et de la réaction d'agglutination

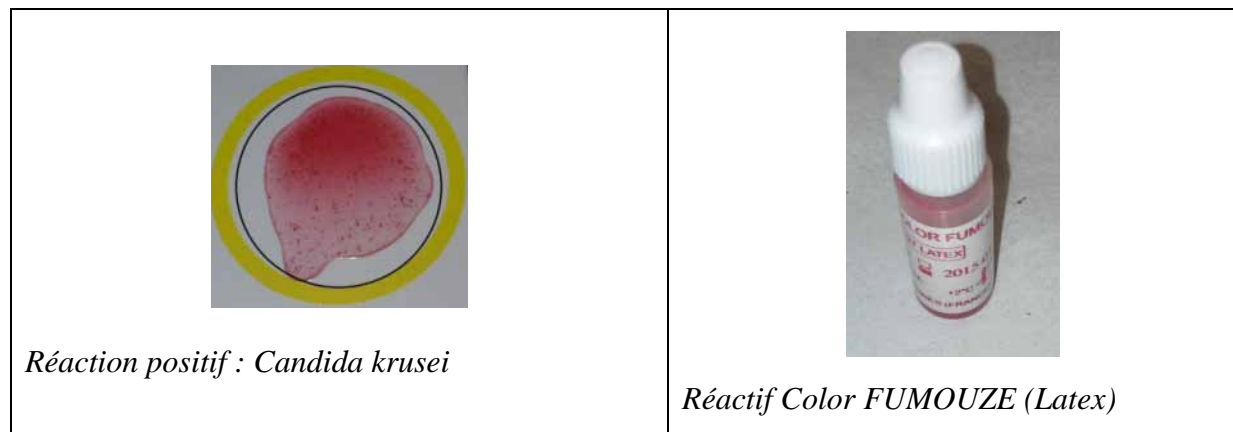


Figure 27: Réaction d'agglutination de *Candida krusei* et Réactif Color FUMOUZE Latex , CHU de Bobo-Dioulasso

Annexe 4 : Tableau de l'interprétation des résultats du test d'identification de *C. glabrata*

Table XIV: Interprétation des résultats du test d'identification de *C. glabrata*

| Résultats | | | Conclusion |
|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|---|
| Cupule T (Tréhalose) | Cupule M (Maltose) | Cupule B (Milieu de base) | |
| Positif | Négatif | Négatif | <i>C. glabrata</i> |
| Négatif | Négatif | Négatif | Levure non <i>C. glabrata</i> . Poursuivre l'identification |
| Positif | Positif | Négatif | Levure non <i>C. glabrata</i> . Poursuivre l'identification |
| Négatif | Positif | Négatif | Levure non <i>C. glabrata</i> . Poursuivre l'identification |
| Positif | Positif | Positif | Non interprétable. Recommencer les tests en prélevant avec précaution les colonies de levures sans prélever de gélose |

Annexe 5 : Figure des résultats du test d'identification de *C. glabrata*

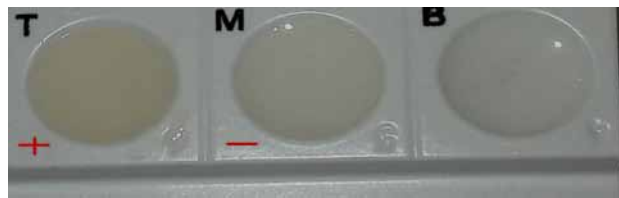


Figure 28: **Réaction positif pour le test de *Candida glabrata***
(CHU de Bobo-Dioulasso)

Annexe 6 : Figure du réactif Color FUMOUE, GLABRATA RTT FUMOUE et de la réaction d'agglutination

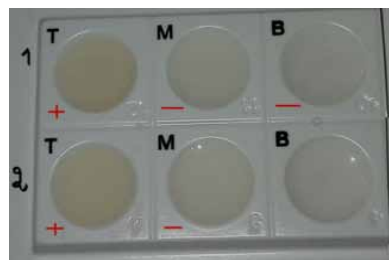


Figure 29: **Réaction positif pour le test de *Candida glabrata***
(CHU de Bobo-Dioulasso)

Cupule T : réaction positif, coloration orangée

Cupule M : Réaction négatif

Cupule B : Réaction négatif

Annexe 7 : Figure des résultats ATF avec les bandelettes d'E-test et avec les disques d'antifongiques

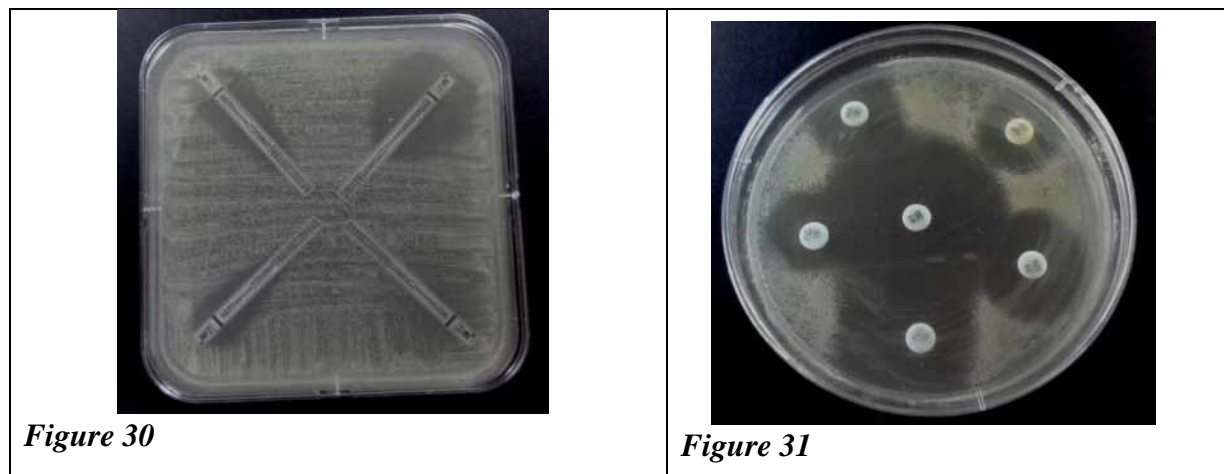


Figure 30 : Résultats ATF avec les bandelettes d'E-test d'antifongiques ,CHU de Bobo-Dioulasso

Figure 31: Résultats ATF avec les disques d'antifongiques ,CHU de Bobo-Dioulasso

Annexe 8 : Figure de l'aspect microscopique des tubes germinatifs d'une colonie de Candida albicans

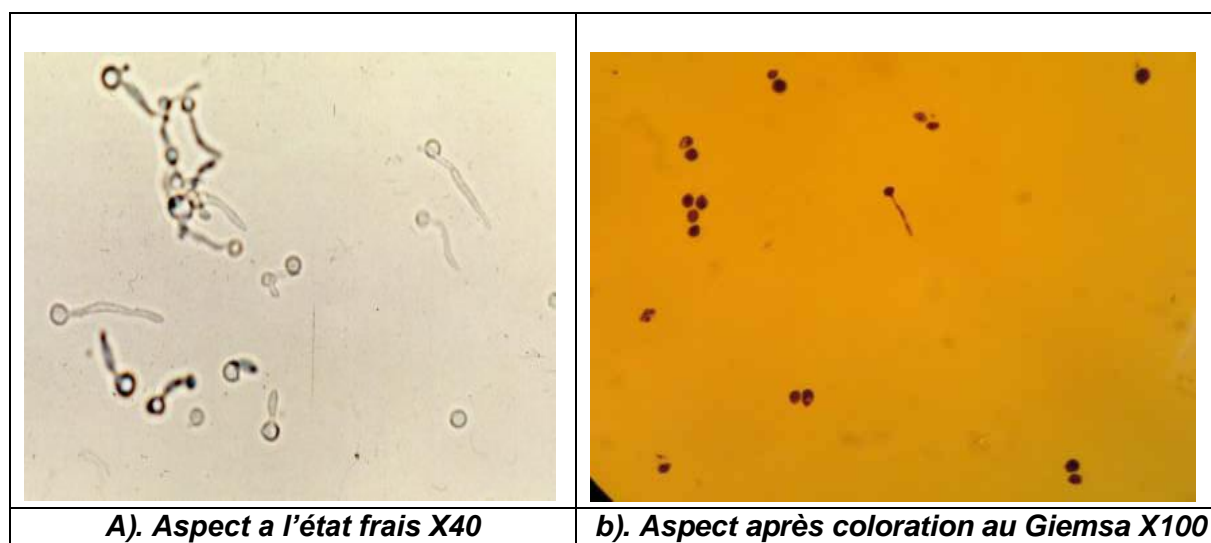


Figure 32: Résultats de l'aspect microscopique des tubes germinatifs d'une colonie de Candida albicans, CHU de Bobo-Dioulasso

Annexe 9: *Figure de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture de Rhizopus sp*

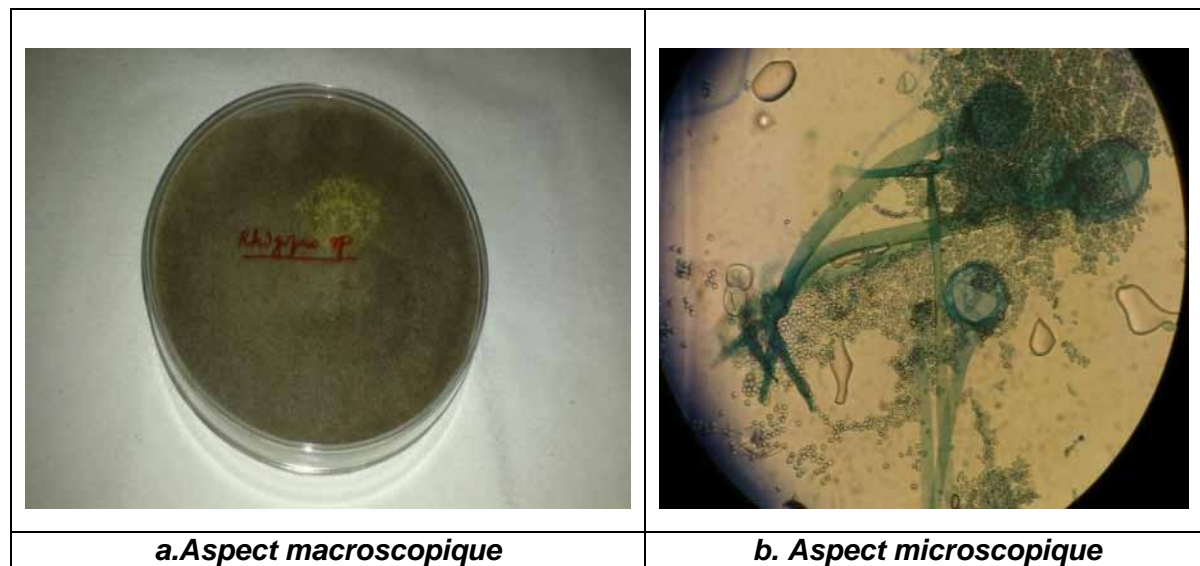


Figure 33: Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture de Rhizopus sp (grossissement X40)(CHU de Bobo-Dioulasso)

Annexe 10: *Figure de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture de Scytalidium hyalinum*

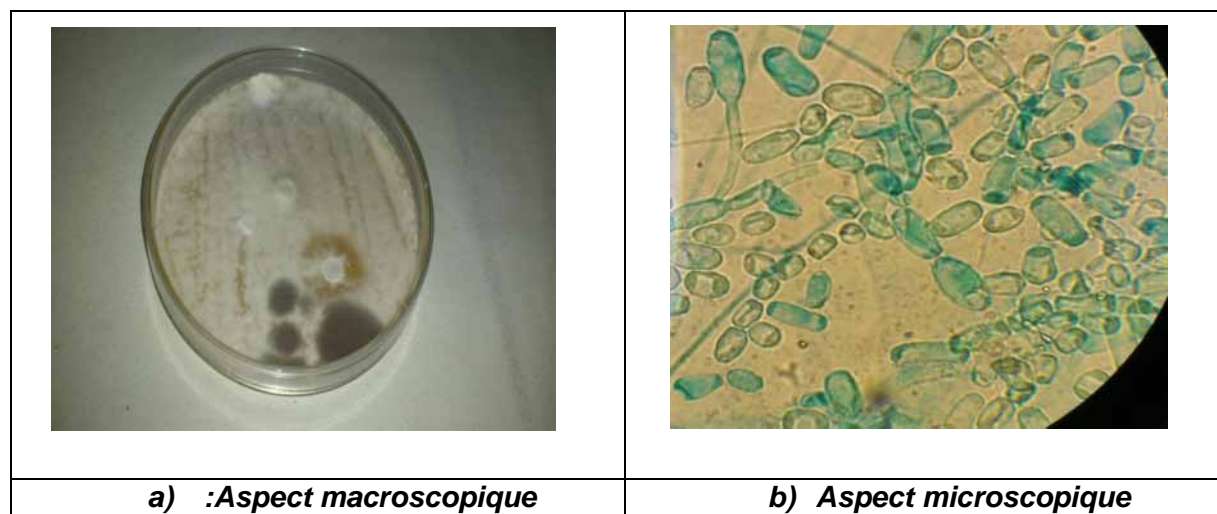


Figure 34 : Résultats de l'aspect microscopique et macroscopique des colonies Culture de Scytalidium hyalinum (grossissement X100) CHU de Bobo-Dioulasso

Annexe 11 : Fiche d'enquête

Date de collecte de donnée

Service de provenance Réanimation ☐

Type d'échantillon collecté Ecouvillonnage ☐ Boite de pétri contenant (MSC) ☐

Résultat de l'examen mycologique :

L'apparence et la disposition des filaments

Fin ☐ Cloisonné ☐ Hyalin ☐ Mélanisé ☐

Aspect de la colonie

Laineuse ☐ Duveteuse ☐ Poudreuse ☐ Glabre ☐

Couleur de la colonie

Surface : Brune ☐ Grise ☐ Noire ☐

Reverse : Blanc ☐ Rouge ☐ Jaune ☐ Autres ☐

Examen microscopique

Type de filament : Septé ☐ Non septé ☐

Couleur de filament : Hyaline ☐ Mélanisée ☐

Cellule conidiogène : Phialide ☐ Annélide ☐

Conidiophore : absent ☐ Simple ☐ Ramifié ☐

Conidie : uni cellulaire ☐ Pluricellulaire ☐ solitaire ☐ autres ☐

Sporangiospore : Présence ☐ Absence ☐

Arthroconidie : Présence ☐ Absence ☐

Type d'agent fongique

Moississure : genre espèce Levure : genre espèce

Autres : genre espèce

Résultat de la culture Positif ☐ Négatif ☐

Résultat de antifongigramme Sensible ☐ intermédiaire ☐ résistant ☐