

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire :

Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique



Mémoire Présenté

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option: Biochimie appliquée

Par

M^r HAMMAD Ilyas

Thème

**Recherche d'infections nosocomiales d'origine
fongique sur cathéters vasculaires périphériques au
service de cardiologie du CHU de Tlemcen**

Soutenu le : Juillet 2014

Devant le jury :

Président : Pr Boucherit Kebir

Centre Universitaire de Naama

Examineur : Dr Rahmoun Mohammed Nadjib

Université de Tlemcen

Promoteur : Pr Boucherit-Otmani Zahia

Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2013 - 2014

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mes grands parents.

A mes parents qui ont su croire en moi et me soutenir durant ces longues années d'études.

Je vous dois tout. Vous rendre fiers aujourd'hui est ma plus grande satisfaction. Que ce travail ce travail soit une part de ma reconnaissance envers eux.

A ma très chère sœur Hanane, pour le soutien moral.

A ma grand-mère, mes oncles, cousins et cousines.

A toute la famille HAMMAD et BERRI.

A Adel bouabdellah, Khadra imame, Kherbouche el-houaria, pour leur aides pendant les moments difficiles.

Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique, Université Abou bekr Belkaïd Tlemcen, sous la direction de M^{me}Boucherit-Otmani Zahia, professeur au département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen.

Je tiens tout d'abord à la remercier très chaleureusement pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant de diriger cette thèse et pour le soutien qu'elle m'a apporté tout au long de ma formation. Merci pour votre disponibilité et votre rigueur dans le travail que j'ai su apprécier. Votre savoir et vos qualités humaines et pédagogiques m'ont toujours impressionné et je suis fier d'être parmi vos étudiants. Permettez-moi de vous manifester ma grande admiration pour votre modestie, votre sérieux et votre moralité qui resteront un exemple à suivre dans ma vie professionnelle. Si j'ai pu poursuivre ce mémoire dans d'excellentes conditions, c'est en grande partie grâce à vous.

Mes sincères remerciements et gratitudes sont adressés à M^r Boucherit Kebir, professeur au Centre Universitaire de Naâma, pour m'avoir fait l'honneur de présider et de juger ce mémoire, et qui malgré ses multiples occupations a bien voulu superviser ce modeste travail. Que ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance et de ma profonde estime.

J'adresse de vifs remerciements à M^r Rahmoun Mohammed Nadjib, maître de conférences B, au département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'examiner ce travail. Ses connaissances scientifiques, la qualité de son enseignement m'ont beaucoup aidé durant ma formation. Qu'il trouve dans ce travail le témoignage de ma reconnaissance.

J'aimerais témoigner ma profonde reconnaissance à M^r Seghir Abdelfatteh, doctorant au département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen, pour sa disponibilité, ses conseils

judicieux et pour son aide précieuse de tous les jours. J'ai toujours admiré votre rigueur scientifique, l'étendue de votre savoir et vos compétences. Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de ma sincère gratitude et ma profonde reconnaissance pour tous les efforts déployés.

Le mérite de ce travail revient à toutes les personnes qui ont participé à sa réalisation. J'exprime ma profonde reconnaissance à M^{elles} Lahfa Imène, Ghaffour Kamila, Adida Houria, M^{me} Bekkal Brikci wassila, M^{rs} Seddiki Sidi Mohammed Lhabib et Sellah Mustapha et à toute l'équipe du LapSab qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail. Toute l'équipe à toujours été très gentille et à l'écoute du moindre questionnement.

Je ne voudrais pas oublier de remercier le personnel hospitalier du service de cardiologie du CHU de Tlemcen, avec qui j'ai collaboré durant la réalisation de mémoire. Merci à tous.

Table des matières

Première partie : Synthèse bibliographique

1. Introduction	2
2. Taxonomie et morphologie du genre <i>Candida</i>	2
3. Infections nosocomiales fongiques.....	6
4. Agents pathogènes	8
4.1. <i>Candida albicans</i>	8
4.2. <i>Candida glabrata</i>	8
4.3. <i>Candida parapsilosis</i>	9
4.4. <i>Candida tropicalis</i>	9
5. Les infections fongiques liées au cathéter	9

Deuxième Partie : Matériel et méthodes

1. Prélèvements.....	12
2. Isolement, purification et identification des souches.....	12
2.1. Test de blastèse (Test de germination).....	13
2.2. Test de chlamydosporulation (Microculture sur le milieu PCB).....	13
2.3. Identification par les Galeries Api <i>Candida</i>	13

Troisième Partie : Résultats et discussion

1. Prélèvements.....	15
2. Identification des souches.....	17
2.1. Tests de filamentation et de chlamydospores.....	17
2.2. Test enzymatique (Api <i>Candida</i> ®).....	18

Quatrième Partie : Conclusion

Conclusion.....	20
-----------------	----

Cinquième Partie : Références bibliographiques

Références bibliographiques.....	22
----------------------------------	----

Liste des figures

Figure N°01 : Arbre phylogénétique des principales levures et la relation entre les espèces de <i>Candida</i> et <i>Saccharomyces</i>	3
Figure N°02 : Aspect macrosopique des colonies de <i>Candida</i> spp sur milieu Sabouraud. Caracteristiques morphologiques de <i>Candida albicans</i>	5
Figure N°03 : Distribution des espèces émergentes appartenant au genre <i>Candida</i> ...	7

Liste des Tableaux

Tableau N°01 : Répartition des cathéters contaminés en fonction du sexe.....	15
Tableau N°02 : Répartition des patients en fonction de l'âge et de la durée de la voie veineuse périphérique.....	16
Tableau N°03 : Identification des souches par Tests de filamentation et de chlamydospores.....	17
Tableau N°04 : Identification des souches par la galerie Api <i>Candida</i> [®]	18

Première partie

Synthèse bibliographique

1. Introduction :

L'épidémiologie des infections fongiques invasives ou mycoses a changé au cours de ces vingt dernières années. Leur incidence globale a augmenté, de même que la population à risque qui comprend actuellement une longue liste de conditions médicales, tels que la transplantation d'organes, la thérapie immunosuppressive, les chirurgies lourdes, l'antibiothérapie à large spectre et l'utilisation de procédures invasives (cathéters, matériels prothétiques...).

Ces infections sont déterminées par deux types de micro-organismes, les champignons filamenteux et les levures. *Candida albicans* est l'espèce la plus fréquemment isolée. Elle est considérée comme la plus virulente (Pihet et Marot, 2013). Néanmoins, la plupart des études épidémiologiques soulignent l'émergence des espèces *non-albicans* durant les deux dernières décennies (Arendrup et coll., 2011).

Par ailleurs, l'OMS estime qu'entre 5 et 12% des patients hospitalisés dans le monde développent une infection associée aux soins (IAS) dont plus de 60% sont associées à l'implantation d'un dispositif médical ou chirurgical tel que les cathéters périphériques vasculaires (Ebrey et coll., 2004).

A l'inverse des bactéries, les infections nosocomiales d'origine fongique, n'ont pas été suffisamment clarifiées. C'est pourquoi, nous avons entrepris cette étude qui porte sur la recherche des infections d'origine fongique sur dispositifs médicaux au service de cardiologie du CHU de Tlemcen

2. Taxonomie et morphologie du genre *Candida* :

Les espèces du genre *Candida* sont des organismes cellulaires eucaryotes ubiquitaires, endo-ou exogènes qui font partie du règne des *fungi* et de la division des *Ascomycota* (Chabasse et Pihet, 2013) (Figure N°1).

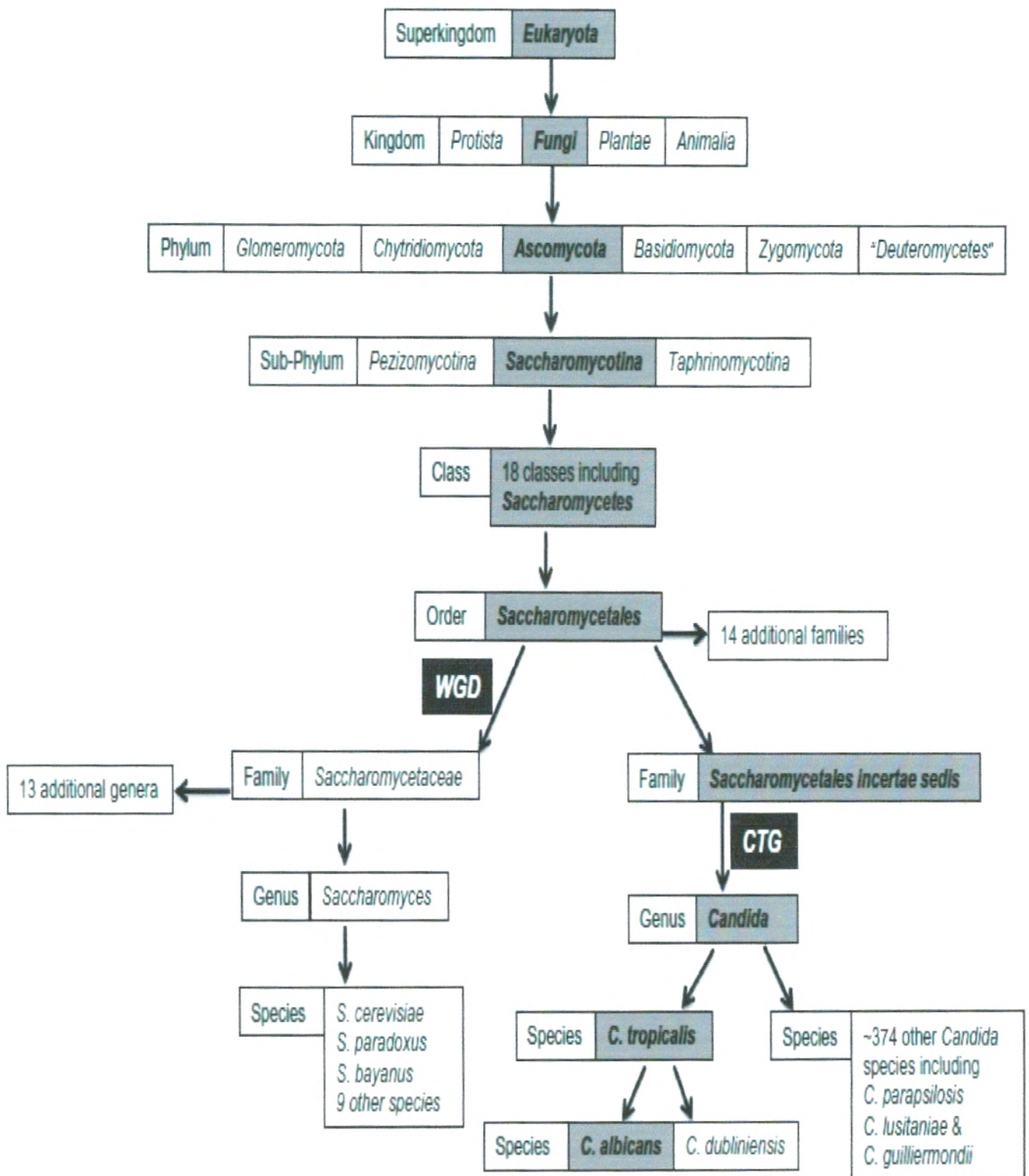


Figure N°1 : Arbre phylogénétique des principales levures et la relation entre les espèces de *Candida* et *Saccharomyces* (McManus et Coleman, 2014).

Ce genre comprend environ 200 espèces dont les plus rencontrées en pathologie humaine sont : *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida kefyr* et *Candida dubliniensis* [(Fitzpatrick et coll., 2006) ; (James et coll., 2006)]. Macroscopiquement, les espèces de *Candida* sp. apparaissent sous forme de colonies blanches ou crémeuses de 1 à 3 mm de diamètre (Figure N°2 A).

En revanche, leur texture peut être pâteuse, lisse, brillante, sèche, ridée ou terne selon l'espèce. Elles produisent toutes des blastoconidies, rondes ou allongées (Fournier, 2011).

Généralement, il existe quatre différentes formes chez la levure *Candida* [(Calderone, 2002) ; (Whiteway et Oberholzer, 2004)] :

- La forme blastospore, ronde ou ovale, mesurant de 2 à 4 μm avec parfois un bourgeon de formation (Figure N°2 B).
- La forme mycélium vrai, champignon filamenteux, s'observe chez *C.albicans* ainsi qu'avec quelques autres espèces (*C. dubliniensis*, *C.tropicalis*), ou la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif (Chabasse et Pihet, 2013) (Figure N°2 C). Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte (Gow, 2002). Le passage de la forme levure à la forme mycélium constitue un important facteur de virulence pour *C.albicans* (Kumamoto et Vincens, 2005).
- La forme pseudomycélium est une structure filamenteuse, mesurant de 500 à 600 μm de longueur et de 3 à 5 μm de largeur. Elle est composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien (Sudbery et coll., 2004) (Figure N°2 D).
- La forme chlamydospore est une structure arrondie de 6 à 15 μm de diamètre à paroi épaisse, rencontrée uniquement chez *C.albicans* et *C.dubliniensis* (Chabasse et Pihet, 2013) (Figure N°2 E).

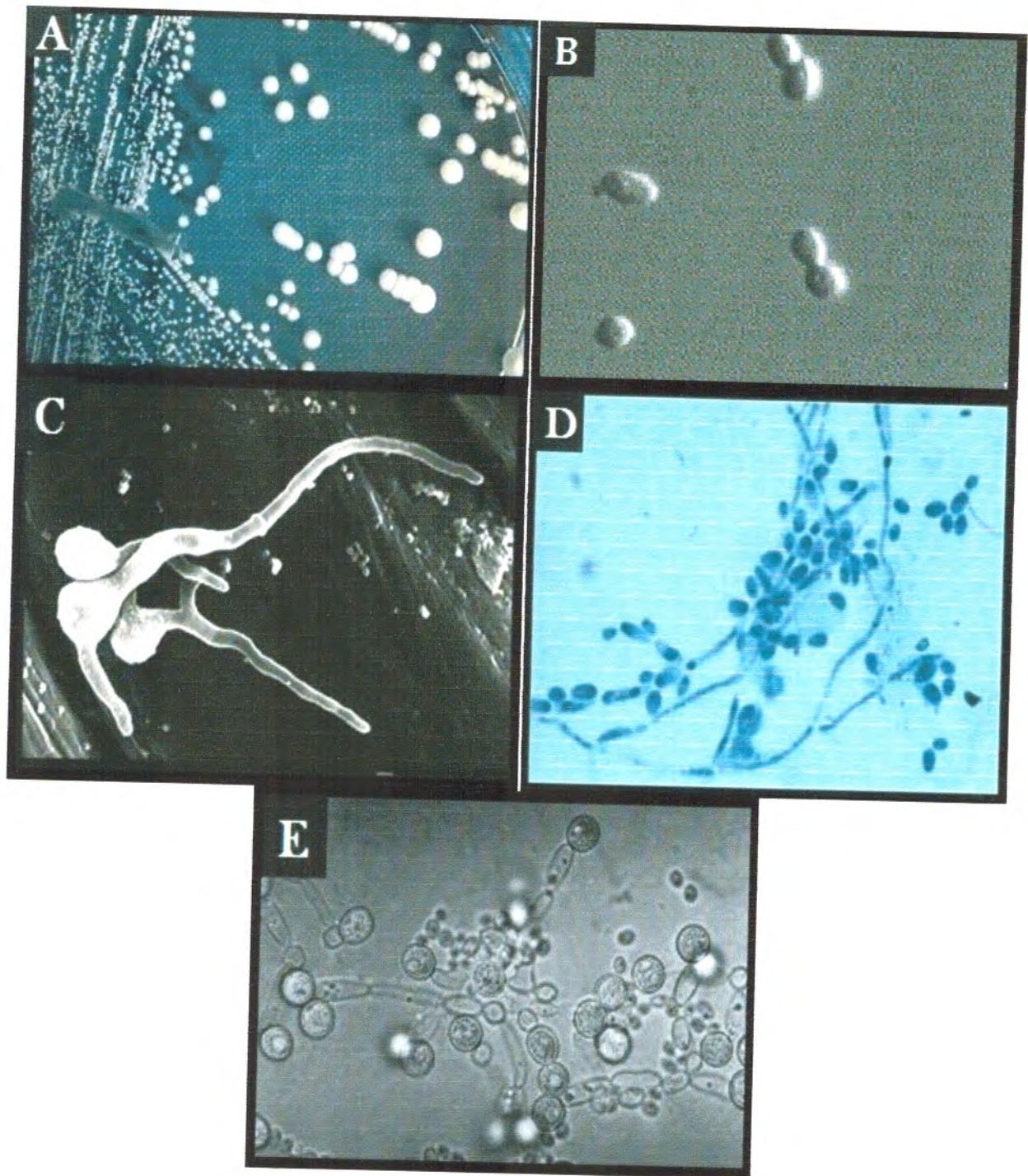


Figure N°02 : (A) Aspect macroscopique des colonies de *Candida* spp sur milieu Sabouraud. (B) blastospores (Sudbery et coll., 2004). (C) Hyphes (Gigou- Cornet, 2006). (D) Levures et pseudohyphes observés au bleu de méthylène (Fournier, 2011). (E) : Chlamydospores (Gigou-Cornet, 2006).

3. Infections nosocomiales fongiques :

Les candidoses sont des affections fongiques ubiquitaires et extrêmement répandues. Elles sont communes à l'homme et à certains animaux et sont associées à une augmentation du coût de la prise en charge hospitalière, de la durée d'hospitalisation et de la mortalité (Zaoutis et coll., 2005).

Candida albicans est l'espèce la plus fréquemment incriminée (60%), suivie de *C.glabrata* (20%) dont l'incidence a augmenté ces dernières années avec l'usage intensif des azolés, puis de *C. tropicalis* (10%) et de *C. parapsilosis* (5%). Il est à noter que la distribution des espèces change en fonction de la zone géographique et des caractéristiques des patients infectés [(Rimek et coll., 2003) ; (Quindós, 2014)] (Figure N°03).

La candidémie définit une condition, où une levure du genre *Candida* est identifiée, par au moins une hémoculture positive et requière toujours un traitement antifongique rapide et approprié (Develoux et Bretagne, 2005). La part des candidémies nosocomiales parmi l'ensemble des infections est en effet largement majoritaire, dépassant 80%. Elles touchent généralement des patients, présentant des facteurs de risque liés essentiellement à l'hospitalisation ou la justifiant (patient en réanimation, hémopathies, porteurs de cathéters ou sondes urinaires...) (Krcmery et coll., 1998).

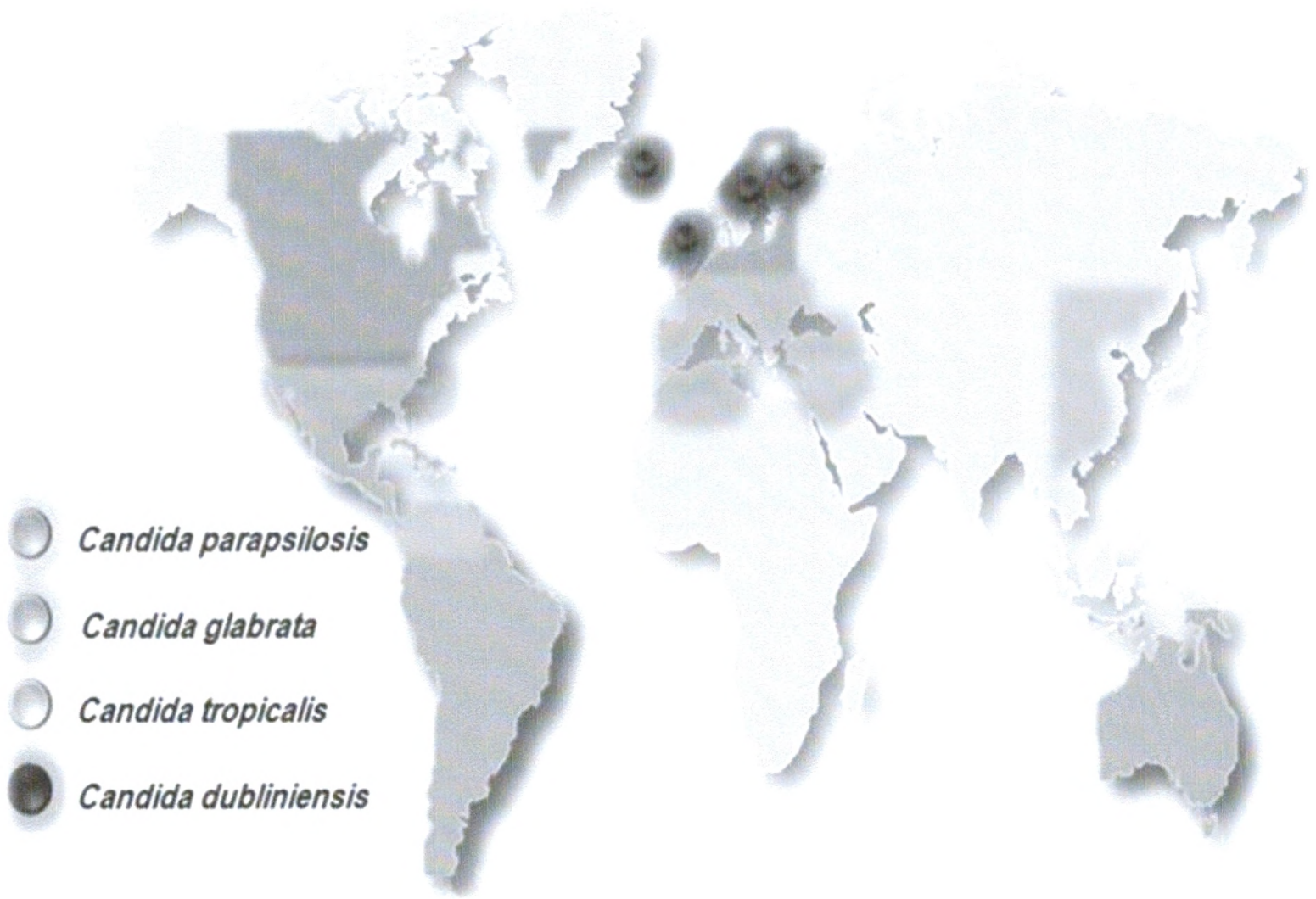


Figure N°03 : distribution des espèces émergentes appartenant au genre *Candida* (Quindós, 2014).

Il existe de nombreux facteurs de risques pour le développement des candidoses et des candidémies. Ils sont regroupés en 2 catégories, intrinsèques et extrinsèques ou iatrogènes [(Eggimann et coll., 2003) ; (Bouza et Munoz, 2008)].

- Les facteurs intrinsèques peuvent être de plusieurs natures, physiologiques (nouveau-né, personnes âgées...), locales (transpiration, macération...), ou liées à l'état général du patient (diabète, immunosuppression, cancer...).
- Les facteurs extrinsèques sont les causes iatrogènes tel que l'utilisation des antibiotiques, des corticoïdes et des immunosuppresseurs, les actes chirurgicaux (digestifs ou cardiaques), les cathéters, les prothèses, l'épuration extra-rénale, la ventilation mécanique, la nutrition parentérale et la durée d'hospitalisation [(Kourkoumpetis et coll., 2011) ; (Grinand, 2012)].

4. Agents pathogènes :

4.1. *Candida albicans*

C'est une levure commensale du tube digestif et des muqueuses humaines. Elle est responsable d'atteintes cutanéomuqueuses, d'infections profondes et hématogènes (fournier, 2011). Cette levure devient pathogène lorsque le statut immunitaire est altéré, ce qui la définit comme un pathogène opportuniste. En effet, elle représente un sérieux problème de santé, notamment chez les patients immunodéprimés (Lagane, 2007).

4.2. *Candida glabrata*

Elle occupe la deuxième position en Europe et aux Etats-Unis en termes de fréquence après *C.albicans* (Asmundsdottir et coll., 2013). Elle est retrouvée au niveau du tube digestif et des muqueuses humaines. Elle est responsable de candidémies, d'infections du tractus urinaire et de candidoses profondes (fournier, 2011).

D'un point de vue morphologique, *C.glabrata* forme des colonies lisses, très petites, de couleur crème et ne présente pas de filamentation (Silva et coll., 2012).

4.3. *Candida parapsilosis* :

Il s'agit de l'une des espèces la plus fréquemment isolées à partir de la peau humaine (Bonassoli et coll., 2005), la deuxième la plus souvent isolées à partir des sites normalement stériles des patients hospitalisés (Silva et coll., 2012) et la troisième en termes de fréquence (Horn et coll., 2009). Cependant, *C.parapsilosis* a un taux de mortalité plus faible (4%) par rapport à ceux liés à *C.albicans* et *C.glabrata* (Kossoff et coll., 1998).

Cette espèce est caractérisée par son affinité pour les cathéters (Paugam et coll., 2010). De part ces caractères, *C.parapsilosis* cause des infections principalement d'origine iatrogène, en particulier chez les prématurés, les nouveau-nés et les enfants (Zaoutis et coll., 2005). D'autres facteurs intrinsèques ou extrinsèques sont impliqués dans le développement d'infections liées à cet agent pathogène, notamment la chirurgie récente (Hachem et coll., 2008).

4.4. *Candida tropicalis*

Elle est isolée principalement chez les patients ayant des tumeurs solides, des pathologies onco-hématologiques ou chez les greffés de cellules souches hématopoïétiques (Horn et coll., 2009). De plus, *C. tropicalis* présente une virulence importante (Pfaller et coll., 2010). Elle occupe la deuxième position après *C.albicans* dans les isolats cliniques en Asie et dans certaines parties de l'Amérique latine (Moretti et coll., 2013).

5. Les infections fongiques liées au cathéter :

Plusieurs analyses multivariées ont montré que les cathéters vasculaires (P.V.C) sont un facteur de risque indépendant des candidémies [(Saiman et coll., 2000) ; (Boo et coll., 2005)]. Les *Candida* se situent à la troisième place des infections nosocomiales liées aux cathéters vasculaires (Wisplinghoff et coll., 2004).

Une infection liée aux cathéters (ILC) est définie par la présence de microorganismes à leur surface interne et/ou externe, responsables d'une infection locale et/ou générale (Bleichner et coll., 1994). Ce sont des infections graves associées à un taux de mortalité globale situé entre 30 et 60% et à un taux de mortalité attribuable spécifiquement à l'infection à candida entre 25 et 40% [(Wey et coll., 1989) ; (Gudlaugsson et coll., 2003)].

Le cathéter vasculaire périphérique est le dispositif invasif le plus utilisé dans les établissements de soins. Sa pose est devenue un geste fréquent et banal, à tel point que la pertinence du geste et la justification du maintien du dispositif peuvent constituer un axe de prévention des ILC (Espinasse et coll., 2010).

Partant de ces données, nous avons entrepris cette étude qui porte sur la recherche des infections fongiques hospitalières liées au genre *Candida* sur cathéters vasculaires périphériques au service de cardiologie du CHU de Tlemcen.

Deuxième partie

Matériel et Méthodes

Ce travail est réalisé au laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique. Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

1. Prélèvements :

Notre échantillonnage a concerné un seul type de dispositifs médicaux, les cathéters vasculaires périphériques. Ces derniers sont prélevés durant la période allant de Février à Avril 2014 de patients hospitalisés au service de cardiologie du Centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen.

Seuls les cathéters veineux périphériques implantés depuis 48 heures et plus sont prélevés selon les recommandations de Quinet (2006) et Gürçüoğlu et ses collaborateurs en 2010.

Après leur ablation, les cathéters sont immédiatement recueillis dans des tubes secs stériles pour les acheminer au laboratoire. Après addition de 1mL d'eau physiologique, le tube est agité au vortex pendant 2 minutes. 100µL sont prélevés et ajoutés à 900 µL de sabouraud liquide pour la recherche des levures (Brun Buisson et coll., 1987).

Les tubes contenant les segments de cathéters sont marqués puis placés dans une étuve à 37 °C pendant 24 à 48 heures, voire 72 heures pour vérifier le détachement de toutes les levures adhérentes aux surfaces internes et externes de ce dernier.

2. Isolement, purification et identification des souches :

À partir des échantillons présentant un trouble, des boîtes de Pétri contenant de la gélose sabouraud sont ensemencées par stries, puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

La purification des levures est réalisée par repiquages successifs sur milieu Sabouraud. Chaque souche pure est ensemencée sur gélose Sabouraud inclinée en tube puis incubée à 30°C pendant 24 à 48 heures et conservée à 4°C. L'identification des souches isolées est basée sur leurs caractères biochimiques et morphologiques. Les tests de microculture (blastèse et Chlamydosporulation) et les galeries d'identification Api Candida® (BioMérieux®, Marcy l'Etoile, France) sont utilisés.

2.1. Test de blastèse (Test de germination)

Ce test décrit par Taschdjian en 1960 et inspiré des travaux de Reynolds et Braune (1956) qui ont montré que les constituants du sang favorisent la formation de filaments par certaines levures.

La souche à tester estensemencée dans 1 mL de sérum humain, puis incubée à 37°C pendant 3 à 4 heures. L'observation de la suspension au microscope optique (Grossissement $\times 400$) est réalisée pour mettre en évidence la formation des tubes germinatifs (Bouchet et coll., 1989).

2.2. Test de chlamydosporulation (Microculture sur le milieu PCB)

Une colonie est prélevée puisensemencée en stries sur gélose PCB (pomme de terre, carotte, bile de bovin) en créant des fentes dans la surface de la gélose à l'aide d'un fil de platine. La zoneensemencée est recouverte d'une lamelle couvre-objets stérile puis incubée à 30 °C pendant 48 heures. La présence de chlamydo-spores (spores globuleuses de 10 à 15 μm entourées d'une paroi épaisse) est mise en évidence par l'observation au microscope optique au grossissement $\times 400$ (Drochey et Vieu, 1957).

2.3. Identification par les Galeries Api Candida

La galerie Api *Candida* est un moyen standardisé pour l'identification des levures du genre *Candida*. Elle comprend 10 cupules contenant des substrats déshydratés pour réaliser 12 tests d'identification (acidification des sucres et réactions enzymatiques) (BioMérieux®. Marcy l'Etoile, France 2011).

A partir d'une culture jeune de levure (18 à 24 heures), l'inoculum est ajusté à une concentration cellulaire de 10^7 cellules/mL (3 Mc Farland). Celui-ci est réparti ensuite dans chacune des cupules de la galerie.

Pour créer l'anaérobiose, les 5 premières cupules plus la dernière sont couvertes avec de l'huile de paraffine. La galerie ainsi préparée est placée dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures. Les virages de couleur dans les cupules se traduisent par l'établissement d'un code à 4 chiffres pour chaque souche. L'identification se fait à l'aide du tableau d'identification fourni avec les galeries.

Troisième partie

Résultats et discussion

Les infections nosocomiales fongiques constituent un problème de plus en plus fréquent chez les patients hospitalisés. *Candida albicans* étant considérée comme l'espèce la plus virulente et le plus fréquemment isolée (Pfaller et Diekema, 2007). Par ailleurs, il s'est progressivement produit une modification de la répartition des différentes espèces de *Candida*, avec l'émergence d'espèces non-albicans [(Spellberg et coll., 2006) ; (Pfaller et coll., 2008)].

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2013) estime qu'entre 5 et 12% des patients hospitalisés dans le monde développent une infection nosocomiale, dont plus de 60% sont associées à l'usage d'un dispositif médical ou chirurgical. Le cathéter vasculaire périphérique (CVP) est le dispositif médical invasif le plus utilisé en milieu hospitalier quel que soit le service clinique, représentant 90% des cathéters périphériques mis en place (Grinand, 2012). Ils sont considérés par conséquent comme un facteur de risque pour le développement des mycoses profondes ou systémiques (Mohandas et Ballal, 2007).

C'est pourquoi, nous avons entrepris cette étude qui consiste à évaluer le risque infectieux fongique lié aux cathéters périphériques et d'identifier les espèces qui y sont impliquées au service de cardiologie du CHU de Tlemcen.

1. Prélèvements :

Durant la période allant du mois de Février au mois d'Avril, 60 cathéters vasculaires périphériques sont prélevés de patients hospitalisés au service de cardiologie du CHU de Tlemcen parmi lesquels 04 étaient contaminés par des levures. Les résultats relatifs à la répartition de ces prélèvements en fonction du sexe des patients sont regroupés sur le tableau N° 1.

Tableau N°01 : Répartition des cathéters contaminés en fonction du sexe

Sexe	Nombre de cathéters prélevés	Cathéters contaminés	Pourcentage
Masculin	44	4	9.09%
Féminin	16	0	0%

Nous remarquons que sur 60 cathéters vasculaires périphériques prélevés, 44 étaient retirés de patients de sexe masculin dont quatre étaient contaminés par des levures soit un taux de 9,09%. En revanche, les 16 cathéters retirés des femmes ne présentaient aucune contamination.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Talarmin et ses collaborateurs (2009) qui ont mené une étude prospective sur une année dans l'ouest de la France, ils ont remarqué que les deux tiers des patients touchés par les infections nosocomiales fongiques étaient de sexe masculin. De même, les travaux de Safdar et coll., (2002), de Maki et coll., (2006), ainsi ceux d'Arendrup et coll., (2011), ont montré que l'incidence des candidémies était plus élevée chez les hommes.

Par ailleurs, la répartition des prélèvements en fonction de l'âge des patients et de la durée de pose (Tableau N°2) a montré que :

Tableau N°02 : Répartition des patients en fonction de l'âge et de la durée de la voie veineuse périphérique

Caractéristiques des patients		Nombre de cathéters prélevés	Cathéters contaminés	Pourcentage
Age	< 65 ans	32	1	3.125 %
	≥ 65ans	28	3	10.71 %
Durée d'implantation du cathéter	≤ 3 jours	22	0	0 %
	>3 jours	38	4	10.52 %

Parmi les 4 cathéters contaminés, un seul provenait d'un patient âgé de moins de 65 ans. Les trois autres cathéters chez des patients âgés de plus de 65ans.

Nous remarquons également une absence totale de contamination des cathéters posés depuis 3 jours ou moins. Par contre, tous les cathéters contaminés ont un temps de pose de plus de trois jours.

Nous pouvons dire que le risque d'infection est plus important chez les patients âgés de 65 ans et plus et dépend également de la durée du cathétérisme.

Ces résultats sont en accord avec ceux d'Eggimann et coll., (2003), de Déveloux et Bretagne., (2005) et de ceux de Richardson et Lass-Flörl, (2008).

De plus, une étude réalisée par Kaltenbach et coll. en 2002, sur quatre patients âgés de plus de 68 ans a montré que tous les sujets développent une candidémie en raison de la polypathologie et les portes d'entrées potentielles comme les cathéters veineux périphériques.

2. identification des souches :

2.1. Tests de filamentation et de chlamydospores :

A partir de 60 cathéters vasculaires périphériques prélevés, 04 souches appartenant toutes au genre *Candida* sont isolées.

Pour l'identification des souches isolées, nous avons effectués le test de blastèse et le test de filamentation.

Les résultats obtenus sont regroupés sur le tableau N°3.

Tableau N°03 : Identification des souches par Tests de filamentation et de chlamydospores

Tests	Souches de levures			
	S1	S2	S3	S4
Blastèse	+	-	-	+
Filamentation	+	-	-	+

Nous remarquons que les souches S1 et S4 forment des tubes germinatifs ainsi que des chlamydospores. Ces deux tests sont négatifs pour les souches S2 et S3. Selon Mackenzie, (1962) et Beheshti et coll., (1975), *Candida albicans* est identifié par la production des tubes germinatifs ou par la production de chlamydospores. Par conséquent, les souches S1 et S4 peuvent être identifié comme appartenant à l'espèce *Candida albicans*. Néanmoins, ces deux tests ne permettent pas de différencier véritablement *C. dubliniensis* de *C.albicans* (Pihet et Marot, 2013). C'est pourquoi, nous avons jugé nécessaire de confirmer l'identification des quatre souches isolées par les galeries Api Candida.

2.2. Test enzymatique (Api *Candida*®) :

Les résultats relatifs à l'identification des souches isolées par les galeries Api *Candida* sont rassemblés sur le tableau N°04.

Tableau N°04 : Identification des souches par la galerie Api *Candida*®

Test	Les souches de levures			
	S1	S2	S3	S4
Api <i>Candida</i> ®	<i>C. albicans</i>	<i>C.famata</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.albicans</i>

Il ressort de ce tableau que sur les quatre souches isolées, deux appartiennent à l'espèce *Candida albicans*, une souche est identifiée comme appartenant à l'espèce *Candida famata* et une souche appartient à l'espèce *Candida parapsilosis*. L'espèce *Candida albicans* est majoritaire dans nos prélèvements avec un taux de 50%.

Ces résultats rejoignent ceux de Rodriguez et coll., (2011) et Talarmin et coll., (2009), qui ont montré qu'une très grande majorité des espèces fongiques isolées appartenait au genre *Candida*. Ces espèces sont la quatrième cause des infections nosocomiales fongiques (Edmond et coll., 1999).

En effet, Pfaller et coll., (2000), Boucherit-Atmani et coll., (2011) et Massou et coll., (2013), ont mis en évidence la dominance de *Candida albicans* dans leurs isolats cliniques.

En revanche, plusieurs pays à travers le monde assistent à un changement dans l'épidémiologie des infections à *Candida*, caractérisé par l'émergence des espèces *non albicans* (Méan et coll., 2008).

Actuellement, il a été observé que *C.parapsilosis*, un saprophyte de la peau, arrive en deuxième position après *C.albicans* en termes de fréquence dans les pays méditerranéens, en Amérique latine et en Australie (Quindós, 2014).

De plus, plusieurs rapports concernant les candidoses invasives soulignent l'implication de *C.famata*, qui doit être considéré comme un agent pathogène opportuniste (Si-Hyun et coll., 2014).

Quatrième partie

Conclusion

L'incidence des infections nosocomiales fongiques notamment celles causée par *Candida spp.* est en augmentation constante en raison de l'utilisation des dispositifs médicaux invasifs tel que les cathéters vasculaires périphériques.

Sur un total de 60 cathéters vasculaires périphériques prélevés, nous avons isolé 04 souches de levures, qui appartiennent au genre *Candida*. Dont la moitié sont formatrices d'hyphes et de chlamydo-spores, et identifiés comme appartenant à l'espèce *Candida albicans* par la galerie Api Candida[®].

Les facteurs qui semblent augmenter le risque d'infection sont l'âge avancé des patients (65 ans et plus), le sexe et la durée du cathétérisme.

Les recommandations essentielles susceptibles de diminuer le risque de contamination sont, le remplacement des voies veineuses posées pendant plus de 72 heures notamment chez les patients âgés, ainsi que le respect des mesures d'hygiène lors de la pose des dispositifs médicaux.

Pour compléter cette étude, il sera intéressant d'étudier la répartition des espèces fongiques sur d'autres types de dispositifs médicaux chez une tranche plus large de population hospitalisé, et l'étude de la sensibilité de ces souche vis-à-vis les antifongiques utilisé en clinique, ainsi que l'étude du mode de vie « biofilm » des souches isolées du milieu hospitalier.

Cinquième partie

Références bibliographiques

1. **Arendrup M. C., Sulim S., Holm A., Nielsen L., Nielsen D. S., Knudsen J. D., Drenck N. E., Christensen J. J. and Johansen K. H. (2011)** Diagnostic issues, clinical characteristics, and outcomes for patients with fungemia. *J Clin Microbiol*; 49:3300-8.
2. **Asmundsdottir L. R., Erlendsdottir H. and Gottfredsson M. (2013)** Nationwide study of candidemia, antifungal use and antifungal drug resistance in Iceland, 2000–2011. *J Clin. Microbiol*; 51:841–8.
3. **Beheshti F., Smith A. G., Krause G. W. (1975)** Germ tube and chlamyospore formation by *Candida albicans* on a new medium. *J Clin Microbiol* ; 2(4):345-8.
4. **Bleichner G., Beaucaire G., Gottot S., Letulzo Y., Marty J., Minet M., Nicolas M. H., Pinsard M., Potel G. and Schaller M. D. (1994)** Xlle Conférence de consensus en réanimation et médecine d'urgence, 24 juin 1994: infections liées aux cathéters veineux centraux en réanimation. *RéanUrg*; 3 : 321-30.
5. **Bonassoli L. A., Bertoli M. and Svidzinski T. I. E. (2005)** High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. *J Hosp Infect*; 59: 159–162.
6. **Boo T. W., O'Reilly B., O'Leary J. and Cryan B. (2005)** Candidemia in an Irish tertiary referral hospital: Epidemiology and prognostic factors. *Mycoses* ; 48:251—9.
7. **Boucherit-Atmani Z., Seddiki S. M. L., Boucherit K., Sari-Belkharoubi L., Kunkel D. (2011)** *Candida albicans* biofilms formed into catheters and probes and their resistance to amphotericin B. *J Mycol Med.* 21(3):182–187.
8. **Bouchet P., Guignard J.L., Madulo-Leblond G. and Regli P. (1989)** Mycologie générale et médicale. Ed Masson. Paris; 107-20.
9. **Bouza E. and Munoz P. (2008)** Epidemiology of candidemia in intensive care units. *Int J Antimicrob Agents*; 32Suppl 2: S87-91.
10. **Brun-Buisson C., Abrouk F., Legrand P., Huet Y., Larabi S. and coll. (1987)** Diagnosis of central venous catheter-related sepsis, critical level of quantitative tips cultures. *Arch. Intern. Med.*; 147: 873-7.
11. **Calderone R. A., (2002)** *Candida* and candidiasis. Washington, D.C., ASM Press.
12. **Chabasse D. and Pihet M. (2013)** Mycologie médicale. Lavoisier ; p 215-225.
13. **Develoux M. and Bretagne S. (2005)** Candidoses et levures diverses. *EMC-Maladies infectieuses* ; 2 : 119 – 139.

14. **Drochey E. and Vieu M. (1957)** (Biology of *Candida* infections Laboratory diagnosis; study of 342 strains of *Candida* isolated from pathological specimens). *Sem Hop* ; 33(13/2) : 793 - 807.
15. **Ebrey R., Hamilton M. S., Cairns G. and Lappin-Scott H. M. (2004)** Biofilms and hospital-acquired infections. In: Ghannoum M, O'Toole GA, editor *Microbial Biofilms*. Washington DC: *ASM Press*, 294-313.
16. **Edmond M. B., Wallace S. E., McClish D. K., Pfaller M. A., Jones R. N., Wenzel R. P. (1999)** Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: A three-year analysis. *Clin Infect Dis*; 29:239–44.
17. **Eggimann P., Garbino J. and Pittet D. (2003)** Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis*; 3: 685-702.
18. **Espinasse F., Page B. and Cottard-Boulle B. (2010)** Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue Francophone Des Laboratoires* ; N°426 51-63.
19. **Fitzpatrick D. A., Logue M. E., Stajich J. E. and Butler G. (2006)** A fungal phylogeny based on 42 complete genomes derived from supertree and combined gene analysis. *BMC Evol. Biol.*; 6: 99.
20. **Fournier P. (2011)** Impact de la consommation d'antifongiques sur *Candida* sp. Etude dans un service de réanimation médicale de 2004 à 2009 au CHU de Grenoble. Thèse de Doctorat, UFR de Pharmacie de Grenoble, Université Joseph Fourier, France. P : 15, 16, 26.
21. **Gigou-Cornet M. (2006)** Rôle des gènes RIM et VPS dans la signalisation du pH, la virulence et la résistance aux antifongiques chez la levure *Candida albicans*. Thèse de Doctorat, Institut national agronomique Paris-Grignon, France. P : 4.
22. **Gow N. A. R. (2002)** *Candida albicans* switches mates. *Mol Cell*; 10: 217-218.
23. **Grinand N. (2012)** Les biofilms à *Candida spp* : Epidémiologie et sensibilité aux antifongiques. Thèse de Doctorat. Université de Nantes, faculté de pharmacie. P : 12.
24. **Gudlaugsson O., Gillespie S., Lee K., Vande Berg J., Hu J., Messer S., Herwaldt L., Pfaller M. and Diekema D. (2003)** Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin Infect Dis*; 37:1172-1177

25. Gürcüoğlu E., Akalın H., Ener B., Ocakoglu G., Snrtas M., Akçaglar S., et al. (2010) Nosocomial candidemia in adults: risk and prognostic factors. *J Mycol Med* ; 20:269—78.
26. Hachem R., Hanna H., Kontoyiannis D. Jiang Y. and Raad I. (2008) The changing epidemiology of invasive candidiasis: *Candida glabrata* and *Candida krusei* as the leading causes of candidemia in hematologic malignancy. *Cancer*; 112: 2493-9.
27. Horn D. L., Neofytos D., Anaissie E. J., Fishman J. A. and Steinbach W. J. (2009) Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients : data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis*; 48:1695-703.
28. James T. Y., Kauff F., Schoch C. L., Matheny P., Hofstetter V. and coll. (2006) Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*; 443: 818-22.
29. Kaltenbach G., Vogel T., Noblet-Dick M., Heitz D., Berthel M., Kuntzmann F. (2002) Les candidémies chez le sujet âgé : à propos de quatre cas. *Rev Méd Interne* ; 23 : 328-31.
30. Kossoff E. H., Buescher E. S. and Karlowicz M. G. (1998) Candidemia in a neonatal intensive care unit: trends during fifteen years and clinical features of 111 cases. *Pediatr Infect Dis J*; 17: 504—508.
31. Kourkoumpetis T. K., Velmahos G. C., Ziakas P. D., Tampakakis E., Manolakaki D., Coleman J. J. and Mylonakis E. (2011) The effect of cumulative length of hospital stay on the antifungal resistance of *Candida* strains isolated from critically ill surgical patients. *Mycopathologia*; 171: 85-91.
32. Krcmery J. R. V., Oravcova E., Spanik S., Mrazova-Studena M., Trupl J., Kunova A., Stopkova-Grey K., Kukuckova E., Krupova I., Demitrovicova A. and Kralovicova K. (1998) Nosocomial breakthrough fungaemia during antifungal prophylaxis or empirical antifungal therapy in 41 cancer patients receiving antineoplastic chemotherapy: analysis of aetiology risk factors and outcome. *J Antimicrob Chemother*; 41(3):373—80.
33. Kumamoto C. A. and Vences M. D. (2005) Contributions of hyphae and hypha-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. *Cell Microbiol.*;7: 1546-1554.
34. Lagane C. (2007) Role de l'IL-13 et des ligands de PPAR- γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida albicans*. Thèse de Doctorat, Discipline Immunopathologie, oncogénèse et

- signalisation cellulaire, UFR des sciences de la vie et de la santé, Université de Toulouse III – Paul Sabatier, France. P : 6.
35. **Mackenzie D. W. (1962)** Serum tube identification of *Candida albicans*. *J Clin Pathol*; 15(6):563-5.
 36. **Maki D. G., Kluger D. M., Crnich C. J. (2006)** The risk of bloodstream infections in adults with different intravascular devices: a systematic review of 200 published prospective studies. *Mayo Clin Proc*; 81(9):1159-71.
 37. **Massou S., Ahid S., Azendour H., Bensghir M., Mounir K., Iken M., Lmimouni B. E., Balkhi H., Drissi Kamili N., Haimeur C. (2013)** Les candidoses systémiques en réanimation médicale : analyse des facteurs de risque et intérêt de l'index de colonisation. *Pathologie Biologie*. 61;108–112.
 38. **McManus A. B. and Coleman C. D. (2014)** Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. *Infection, Genetics and Evolution* 21; 166-178.
 39. **Méan M., Marchetti O., and Calandra T. (2008)** Bench-to-bedside review: *Candida albicans* infections in the intensive care unit, *Critical Care*, vol. 12, n°1.
 40. **Mohandas V. and Ballal M. (2007)** Biofilm as virulence marker in *Candida* isolated from blood. *World Journal of Medical Sciences*, vol. 2, no. 1, pp. 46–48.
 41. **Moretti M. L., Trabasso P., Lyra L., Fagnani R., Resende M. R., Oliviera Cardoso L. G. and Schreiber A. Z. (2013)** Is the incidence of candidemia caused by *Candida glabrata* increasing in Brazil? Five-year surveillance of *Candida* bloodstream infection in a university reference hospital in southeast Brazil. *Med Mycol*; 51:225–30.
 42. **Paugam A., Baixench M. T., Taieb F., Champagnac C. and Dupouy-Camet J. (2010)** Emergence de candidemies à *Candida parapsilosis* à l'hôpital Cochin. Caractérisation des isolats et recherche de facteurs de risque. *Pathol Biol* 59 (1) : 44-47.
 43. **Pfaller M. A., Diekema D. J. (2007)** Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*; 20:133–63.
 44. **Pfaller M. A., Diekema D. J., Gibbs D. L., Newell V. A., Ng. KP. and coll. (2008)** Geographic and temporal trends in isolation and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis*: A global assessment from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol*; 46:842–9.
 45. **Pfaller M. A., Jones R. N., Doern G. V., Sader H. S., and al. (2000)** Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in

- North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrob. Agents Chemother.*; 44: 747-751.
46. **Pfaller M., Boyken L., Hollis R., Kroeger J., Messer S., Tendolkar S. and Diekema D. (2010)** Use of epidemiological cutoff values to examine 9-year trends in susceptibility of *Candida* species to anidulafungin, caspofungin, and micafungin. *J Clin Microbiol* ; 49: 624-9.
47. **Pihet M. and Marot A. (2013)** Diagnostic biologique des candidoses. *Revue Francophone des laboratoires* ; N°450 //47-61.
48. **Quindós G. (2014)** Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. *Rev Iberoam Micol*; 31(1):42–48.
49. **Quinet B. (2006)** Abord veineux de longue durée : épidémiologie, diagnostic, prévention et traitement des complications infectieuses. Session : Abord veineux de longue durée. *Archives de pédiatrie* ; 13 : 714 - 720. DOI : 10.1016/j.arcped.2006.03.047.
50. **Reynolds R. and Braude A. (1956)** The filament-inducing property of blood for *Candida albicans*: Its nature and significance (abstract). *Clin. Res. Proc*, 4: 40.
51. **Richardson M. and Lass-Flörl C. (2008)** Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microbiol Infect*; 14 (Suppl. 4): 5–24.
52. **Rimek D., Singh J. and Kappe R. (2003)** Cross-reactivity of the Platelia *Candida* antigen detection enzyme immunoassay with fungal antigen extracts. *J Clin Microbiol*; 41(7): 3395–8.
53. **Rodriguez-Hernandez M. J., Ruiz-pérez de Pipaon M., Marquez-Solero M., Martin-Rico P., Caston-Osorio J. J. and coll. (2011)** Candidemias : multicentre analysis in 16 hospitals in Andalusia. *Enferm Infecc Microbiol Clin* ; 29 :328-233.
54. **Safdar N., Kluger D. M., Maki D. G. (2002)** A review of risk factors for catheterrelated bloodstream infection caused by percutaneously inserted, noncuffed central venous catheters: implications for preventive strategies. *Medicine (Baltimore)*; 81(6):466-79.
55. **Saiman L., Ludington E., Pfaller M., Rangel-Frausto S., Wiblin R. T. and coll. (2000)** Risk factors for candidemia in Neonatal Intensive Care Unit patients. The National Epidemiology of Mycosis Survey study group. *Pediatr Infect Dis J*; 19:319-324.

-
56. Si Hyun K., Jeong Hwan S., Jeong H., Shine Young K., Sae A., Hye Ran K., Joong-Ki K., Young-Hyo C., Il Kwon B., and Kwangha L. (2014) Misidentification of *Candida guilliermondii* as *C. famata* among Strains Isolated from Blood Cultures by the VITEK 2 System. *BioMed Research International*. Article ID 250408, 6 pages.
 57. Silva S., Negri M., Henriques M., Oliveira R., Williams D. W. and Azeredo J. (2012) *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol Rev* 36 288–305.
 58. Spellberg B. J., Filler S. G., Edwards J. J. (2006) Current treatment strategies for disseminated candidiasis. *Clin Infect Dis*; 42:244–51.
 59. Sudbery P., Gow N. and Berman J. (2004) The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol.*12: 317-324.
 60. Talarmin J. P., Boutoille D., Tattevin P., Dargère S., Weinbreck P., Ansart S., Chennebault J. M., Hutin P. G., Léautez-Nainville S. H., Gay-Andrieu F. i., Raffia F. (2009) Épidémiologie des candidémies : étude observationnelle prospective d'un an dans l'Ouest de la France. *Médecine et maladies infectieuses* 39 ; 877–885.
 61. Taschdjian C. L., Burchall J. J. and Kozinn P. J. (1960) Rapid identification of *Candida albicans* by filamentation on serum and serum substitutes. *A.M.A. J. Dis. Child.*, 99: 212.
 62. Wey S. B., Mori M., Pfaller M. A., Woolson R. F. and Wenzel R. P. (1989) Risk factors for hospital-acquired candidemia. A matched case-control study. *Arch Intern Med* ; 149:2349-53.
 63. Whiteway M. and Oberholzer U. (2004) *Candida* morphogenesis and hostpathogen interactions. *Curr. Opin. Microbiol.*;7(4): 350-7.
 64. Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent S. M., Seifert H., Wenzel R. P. and Edmond M. B. (2004) Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*; 39:309-317
 65. Zaoutis T. E., Argon J., Chu J., Berlin J. A., Walsh T. J. and Feudtner C. (2005) The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: A propensity analysis. *Clin Infect Dis*; 41:1232-1239.

Résumé :

L'incidence des infections nosocomiales fongiques sur dispositifs médicaux a fortement augmenté ces trente dernières années. L'espèce *Candida albicans* est l'espèce la plus fréquemment incriminée. Elle est considérée comme la plus virulente. Malheureusement, il s'est progressivement produit une modification de la répartition des espèces de *Candida*, avec l'émergence d'espèces non-*albicans*.

Notre travail s'inscrit dans ce contexte et consiste à évaluer le risque infectieux fongique lié aux cathéters périphériques et d'identifier les espèces qui y sont impliquées au service de cardiologie du CHU de Tlemcen.

Sur 60 prélèvements, nous avons isolé 04 souches de levures, qui appartiennent au genre *Candida*. 02 souches appartiennent à l'espèce *Candida albicans*, une souche appartient à l'espèce *Candida famata* et une à l'espèce *Candida parapsilosis*. Nous remarquons une dominance de l'espèce *Candida albicans* avec un taux de 50%

Mots clés : infections fongiques – *Candida spp.* - cathéter vasculaire périphérique

Abstract :

The incidence of nosocomial fungal infections on medical devices has increased dramatically over the last thirty years. The *Candida albicans* species is the species most frequently implicated. It is considered the most virulent. Unfortunately, it has gradually produced a change in the distribution of *Candida* species, with the emergence of non-*albicans* species.

Our work in this context is to assess the fungal infection risk peripheral catheters and identify species that are currently involved in the cardiology department of the University Hospital of Tlemcen.

A total from 60 samples, 02 clinical isolates of *Candida albicans*, one strain of *Candida famata* and one species of *Candida parapsilosis*. We observe dominance of *Candida albicans* with a rate of 50%.

Keywords: fungal infections – *Candida spp.* - peripheral vascular catheter.

ملخص :

الالتهابات الفطرية في المستشفيات المرتبطة بالأجهزة الطبية انتشرت بشكل كبير خلال السنوات الثلاثين الماضية. *Candida albicans* تعتبر الخميرة الأكثر انتشاراً في حالات العدوى الفطرية.

في هذا السياق قمنا بهذه الدراسة بالمستشفى الجامعي لتلمسان. حيث قمنا بنزع القسطرة من عند المرضى المتواجدين بقسم الأمراض القلبية. حيث تبين لنا أن من مجموع 60 عينة من القسطرات، تم عزل 4 سلالة خميرة *Candida sp.* منها 2 سلالة من نوع *Candida albicans* و 2 من نوع non-*albicans*.

النتائج المتحصل عليها تبين أن *Candida albicans* هي الخميرة المنتشرة بنسبة 50%.

الكلمات المفتاحية : العدوى الفطرية- *Candida spp.*- القسطرة السطحية للأوعية الدموية.