

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant
Filière : Sciences biologiques, Spécialité: Microbiologie et Hygiène
Hospitalière

Par: MERABET Sabrina

Thème

**Détermination de la flore fongique du service
d'Oncologie Médicale de l'Hôpital de Didouche-
Mourad**

Jury d'évaluation :

Président de jury: Mr. HAMIDECHI Abdelhafid
Rapporteur: Mme. YUCEF-ALI Mounia
Examineur: Mr. ALLOUCHE Badredine
Maitres de stage :

Mr. FENDRI Hichem
Mme. DJABELLAH Malika

Prof. UFM Constantine 1
Dr. UFM Constantine 1
Dr. CHU Constantine 1

Prof. UFS Constantine 3
MA. UFS Constantine 3

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017-2018

REMERCIEMENTS

Au terme de ce modeste travail, je tiens à remercier en premier lieu le bon dieu le tous puissant de m'avoir donné le courage et la puissance pour accomplir ce petit projet.

Je remercie infiniment Monsieur DEHIMAT Laid, Professeur à l'université Constantine 1 et Doyen de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Je remercie par la suite très vivement Mr KACEM CHAOUICHE Noredine Professeur à l'université Constantine 1 et Directeur du La MyBAM.

Un grand merci également à Mme YUCEF-ALI Mounia mon encadreur ; je tiens à exprimer une grande considération, toute ma gratitude et mon profond respect d'avoir bien voulu assurer la direction de ce travail qui, grâce à votre esprit didactique et rigoureux, et vos précieux conseils, a pu être mené à bien. Puisse dieu le tout puissant vous accorder bonne santé, prospérité et bonheur.

Je remercie également Mme DJABELLA Malika maitre assistante en mycologie médicale de m'avoir accueillie dans le laboratoire de mycologie de l'EH Didouche-Mourad à Constantine qu'elle dirige et de mettre à ma disposition tout le matériel nécessaire à la réalisation de ce travail, Je vous remercie de m'avoir fait partager votre expérience, vos compétences et votre passion. Puisse dieu le tout puissant vous accorder bonne santé, prospérité et bonheur.

Toute ma gratitude à Monsieur FENDRI Hichem Alaoua Professeur Médecin chef de service du Laboratoire de Mycologie et Parasitologie de l'EH Didouche-Mourad à Constantine, pour m'avoir accueillie et pour votre gentillesse et aides, sans oublier toutes l'équipe du laboratoire de Mycologie de l'EH Didouche-Mourad pour leur aide.

Mes remerciements s'adressent aussi aux personnages responsables administratifs de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour leurs gentillesse et aides.

Je remercie vivement les membres du jury, de m'honorer de votre présence au sein du jury de notre mémoire, Monsieur HAMIDECHI Abdelhafid, Professeur à l'Université Constantine 1, Monsieur ALLOUACHE Badredine, Docteur à l'Université Constantine 1. Veuillez accepter, cher maitre, mon sincère respect et ma profonde reconnaissance qui me font l'honneur d'évaluer mon travail.

Merci a tous

DEDICACES

*Je dédie ce travail à
Mes parents, sources de tendresse et d'amours pour leurs
Soutiens tout le long de notre vie.*

*Mon mari, Mes enfants
Abdelrhman, Djallaledine et
mon adorable onge Rawan*

Mon frère et mes sœurs

Ma grande famille,

Mes chère amies

*Tout qu'on collaboré de près loin à l'élaboration de ce
Travail.*

Que dieu leur accorde santé et prospérité.

Table de matières

1- Introduction.....	1
2. Revue bibliographique.....	3
2.1- Les champignons.....	3
2.1.1- Définition et généralité.....	3
2.1.2- Classification.....	4
2.1.3- les moisissures.....	7
2.2- Aérocontamination fongique.....	11
2.2.1- Définition.....	11
2.2.2- Mécanismes d'aérocontamination fongique.....	12
2.3- Les facteurs de risque.....	13
2.3.1- Facteurs de risque chez l'homme.....	14
2.3.2- Facteurs de risque environnementaux.....	15
2.4- Les mesures de prévention.....	17
2.4.1- Mesures de prévention concernant l'environnement.....	17
2.4.2- Mesures de prévention concernant les patients.....	19
3. Matériel et méthode.....	21
3.1- Description du service d'Oncologie Médicale.....	21
3.2- Prélèvement des échantillons.....	21
3.2.1- Description des sites de prélèvements.....	21
3.2.2- Méthode de prélèvement des échantillons.....	23
3.3- Mise en culture des prélèvements.....	23
3.4- Purification des isolats obtenus.....	24
3.5- Identification des isolats obtenus.....	24
3.5.1- Identification macroscopique.....	24
3.5.2- Identification microscopique.....	25
3.5.3- Test de chlamydosporulation.....	25
3.6- Conservation des souches fongiques.....	25
4. Résultats et discussion.....	26
4.1- Prélèvements et mise en culture des échantillons.....	26

TABLE DES MATIERES

4.2- Identification des isolats obtenus.....	27
5. Conclusion et perspectives.....	39
6. Abstract	
7. ملخص	
8. Annexe	
9. Références bibliographiques.	

Listes des figures

Figure 1 Classification des champignons.....	04
Figure 2 Classification des Zygomycètes.....	06
Figure 3 Classification des Deutéromycètes.....	07
Figure 4 Cycles de vie des moisissures.....	09
Figure 5 Sites d'échantonnage de la salle des paramédicaux.....	22
Figure 6 Sites d'échantillonnage de l'hôpital de jour.....	23
Figure 7 Répartition de la flore fongique obtenue au niveau du service d'Oncologie Médicale.....	28
Figure 8 Répartition de la flore fongique au niveau de six chambres d'hospitalisation...	35
Figure 9 Pourcentage des genres fongiques identifiés au niveau de l'hôpital de jour.....	35
Figure 10 Pourcentage des genres fongiques identifiés au niveau de la salle des paramédicaux.....	36
Figure 11 Répartition des différents genres fongiques au niveau de sites étudiés de l'hôpital de jour.....	36
Figure 12 Répartition des différents genres fongiques au niveau de sites étudiés de la salle des paramédicaux.....	37
Figure13 Flore fongique isolée dans la chambre d'hospitalisation n=6(Femme).....	37
Figure14 Répartition de la flore fongique au niveau de la chambre d'hospitalisation n=6(Femme)	
Figure15 Flore fongique isolée dans la chambre d'hospitalisation n= 7(femme)	
Figure16 Répartition de la flore fongique au niveau de la chambre d'hospitalisation n=7(Femme)	
Figure17 Flore fongique isolée dans la chambre d'hospitalisation n=9 (Femme)	
Figure 18 Répartition de la flore fongique au niveau de la chambre d'hospitalisation n=9(Femme)	
Figure19 Flore fongique isolée dans la chambre d'hospitalisation n=12(Homme)	
Figure20 Répartition de la flore fongique au niveau de la chambre d'hospitalisation n=12(Homme)	

Liste des tableaux

Tableau 01 Classification de locaux hospitaliers en zone à risque.....	14
Tableau 02 Lieux et sites d'échantillonnage.....	22
Tableau 03 Répartition des isolats au niveau des différents sites d'échantillonnage des chambres d'hospitalisation.....	26
Tableau 04 Répartition des isolats au niveau de différents sites d'échantillonnage de la salle des Paramédicaux.....	27
Tableau 05 Répartition des isolats au niveau de différents sites d'échantillonnage d'hôpital de jour.....	27
Tableau06 l'identification macroscopique et microscopique des genres fongiques obtenus.....	29

Liste des abréviations

ADEME :	Agence gouvernementale de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie.
ANAES :	Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé.
HEPA :	High Efficiency Particulate Air : Filtre de haute efficacité particulaire
HRA :	Haut Renouvellement d'Air
SFHH :	Société Française d'Hygiène Hospitalière.
EHDM :	Etablissement Hospitalier Didouche-Mourad
CCLIN :	Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales
SABC :	Gélose Sabouraud-chloramphénicol.
CHU:	Centre Hospitalier Universitaire
IFI :	Infections Fongiques Invasives
PCR :	Polymerase Chain Reaction
IAS :	Infections Associées aux soins
IAES :	Infections Associées à l'Environnement de Soins

Introduction

1- Introduction :

Dans les établissements de santé, le risque microbiologique lié à l'environnement doit être pris en compte car il est potentiellement pourvoyeur d'infections associées aux soins (IAS) sous la forme d'infections associées à l'environnement de soins (IAES). Selon le Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN 2016), ces infections constituent un grand problème de santé publique, vu leur fréquence, leur gravité et leurs conséquences économiques et sociales.

Cependant, il s'agit en fait d'un effet de qualité, non seulement de soins mais également de performance, de la formation et de l'organisation en matière d'hygiène au niveau d'un établissement hospitalier. Il est reconnu que les mesures de prévention les plus efficaces sont celles qui visent les comportements du personnel et le respect des procédures d'hygiène. Certes, la majorité des infections fongiques sont dues au manuportage ou au non-respect de ces procédures. Cependant, l'expérience et la littérature montrent qu'une partie de ces infections peut aussi être attribuée à l'environnement et plus particulièrement à l'air.

En effet, dans un établissement de santé, l'air peut représenter un vecteur de contamination pour les patients à risque. Bien que la transmission aéroportée soit de moindre importance par rapport à d'autres voies (notamment manuportée), elle n'est pas à négliger. Le rôle de l'environnement hospitalier dans la survenue de ces infections reste encore insuffisamment documenté (Sirbou, 2011).

Quoi qu'il en soit, la maîtrise de cet environnement est indispensable dans les établissements de santé, afin de protéger les patients, en particulier les immunodéprimés, mais également le personnel hospitalier (Huart, 2011).

Le rôle de l'air dans la survenue d'infections fongiques a surtout été étudié au cours de deux circonstances: dans les épidémies d'Aspergilloses Invasives chez l'immunodéprimé à l'occasion de travaux réalisés à proximité, et dans les infections du site opératoire en chirurgie orthopédique (Barbut et Neyme, 2006).

La lutte contre les infections fongiques est une priorité de santé publique. Dans les services à haut risque, notamment le bloc opératoire et le service d'oncologie, la surveillance de l'environnement est obligatoire, elle fait intervenir la vigilance de tous et une bonne coordination entre les équipes. Cependant, une contamination fongique de l'air peut échapper

à une surveillance attentive et engendrer, dans un contexte opportuniste, des infections des sites chez les sujets faibles (Sirbou, 2011).

Vu le risque que peut avoir la contamination fongique de l'air sur la sécurité des patients immunodéprimés, nous proposons à travers ce travail, d'étudier l'aérocontamination fongique au niveau du service d'Oncologie Médicale de l'hôpital Didouche Mourad à Constantine.

L'objectif de notre travail est donc, la détermination de la flore fongique des différentes surfaces du service d'Oncologie Médicale de l'Etablissement Hospitalier de Didouche Mourad de Constantine.

La première partie porte sur une synthèse bibliographique rassemblant les différentes connaissances relatives aux champignons, l'aérocontamination fongique et ses sources, les facteurs de risque infectieux chez l'homme et environnement et enfin les mesures de prévention concernant l'environnement et les patients.

La seconde partie porte sur les travaux expérimentaux, réalisés au sein du Laboratoire de Mycologie, et de Parasitologie de l'Etablissement Hospitalier Didouche-Mourad à Constantine; cette partie repose sur:

- L'isolement de la flore fongique à partir de différents sites appartenant à des chambres d'hospitalisation, à l'Hôpital de jour et enfin, à la salle des paramédicaux du service d'Oncologie Médicale;
- L'identification macroscopique et microscopique des différents isolats obtenus ;
- L'interprétation de la distribution de souches fongiques obtenues selon les différents sites d'étude ciblés.

Revue Bibliographique

2. Revue Bibliographique :

2.1-Les champignons

2.1.1- Définitions et généralités

Un champignon (encore appelé mycète ou fungi) est un organisme eucaryote uni- ou pluricellulaire, dépourvu de pigment assimilateur (chlorophylle) et de cellulose dans la paroi, ce qui le distingue profondément du règne végétal. Sa structure est constituée d'un système de filaments ramifiés appelé *thalle*. Ce dernier, est soit réduit à un état unicellulaire (comme chez certaines levures), soit pluricellulaire, réalisant un développement filamenteux appelé « *mycélium* ».

Le champignon peut rester invisible à l'œil nu (Micromycète) sauf en cas de développement intense formant des « colonies », c'est le cas des levures et des filamenteux sur des milieux appropriés, tandis que d'autres sont toujours visibles (Macromycètes) en particulier par leur « chapeau » ou « carpophore » (organe reproducteur). Qu'ils soient macromycètes ou micromycètes, l'organisation végétative ou nutritionnelle et reproductive est la même, c'est le thalle végétatif composé de filaments mycéliens (Chabasse,2008).

Les champignons sont cosmopolites, ils sont retrouvés partout dans la nature où ils colonisent avant tout les organismes morts ou en décomposition (surtout les végétaux), sur lesquels ils trouvent les nutriments (carbone, azote, sels minéraux, etc.) essentiels à leur croissance et leur multiplication, et c'est le thalle ou le filament mycélien qui assure la nutrition, celle-ci se fait par absorption et non par phagocytose(Chabasse *et al.*, 1999).

Ce sont des êtres immobiles qui vont à l'instar du règne végétal compenser cet handicap par la production d'un nombre considérable de spores microscopique leur assurant ainsi un pouvoir de dispersion très important (Chabasse, 2008).

Cette dispersion des spores permet aux champignons de coloniser toute la surface de la terre dont le milieu marin. Cette efficacité à coloniser des milieux et des substrats les plus variés n'a pas d'égal parmi les autres êtres vivants(Chabasse *et al.*,1999).

Le pouvoir pathogène des champignons peut s'exprimer de diverses façons. En produisant des toxines, ils peuvent être à l'origine d'intoxications alimentaires, ou de mycotoxicoses par

l'accumulation de ces toxines dans des végétaux et leur consommation par l'Homme (Chabass, 2002)

L'identification des champignons est fondée principalement sur des critères morphologiques liés aux modes de reproduction. Classiquement, on distingue chez les champignons en dehors du bouturage, deux types de reproduction, l'une asexuée car la cellule fongique se divise par simple mitose, l'autre sexuée car elle intègre un processus de fusion cytoplasmique, de caryogamie et de méiose.

Chez une même espèce, on peut donc observer une multiplication de type sexuée issue d'un stade morphologique particulier appelé téléomorphe et une multiplication asexuée issue d'un autre développement appelé stade anamorphe (Chabasse *et al.*, 1999).

2.1.2-Classification

La classification des champignons repose sur le mode de reproduction sexuée ou phase téléomorphe. Ce critère définit quatre des cinq ordres des mycètes, soit les chytridiomycètes, les zygomycètes, les basidiomycètes et les ascomycètes. Certains champignons sont le plus souvent ou exclusivement rencontrés à des stades de multiplication asexués, dits anamorphes, et sont alors classés d'après le mode de production des spores asexuées ou conidies. Ces espèces sont classées dans le cinquième ordre, les deutéromycètes, ou champignons imparfaits(Chabasse, 2002 ;Chabasse ,2008)(Figure 1).

	DIVISION	CLASSE	GENRE
S E X U É	ZYGOMYCOTA (mucoromycotina)  zygospore	Ordre : MUCORALES	<i>Rhizopus, Mucor</i>
	ASCOMYCOTA  asque	SACCHAROMYCETES ASCOMYCETES	<i>Saccharomyces, Candida</i> <i>Arthroderma (= dermatophytes)</i> <i>Ajellomyces (= Histoplasma, Blastomyces)</i>
	BASIDIOMYCOTA  baside	TREMELLOMYCETES	<i>Filobasidiella neoformans</i> (= <i>Cryptococcus neoformans</i>)
A S E X U É		BLASTOMYCETES	<i>Candida, Cryptococcus, Rhodotorula, Trichosporon</i>
	FUNGI IMPERFECTI (DEUTEROMYCOTA)	HYPHOMYCETES:	
	Attention! Classification taxonomique obsolète.	MONILIACEAE	<i>Aspergillus, Blastomyces, Coccidioides, Fusarium, Histoplasma, Microsporium, Trichophyton</i>
		DEMATIACEAE	<i>Alternaria, Cladosporium...</i>
		COELOMYCETES	<i>Phoma</i>

Figure 1 Classification des champignons (Dufresne, 2014).

➤ **Les chytridiomycètes**

Les chytridiomycètes sont des champignons d'origine aquatique, au mycélium large peu ou pas cloisonné (siphonné), ils sont souvent unicellulaires, ce sont les seuls champignons qui possèdent des cellules mobiles au cours de leur cycle (les spores sont munies d'un flagelle). Ils ne sont pas impliqués en mycologie médicale et on les considère comme les ancêtres de tous les champignons actuels(Chabasse ,2008).

➤ **Les basidiomycètes**

Ce sont des champignons considérés comme les plus perfectionnés, ils regroupent toutes les espèces dont le point commun est de produire des structures de reproduction sexuée appelées : « Basides » donnant naissance à des spores exogènes, les basidiospores. Les basidiomycètes ont un thalle cloisonné avec des boucles au niveau des cloisons.Beaucoup d'entres eux sont des Macromycètes (gros champignons à chapeau), certains sont des parasites de végétaux (agents de charbons, de caries, etc.) et d'autres de redoutables opportunistes chez l'Homme (*Cryptococcus néoformans*)(Chabasse, 2008) .

➤ **Les zygomycètes**

Cette division est caractérisée par la production de spores asexuées appelées zygospores, dont deux sont pathogènes: les mucorales et les entomophthorales.

- Chez les mucorales, les spores asexuées naissent à l'intérieur d'une sorte de sac ferméappelé sporange ou (sporocyste) contenant de nombreuses endospores.
- A l'inverse, chez les entomophthorales, les spores asexuées naissent et s'éjectent de l'extrémité d'un filament spécialisé, elles portent le nom de ballistospores.

Les zygomycètes ont un mycélium siphonné. Ils produisent des spores sans flagelles. La reproduction sexuée aboutit à la formation de zygospores. Ce sont des saprophytes très répandus; certaines espèces s'avèrent être des parasites redoutables chez l'Homme, notamment chez des sujets fragilisé (Chabasse ,2002) (Figure 2)

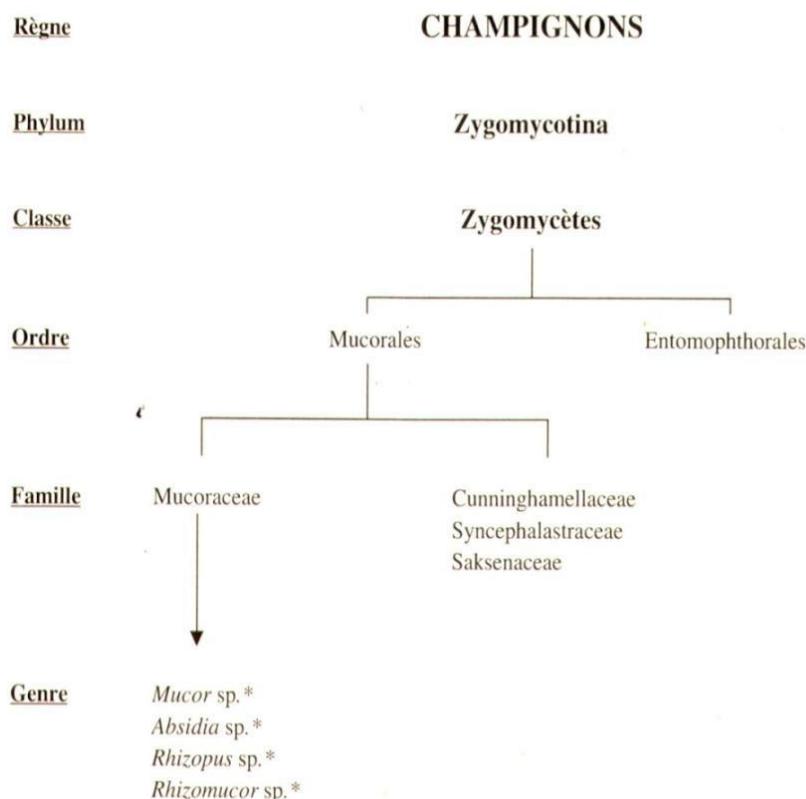


Figure 2 Classification des Zygomycètes(Chabasse ,2002).

➤ **Les ascomycètes**

Cette division regroupe, plus de la moitié de l'ensemble des champignons répertoriés. C'est de loin la division la plus importante, plus des trois quart des espèces observées chez l'homme proviennent des ascomycètes. Les spores issues de la reproduction sexuée sont produites de manière endogène à l'intérieur d'un sac appelé asque, d'où l'appellation ascomycètes donnée à ces espèces. Ces asques sont dispersés ou regroupés au sein d'ascocarpes(Chabasse,2008 ;De Hoog GS ,1996).

➤ **Les deutéromycètes**

Appelé aussi *fungi imperfecti* (champignon filamenteux), cet ensemble hétérogène est un problème pour les taxonomistes. En effet, les deutéromycètes n'ont pas de forme sexuée connue, ils ne se reproduisent que par voie asexuée ou par simple fragmentation du mycélium. Ceci oblige à les classer à part en ne tenant compte que de leur stade anamorphe.

Cet ensemble regroupe le plus grand nombre d'espèces impliquées en pathologie médicale(Chabasse,2002 ;Chabasse,2008)Figure 3

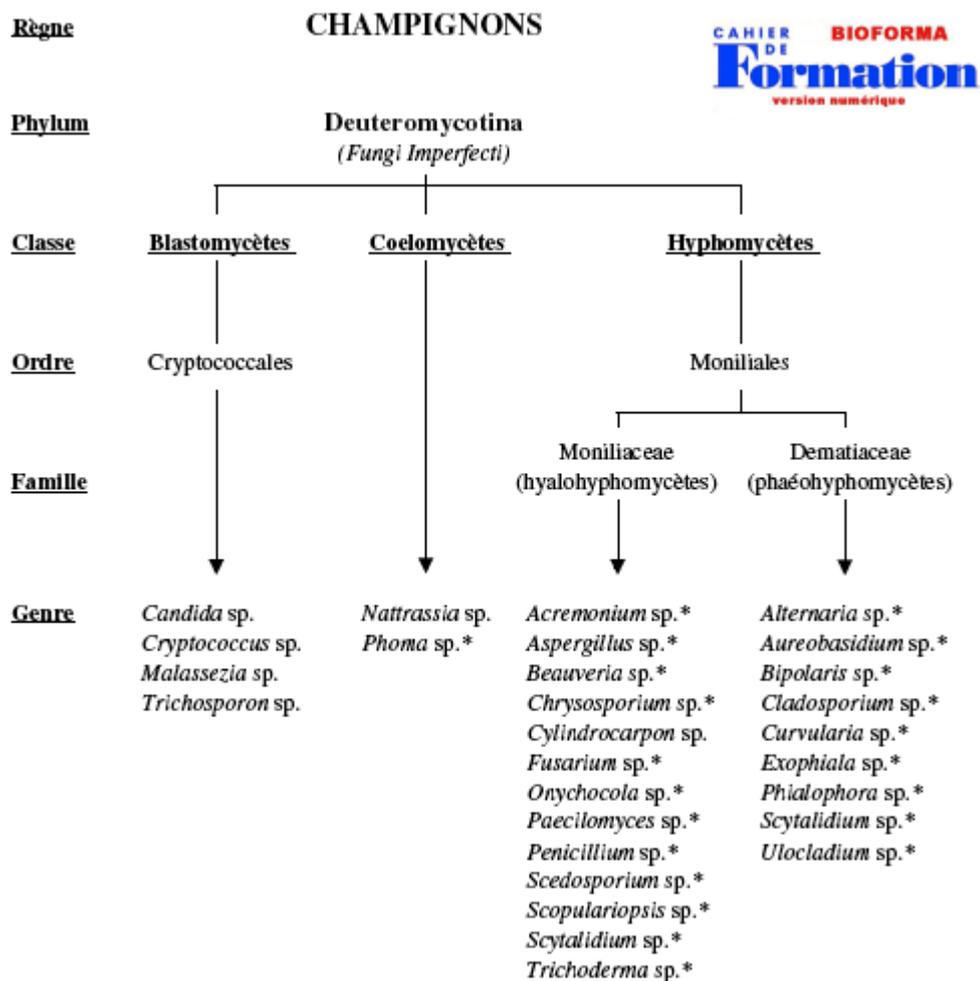


Figure 3 Classification des Deutéromycètes. (Chabasse ,2002).

2.2.3- Les moisissures

Les moisissures sont des champignons pluricellulaires microscopiques ubiquistes, à croissance filamenteuse, qui regroupent des milliers d'espèces. Le terme familier de moisissures fait généralement référence à leur texture laineuse, poudreuse ou cotonneuse, qui peut être observée à divers endroits.

Les moisissures produisent des structures de reproductions appelées spores ; celles-ci sont invisibles à l'œil nu et peuvent chez la plupart des espèces passer en suspension dans l'air. Elles peuvent également élaborer des substances chimiques susceptibles de demeurer à l'intérieur des spores, d'être libérées dans les matériaux qu'elles colonisent (ex : enzymes, mycotoxines) ou encore d'être libérées dans l'air ambiant (ex : composés organiques volatils) (Kirk *et al.*, 2001).

Toutes les moisissures sont des saprophytes, se développant au détriment de matériaux inertes très variés, certaines peuvent être opportunistes et peuvent dans certains cas se comporter en parasite et se développer sur des organismes vivants dont les défenses sont affaiblies (Chabasse *et al.*,1999).

Le développement normal d'une moisissure comprend une phase végétative de croissance et de nutrition et presque simultanément une phase reproductive au cours de laquelle se forment des spores qui assurent la dispersion (Roquebert,1997).

A- Cycle de vie des moisissures

Le réservoir naturel des moisissures se situe à l'extérieur : sur les végétaux, la matière organique en décomposition, la surface d'eau stagnante ou sur le sol. Lorsque les conditions le permettent, les moisissures produisent à maturité des spores d'origine sexuée et/ou asexuée. Ce sont des cellules déshydratées au métabolisme réduit, entourées de parois protectrices épaisses qui les isolent du milieu ambiant. Elles sont produites en très grand nombre, et peuvent survivre très longtemps, plusieurs mois à plusieurs années. C'est sous cette forme qu'elles sont dispersées puis se déposent sur de nouveaux supports, elles peuvent être transportées par les courants d'air, par l'homme, les animaux domestiques et se retrouver éventuellement dans les maisons et édifices. Ces spores sont une forme latente des moisissures. Leur dispersion peut se faire sur de grandes distances. Des études effectuées en milieu contrôlé ont démontré qu'une petite proportion des spores aéroportées peut se retrouver jusqu'à cent mètres de la source d'émission, bien que la grande majorité de celles-ci se retrouvent à proximité de leur lieu de libération. Lorsque les conditions environnementales deviennent favorables (augmentation de l'humidité principalement), elles germent, comme des graines, et redonnent du mycélium qui reformera, à son tour, des spores(Chabasse, 2002) ; (Anonyme 1, 2000).

Les spores permettent aux moisissures de résister à des conditions aussi extrêmes que les feux de forêts et les grandes sécheresses. Cette résistance aux conditions environnementales peut varier considérablement d'une espèce à l'autre, mais on retrouve des espèces adaptées à presque tous les climats et conditions extrêmes (Roquebert,1997).

Le cycle de vie des moisissures en milieu intérieur débute lorsqu'une spore se dépose sur une surface lui offrant les conditions nécessaires à sa croissance. En fait, la germination se déclenche par la présence d'eau combinée ou non à certains facteurs très spécifiques comme l'intensité lumineuse, certaines températures ou types d'éléments nutritifs. La spore germera alors et donnera naissance à un premier filament non différencié, appelé hyphes, qui s'allongera pour former un ensemble appelé mycélium. Cet ensemble de filaments, plus ou moins ramifiés, constitue le thalle des champignons. En présence de conditions favorables à la sporulation, le mycélium donnera naissance à des structures plus spécialisées, qui produiront des spores asexuées (conidies) ou, plus rarement, des spores sexuées (Chabasse, 2002). La taille, la forme et la couleur des spores de moisissures varient grandement d'une espèce à l'autre. Par contre, en microscopie, toutes les spores d'une même espèce sont de couleurs, de dimensions et de formes relativement constantes ce qui, dans bien des cas, constitue un élément d'identification taxonomique. Le diamètre des structures fongiques de reproduction varie entre 2 et 200 μm . Tous les types de spores pourront dans des conditions favorables, recommencer un cycle de vie, soit à proximité du thalle original ou même à forte distance de celui-ci, dans les jours ou les mois suivant sa production (Stetzenbach et Buttner, 2000) (Figure 4).

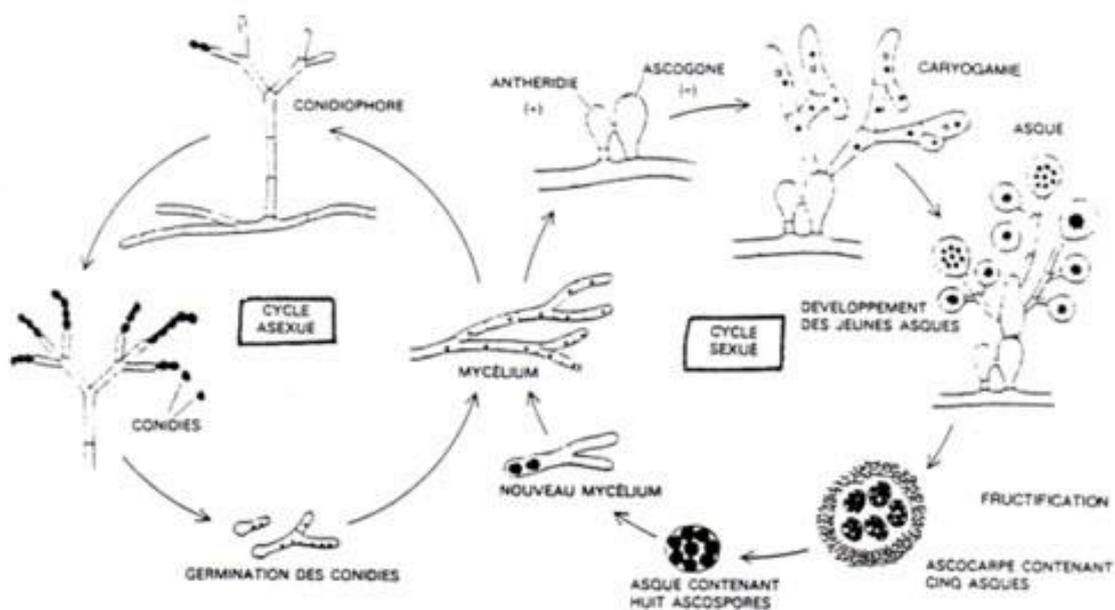


Figure 4 cycles de vie des moisissures (Roquebert, 1997).

B- Conditions de développement

Bien qu'elles soient relativement peu exigeantes, un certain nombre de facteurs, nutritifs et environnementaux, doivent être réunis pour que les moisissures se développent. Selon Roquebert,(1997), les principaux facteurs de développement sont :

➤ **Les éléments nutritifs :**

Les plus importants sont le Carbone et l'Azote, utilisés sous forme de composés organiques, et des ions minéraux (Potassium, Phosphore, Magnésium ...) en quantités très faibles. Certains produits, les acides aminés par exemple, peuvent pénétrer dans la cellule sans transformation tandis que d'autres tels que l'amidon, la cellulose, les protéines... doivent être transformés préalablement par le champignon avant d'être absorbés. Cette transformation nécessite, de la part de la moisissure, un équipement enzymatique adapté, souvent caractéristique des espèces. Un *Trichoderma* par exemple dégradera la cellulose tandis qu'un *Scopulariopsis* sera plus actif sur un support de nature protéique.

➤ **Les facteurs de l'environnement :**

À la différence des substances nutritives, qui sont toujours beaucoup plus abondantes que ne le nécessite le développement des moisissures, les facteurs physiques de l'environnement (humidité, température, oxygène...) constituent un élément déterminant pour son initiation. Parmi ceux-ci, le plus important est l'humidité.

• **L'humidité :**

On sait que les moisissures apparaissent après un accroissement accidentel de l'humidité. En effet, la quantité d'eau disponible dans le substrat et l'ambiance environnante favorisent l'initiation de leur développement. Il y a un échange permanent entre l'environnement et le support jusqu'à atteindre un point d'équilibre à la surface de ce dernier où pourra se développer la moisissure. L'humidité relative minimum pour que commencent à se développer certaines moisissures peu nombreuses, dites xérophiles, est de 65-70%. Au fur et à mesure que l'humidité augmente s'installent ensuite des moisissures différentes, de plus en plus nombreuses vers 80-90%. Ainsi selon l'espèce identifiée sur un substrat on peut approximativement définir l'évolution de l'humidité relative de celui-ci. La seule façon

d'éviter le développement de contaminants fongiques est donc de maintenir une hygrométrie faible dans l'environnement.

- **La température :**

La plupart des champignons, surtout les moisissures, sont mésophiles c'est à dire qu'ils se développent autour de 20°C- 25°C. Cependant, il peut y avoir des particularités pour certaines espèces.

- **L'oxygène :**

Les champignons sont des organismes aérobies. Cependant, certains tolèrent des quantités relativement faibles d'oxygène et peuvent même se développer en anaérobiose avec production d'éthanol et d'acides organiques. Le métabolisme des champignons peut être modifié selon la teneur en oxygène environnemental; par exemple : la production de mycotoxines (patuline et acide pénicillique) décroît considérablement en conditions de dioxygénation faible.

- **Le pH :**

Les champignons sont peu sensibles au pH du milieu. Ils se développent entre 4,5 et 8 avec un optimum entre 5,5 et 7,5. Certaines espèces (*Aspergillus niger*) peuvent se développer jusqu'à 1,7 et 2. Cette faculté de se développer en milieu acide permet de les séparer des bactéries pour l'isolement.

2.2- Aérocontamination fongique

2.2.1- Définition

L'air est chargé de particules inertes solides ou liquides en suspension appelées aérosols, elles ont un large spectre de taille, grossièrement réparties suivant une courbe de Gauss, les plus nombreuses étant comprises entre 0,3 et 5 µm. Certaines d'entre elles servent de supports aux microorganismes et forment ce qu'on appelle bioaérosols (Lhotellier, 2010).

La contamination de l'air ou aérocontamination se définit par l'existence d'un aérosol microbien ou bioaérosol de composition complexe. C'est un ensemble de micro-organismes vivants (moisissures, bactéries, levures....) ou de fragments microbiens (antigènes ou toxiques ou composés volatils microbiens)(Brucker, 1998).

2.2.2- Mécanismes d'aérocontamination fongique

Dans un établissement de santé, l'air peut représenter un vecteur de contamination pour les patients à risque. Les principales pathologies infectieuses acquises, clairement documentées comme liées à la contamination par l'air sont les mycoses invasives dues à des champignons notamment du genre *Aspergillus* et certaines infections du site opératoire.

Que ce soit pour les infections du site opératoire ou encore plus pour les mycoses invasives, les caractéristiques de l'hôte et de sa prise en charge jouent un rôle majeur dans le développement d'une infection à partir d'une simple contamination (Anonyme 2, 2010).

De nombreux champignons peuvent être aéroportés dont certains sont des opportunistes pouvant mettre en jeu le pronostic vital, *Aspergillus* et *Penicillium* sont les deux genres fréquemment rencontrés dans l'air suivie par *Cladosporium*, *Alternaria*.....etc (Anonyme 3, 2009).

La concentration des champignons varie en fonction des régions (les zones tropicales humides et chaudes sont les plus propices à la sporulation), des conditions météorologiques (chaleur, humidité...) et des saisons. En fait, les moisissures persistent dans l'atmosphère tout au long de l'année, cependant elles sont très abondantes en automne, au cours des autres saisons de l'année elles sont très peu abondantes surtout en hiver à l'exception d'*Aspergillus* et *Penicillium* qui sont à peu près également répartis au cours de l'année (Daniau et al., 1998 ; Sautour et al., 2009).

Il est important de noter que le mécanisme de contamination aérienne par des moisissures est fortement lié à leurs modes de dispersion et de transfert qui n'est pas le même pour toutes les espèces et leur sédimentation sur les surfaces.

➤ **Dispersion:**

À partir d'un réservoir humain ou environnemental, le moindre courant d'air détache et emporte les spores fongiques. Le mode de dispersion et de transfert de ces spores n'est pas le même pour toutes les espèces. Certaines spores, appelées gloeiospores ont une paroi épaisse de consistance humide et restent collées entre elles par un mucus (*Acrémonium* sp, *Exophiala* sp...); de ce fait elles forment des amas plus lourds difficilement transportables par l'air.

Elles seront véhiculées au niveau des substrats par contact, par l'eau mais rarement par l'air (*Acremonium sp.*). D'autres espèces par contre, ont des spores à parois sèches (xérospores), facilement dissociables et légères. Elles pourront être en suspension dans l'air et aisément dispersées par les courants d'air. C'est le cas des *Penicillium* et *Cladosporium* que l'on a trouvé en grand nombre dans l'environnement.

➤ **Sédimentation:**

Lorsque cessent les mouvements d'air, les spores de l'atmosphère sédimentent à une vitesse qui dépend de leurs formes, de leurs ornements, de leurs tailles mais aussi du degré d'hygrométrie et de l'intensité des mouvements de l'air.

En atmosphère calme, la décantation est très rapide, environ 35 minutes pour atteindre le niveau zéro. Les plus grosses particules, supérieures à 5 µm de diamètre présentes aux concentrations les plus importantes, sédimentent rapidement et diffusent sur une faible distance, au contraire, les particules les plus fines, notamment celles autour du micromètre, restent en suspension durant plusieurs heures (une particule de 1 µm sédimente d'un mètre en 8 heures) et diffusent plus largement dans l'espace (Roquebert, 1997 ; Anonyme 3, 2009).

Ceci montre que les spores de l'atmosphère, dans une pièce calme, ont tendance à descendre verticalement et à se déposer sur les surfaces qu'elles rencontrent. Elles y constituent un inoculum important indétectable par les analyses d'air, mais susceptible d'entrer en croissance si les facteurs environnementaux le permettent.

3.3- Les facteurs de risque

Dans les établissements de santé, face à la diversité des profils de patients hospitalisés, il s'est avéré nécessaire de délimiter des zones en fonction du degré de risque de contamination microbienne. Elles sont définies par le CLIN.

Par définition, une zone à risques de biocontamination est un lieu géographiquement défini et délimité, dans lequel les sujets ou les produits sont particulièrement vulnérables aux micro-organismes ou particules virales. Ainsi, **quatre niveaux de zones à risques** sont définis, préconisation de l'ASPEC (Tableau 1).

- ✓ Zone 1: risque minimum.
- ✓ Zone 2: risque moyen.
- ✓ Zone 3: risque infectieux sévère.
- ✓ Zone 4: très haut risque.

Tableau1 Classification de locaux hospitaliers en zone à risque.

Zones	Services concernés
Zone Très haut risque	Cancérologie, hématologie Réanimation néonatale (prématurés) Patients greffés, brûlés SOP aseptiques Orthopédie, chirurgie cardiovasculaire, ophtalmologie, neurochirurgie Zone de conditionnement stérilisation Zone de stockage des DM stériles
Zone 3 Haut risque	Réanimation, soins intensifs Explorations fonctionnelles vasculaires, endoscopie Hémodialyse Néonatalogie Bloc opératoire conventionnel Chirurgie digestive, gynécologie obstétrique, urologique, ORL, thoracique
Zone 2 Risque modéré	Hospitalisation Médecine, chirurgie, maternité, psychiatrie Rééducation fonctionnelle Moyen et long séjour Consultations Zone de lavage stérilisation

2.3.1- Facteurs de risque chez l'homme

Le risque de développer une infection fongique diffère suivant l'état immunologique des personnes. Ce sont les patients sévèrement immunodéprimés qui sont les plus à risque de développer une aspergillose. On classe dans cette catégorie les personnes présentant les pathologies ou recevant les traitements suivants:

- Neutropénie ;
- Hémopathie;
- Corticothérapie d'au moins 30 jours ou de courte durée mais à hautes doses;
- Traitement immunosuppresseur en cours;
- Immunodépression due à une pathologie (virale, brûlure, diabète);
- Traitements chimiothérapique ou radiothérapique anticancéreux;
- Antécédents d'aspergillose invasive.

Ces facteurs conduisent à cerner la population à risque d'aspergillose principalement aux patients atteints de pathologie onco-hématologiques ou ayant subi une greffe. Les infections

fongiques et notamment les aspergillose invasives sont un problème en constante augmentation du fait de l'augmentation du nombre de ces patients fortement immunodéprimés(Anonyme 4,2002).

3.3.2- Facteurs de risque environnementaux

Les champignons filamenteux environnementaux sont très bien adaptés à la survie et à la multiplication dans l'environnement. Les sources environnementales de contamination possibles sont essentiellement l'air et les surfaces. D'autres sources peuvent néanmoins exister, mais leur importance relative reste très difficile à déterminer.

➤ L'air

L'air joue un rôle crucial dans la dissémination des champignons dans l'environnement et la transmission aux patients. La contamination aérienne de l'extérieur influence en grande partie le niveau de contamination à l'intérieur de l'hôpital (Pini *et al.*, 2004).

Les spores de champignons sont presque toujours présentes dans l'air ambiant mais leur nombre et leur type changent avec le temps, la saison, la localisation géographique et la présence de sources locales de spores.

Les genres *Cladosporium* et *Alternaria* prédominent durant les jours secs (ils sont rencontrés dans le monde entier en particulier l'été) (ADEM ,1995).

➤ Les surfaces

À l'intérieur des locaux les spores ont tendance à sédimenter rapidement sur différents supports. La présence de spores sur les surfaces est ainsi plus durable que dans l'air.

Les surfaces contaminées représentent un réservoir secondaire à partir duquel les spores peuvent être remises en suspension(Savy,2005).

➤ Les travaux de démolition, de construction ou de rénovation

Au sein ou à proximité de l'hôpital peuvent être à l'origine de graves épidémies hospitalières. En effet, lors de ces travaux, tous les champignons filamenteux peuvent être retrouvés, les éléments fongiques présents sont mis ou remis en suspension dans l'air.

Les spores fongiques sont donc présentes en très grand nombre et sont ensuite véhiculées par les vents dominants et les turbulences de l'air. Ainsi, il existe des pics de contamination

aérienne, suivis d'une contamination des surfaces inertes beaucoup moins labile dans le temps, les patients sont exposés lors du pic, ou plus tard lors de la remise en suspension des spores déposées sur les surfaces, sol, mais aussi les murs, les gaines d'aération s'ils n'ont pas fait l'objet entre temps d'un nettoyage rigoureux.

Les champignons potentiellement pathogènes et disséminés lors de ces travaux peuvent être classés des plus fréquents aux plus rares comme suit:

Aspergillus fumigatus en majorité ; *Aspergillus non fumigatus* (*A.flavus*, *A.niger*, *A.terreus*, *A.nidulans*...)

Les travaux de moindre ampleur ne doivent pas être négligés, la démolition des cloisons, le changement des fenêtres, l'installation de matériel coupe-feu.....peuvent être la cause d'épidémies si aucune précaution n'est prise (Lidwell ,1983 ;Anonyme 5, 2011).

➤ **Le système de distribution en eau à l'hôpital:**

Est le siège de proliférations des moisissures si plusieurs facteurs sont réunis: température favorable, présence de nutriments, de tartre ou de corrosion des canalisations, stagnation de l'eau (Lamrani, 2005).

➤ **Les dispositifs médicaux:**

Plusieurs types d'équipements génèrent des aérosols: les dispositifs médicaux (oxygénothérapie), les microgouttelettes ainsi générées sont le support de micro organismes aéroportés (Lamrani, 2005).

➤ **Autres sources environnementales**

D'autres sources de contamination ont été publiées :

- La nourriture : des spores d'*Aspergillus* ont pu être mis en évidence dans des sachets de poivre moulu (De Bock *et al .*, 1989), et dans le thé. Ces aliments sont exclus de l'alimentation des patients à risque aspergillaire (Nicolle *et al .*, 2002);
- Le terreau des plantes (Summerbell *et al .*, 1989; Lass-Flörl *et al.*, 2000);
- Les matériaux de construction humides à base de cellulose (placoplâtre, tuiles acoustiques, bois) (Anonyme4, 2002);
- Les matériaux contaminés par des fientes d'oiseaux près des entrées d'air extérieur des systèmes de ventilation (Burton *et al.*, 1972) ;

- Le compost dans lequel il a été retrouvé une grande quantité d'espèces de champignons. Les copeaux de bois semblent y être la source principale d'*Aspergillus fumigatus* (ADEM, 2002);
- Les climatiseurs poussiéreux (Lentino *et al.*, 1982).

2.4- Mesures de prévention

2.4.1- Mesures de prévention concernant l'environnement

Les maladies causées par des champignons de l'environnement sont des maladies difficiles à prévenir et à diagnostiquer. Le diagnostic intervient souvent tardivement et les traitements antifongiques ne sont pas toujours efficaces. C'est pourquoi il est indispensable de mettre en place des mesures de prévention afin de d'éviter la contamination de ces personnes à risque. Les organismes faisant autorité en matière de prévention, optent pour la prudence dans leurs recommandations et proposent une série de mesures préventives destinées à réduire l'incidence des infections nosocomiales environnementale (Savy, 2005).

A- Mesures de prévention concernant l'air

L'ANAES recommande de placer les patients à haut risque aspergillaire dans un «environnement maîtrisé» associant une filtration haute efficacité HEPA (High Efficiency Particulate Air), efficacité 99,9% sur les particules de diamètre 0,3 µm) à un flux laminaire d'air, une surpression et un Haut Renouvellement d'Air (HRA, supérieur à 20 volumes par heure), avec des procédures d'accès du matériel et des personnes. Une étude d'Alberti en 2001 confirme l'efficacité des systèmes de traitement HEPA associés à un flux laminaire d'air. Aucun champignon n'est détecté dans l'air ou sur les surfaces des pièces où ce type de traitement d'air est présent. Par contre, en accord avec d'autres auteurs, il indique que le système de filtration HEPA seul s'avère moins protecteur puisque des champignons ont été retrouvés. L'utilisation de chambres à flux laminaire est indispensable pour les patients subissant une greffe de moelle.

L'incidence des aspergilloses invasives y est de 2,7 % contre 11% pour les patients qui ne peuvent en bénéficier (Auboyer *et al.*, 1998).

Ces mesures ne constituent pas une sécurité absolue puisque le patient peut avoir été préalablement colonisé. De plus, une contamination reste possible lors de la sortie inévitable du patient pour des examens.

Les changements de filtre exposent également à des disséminations de spores et nécessitent des précautions particulières: ils ne se font jamais en présence des patients.

B- Mesures de prévention particulières en cas de travaux

Les travaux majorent considérablement le risque de contamination de l'environnement par la mise en suspension de spores en très grand nombre, notamment par l'intermédiaire des poussières. Etant donné le caractère indispensable des travaux, il est essentiel de renforcer les mesures de prévention généralement mal connues des administrations hospitalières.

L'AP-HP a proposé dès 1993 des mesures permettant la prévention de l'aspergillose, en fonction du type de travaux, de la localisation du service concerné, et de type de patient pris en charge. Un niveau de risque (allant de 1 à 5) est déterminé en fonction du type de travaux (extérieur de gros œuvre, intérieur de gros œuvre, intérieur d'aménagement et de maintenance) et de leur localisation par rapport aux services hébergeant des patients à risque. Suivant ce niveau de risque, les mesures proposées sont des mesures de protection ou de fermeture pour les services à risque et des mesures d'isolement pour les travaux.

Un document a été établi plus récemment par la direction générale de la santé publique du Canada (Infections nosocomiales chez les patients d'établissements de santé liées aux travaux de construction, 2001). Il définit 4 niveaux de travaux de construction qui peuvent se dérouler à l'intérieur d'un établissement et 4 catégories de risque d'après la population et l'emplacement géographique. On obtient au final 4 classes de niveau de risque, chacune présente des mesures de prévention adaptées qui visent un type de personnel particulier: les ingénieurs, le personnel de maintenance et les entrepreneurs, les services d'entretien et le personnel médical et infirmier.

Ces deux guides reprennent dans l'ensemble les mêmes mesures, en revanche c'est la technique d'évaluation du niveau de risque qui varie. Les mesures préventives doivent être prises avant, pendant et après la période de travaux. Les principales mesures préventives sont les suivantes :

➤ L'élimination de la poussière

Réduction de la dispersion de poussière par vaporisation d'eau sur les surfaces (travaux d'extérieur), fermeture des fenêtres (en particulier des services proches des travaux ou sous vent dominant), nettoyage des surfaces avec un désinfectant antifongique, mise en place d'écran antipoussière étanche Le contrôle de la ventilation: fermeture du système de

ventilation dans l'aire de construction ou de rénovation, vérification des filtres (changement ou nettoyage), maintien des zones en travaux en pression négative (travaux d'intérieur);

➤ **L'élimination des débris et nettoyage**

Élimination des débris et nettoyage de la zone de travaux de manière régulière, placement des débris dans des contenants fermés ou recouvrement des contenants d'une bâche humide avant de les transporter en vue de leur élimination;

➤ **Circulation**

Établissement et affichage d'un plan de circulation des matériaux, des camions et engins de chantier dans l'hôpital mais également des ouvriers, du personnel soignant et des patients;

➤ **La réduction des risques pour les patients**

L'identification des patients à haut risque pour les éloigner de la zone de travaux où utilisation des équipements permettant de les protéger de la poussière (système de filtration efficace).

C- Mesures de prévention concernant l'eau

Anaissie, Panagopoulou *et al.*, (2002) proposent des solutions simples et peu coûteuses pour minimiser l'exposition des patients à haut risque fongique au risque lié à l'eau:

- Le maintien de l'eau chaude du réseau à une température supérieure à 60°C (mesure qui s'avère très efficace pour la prévention du développement des légionelles);
- L'utilisation de filtres terminaux (diamètre des pores de 0,2 µm).

Une autre étude de Anaissie *et al.*, (2002), montre que le nettoyage des surfaces des douches (juste après la prise de douche) peut être associé à une réduction significative de la concentration en champignons filamenteux dans l'air, notamment en ce qui concerne le genre *Aspergillus*.

2.4.2- Mesures de prévention concernant les patients

La conférence de consensus organisée par la Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH) et l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé (ANAES) en 2000 sur la prévention du risque chez les patients immunodéprimés dans les services d'hématologie et de transplantation repose sur trois grandes mesures d'efficacité inégale :

- Le maintien des patients à haut risque dans un environnement protégé par le traitement de l'air et la décontamination des surfaces (isolement protecteur);
- La prévention de la colonisation par *Aspergillus* à l'aide de fongostatiques;
- L'amélioration des moyens de défense de l'hôte.

➤ **Maintien des patients à haut risque dans un environnement protégé**

Les patients sont placés dans un environnement maîtrisé muni d'un système HEPA, associé à un flux laminaire et à un HRA.

Le service dont dépendent les chambres des patients à risque doit être isolé par un sas d'entrée en surpression par rapport à l'extérieur, de même que les chambres elles-mêmes.

Les équipements occupant les chambres doivent être réduits au strict minimum, facilement lavables et désinfectables.

Le bionettoyage des chambres répond à des protocoles écrits et validés: port d'une charlotte, d'un masque, d'une casaque, de couvre-chaussures et de gants pour toute personne pénétrant à l'intérieur de la chambre; ménage 2 à 3 fois par jour en présence du patient; évacuation du linge sale et des objets souillés par un sas spécial (le propre ne croisant jamais le sale); ménage complet après la sortie du patient.

Les portes et fenêtres de la chambre doivent être fermées de manière étanche. Les plantes vertes ou fleurs coupées sont interdites, de même que les aromates susceptibles d'être contaminés par des spores aspergillaires (thé, poivre, fruits). Les visites doivent être restreintes en nombres et soumises au port d'un masque, d'une casaque, de couvre-chaussures avec lavage et désinfection des mains.

La sortie transitoire du patient du flux pour un examen, ne peut être envisagée qu'après avoir évalué le rapport bénéfice/risque. Le patient doit alors être protégé pendant cette sortie par un masque haut efficacité, une charlotte, une casaque et des couvre-chaussures.

Matériel et méthodes

3. Matériel et méthodes

Le présent travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Mycologie et de parasitologie de l'Etablissement Hospitalier Didouche Mourad, Constantine, il porte sur la détermination de la flore fongique au niveau du service d'Oncologie Médicale. C'est une étude prospective descriptive qui a été menée sur une période de 02 mois allant d'Avril à Mai 2018.

3.1- Description du service d'Oncologie Médicale

Ce service est constitué de quatre unités :

- 1) Unité d'hospitalisation hommes.
- 2) Unité d'hospitalisation femmes.
- 3) Unité d'hôpital du jour avec 12 fauteuils de chimiothérapie.
- 4) Unité douleurs avec quatre lits.

Le service d'Oncologie Médicale dispose de trente lits d'hospitalisation pour des cures de chimiothérapie variant de 24H à cinq jours. La plus grande activité du service d'Oncologie Médicale est au niveau de l'hôpital de jour avec un taux d'occupation dépassant les 30% par jour (annexe 1).

3.2- Prélèvements des échantillons

3.2.1- Description des sites de prélèvement

Les prélèvements des échantillons sont effectués au niveau de différentes salles du service d'Oncologie Médicale à savoir ; cinq chambres d'hospitalisation dont trois sont pour les Femmes (6, 7, 9) et deux pour les Hommes (11, 12); salle des paramédicaux (préparation de la chimiothérapie) et l'Hôpital de jour (salle de chimiothérapie plus chambre de stock). Ces prélèvements sont effectués le matin, au moment de la réalisation des différents soins journaliers des malades. Pour chaque salle, différents sites sont choisis pour les prélèvements de surfaces, ces sites sont les plus susceptibles au dépôt de spores fongiques, c'est-à-dire les surfaces planes, en hauteur ou à proximité des grilles d'aération, en l'occurrence ; le dessus du néon ; semi de lit et rebord ; table de nuit, paillasse, potence, draps, toilette, porte, table à manger, poignée de porte, climatiseur, réfrigérateur, chariot de traitement, chariot de préparation de la chimiothérapie (tableau 2). Chaque échantillon prélevé est accompagné d'une fiche de prélèvement (annexe 2) comportant les informations suivantes : jour, heure, climat, lieu, et sites de prélèvements. Les figures ci-dessous montrent les différents sites de prélèvement de quelques salles du service d'Oncologie Médicale.

Tableau2 Lieux et sites d'échantillonnage.

Lieux	Sites d'échantillonnage
Chambres d'hospitalisation	Poignet de porte, paillasse, table de nuit, table à manger, toilette, climatiseur, réfrigérateur, lit, cache néon, tuyaux, potence
La salle des paramédicaux	Table de préparation de la chimiothérapie, armoire de traitement, chariot de préparation de la chimiothérapie, table, poigner de porte, réfrigérateur, chariot de tension, étagère de dossier, potence.
L'hôpital de jour	Tuyaux, chariot de tension, climatiseur, chariot administratif, chariot de traitement, chambre de stock, poigner de porte, armoire de traitement, potence.

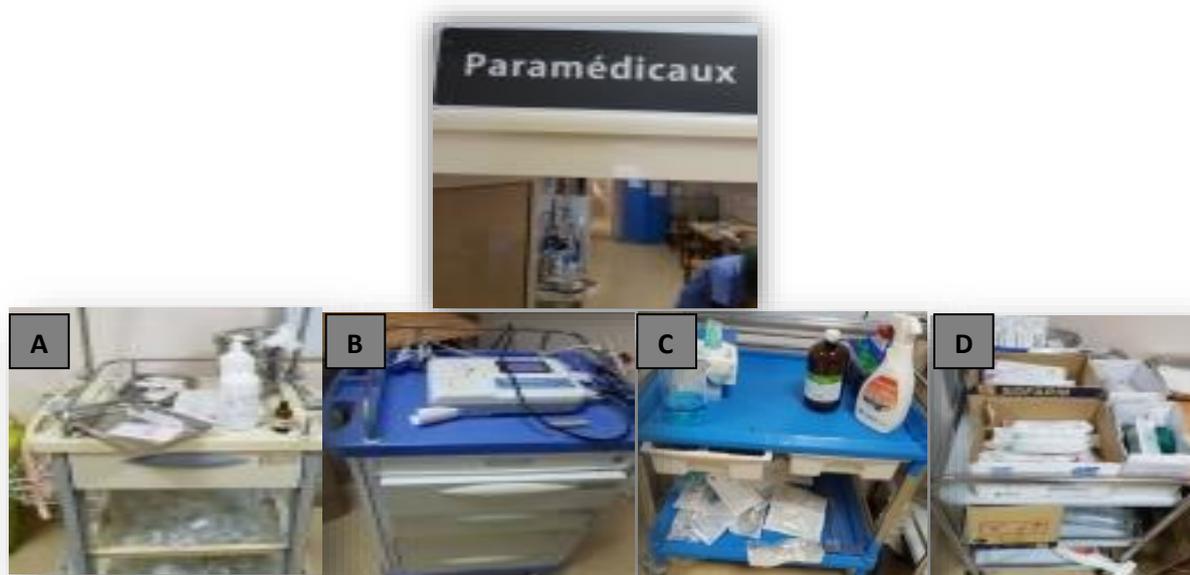


Figure 5 Sites d'échantillonnage de la salle des paramédicaux: (A) Chariot de traitement ; (B) Chariot de tension ; (C) Chariot de préparation de la chimiothérapie; (D) Table de préparation de la chimiothérapie.



Figure 6 Sites d'échantillonnage de l'hôpital de jour : (1) Chariot de traitement ; (2) Chambre de stock ; (3) Chariot de tension ; (4) Étagères des dossiers; (5) Armoire de traitement

3.2.2- Méthode de prélèvement des échantillons

Les prélèvements sont réalisés par simple écouvillonnage à l'aide d'écouvillon stérile et sec. L'écouvillonnage est effectué par passage sur une surface de 25cm² en stries parallèles rapprochées, en faisant tourner légèrement l'écouvillon. L'écouvillonnage de la même zone est répété par des stries perpendiculaires aux premières.

Une fois les prélèvements réalisés, tous les écouvillons sont scellés pour prévenir une contamination ultérieure ; ils sont ensuite acheminés rapidement au laboratoire central : unité de Mycologie et de Parasitologie Médicale pour empêcher une perte de viabilité de l'échantillon, ce qui empêcherait une bonne identification.

3.3- Mise en culture des prélèvements

La mise en culture est réalisée par ensemencement sur un milieu de culture spécifique ; gélose Sabouraud-chloramphénicol afin d'inhiber la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif et favoriser le développement des moisissures et levures. Les écouvillons portant les prélèvements de surfaces, ont servis à ensemercer directement les boîtes de Pétri contenant les deux géloses en question. Les boîtes sont incubées à température ambiante jusqu'au développement apparent de colonies.

3.4- purification des isolats obtenus

Pour la purification, il suffit de prélever, avec une anse stérile, un fragment mycélien à la marge du thalle, et de transférer l'inoculum sur un milieu neuf. Pour obtenir un développement typique du champignon, l'inoculation est réalisée en seul point, en déposant la bouture au centre du milieu de culture en boîte de Pétri contenant déjà le milieu (Botton *et al.*, 1990). Des repiquages consécutifs accompagnés d'observations microscopiques ont permis d'obtenir des cultures pures.

3.5- Identification des isolats obtenus

L'identification des champignons est basée sur la détermination de leurs caractères macroscopiques et microscopiques, un test de chlamydosporulation est effectué pour les champignons levuriformes.

3.5.1- Identification macroscopique

Elle repose sur la détermination des caractères suivant :

- L'aspect des colonies : les colonies peuvent avoir une texture lisse, brillante, laineuse, poudreuse, cotonneuse, duvuteuse, veloutée, granuleuse ou encore glabre.
- La forme des colonies.
- La consistance qui peut être molle, friable ou dure ;
- La taille des colonies.
- La coloration des colonies à l'endroit et à l'envers des cultures avec la présence ou l'absence de pigment diffusible sur la gélose ;
- La vitesse de la croissance et l'évolution du mycélium.

3.5.2- Identification microscopique

Une préparation appropriée du matériel (fragments de colonies ou technique du drapeau avec du scotch) est déposée entre lame et lamelle avec une goutte de colorant (bleu de lactophénol) et ensuite observée au microscope optique.

La lecture se fait au microscope optique au grossissement(x10) pour visualiser le meilleur champ de lecture et déterminer la longueur des filaments pour certaines espèces, puis au grossissement (x40) qui permet de bien préciser les éléments d'identification (les filaments mycéliens, les spores et les levures bourgeonnantes). Parfois le grossissement (x100) est nécessaire pour avoir plus de détails. Plusieurs critères sont à déterminer lors de cette lecture microscopique en l'occurrence :

- L'apparence et la disposition de l'ensemble des mycéliums :
 - Le thalle végétatif : septé ou siphonné ;
 - La couleur du thalle : hyalin et clair ou foncé et mélanisé.
- La morphologie des cellules spécialisées produisant les spores observées.

Tous ces éléments font partie des critères taxonomiques nécessaires à l'identification des moisissures.

3.5.3- Test de chlamydosporulation

La chlamydosporulation se fait sur milieu RAT (Rice Agar Tween 80) ou AT (Agar Tween 80) ou PCB (Pomme de terre, Carotte, Bile), en semi-aérobie, après ensemencement et incubation à 27°C pendant 24 à 48 heures. Après l'examen microscopique, un pseudo-mycélium seul, il s'agit d'une espèce non *albicans* du genre *Candida*.

Si une pseudo-filamentation et des chlamydospores sont observés, il s'agit de l'espèce *Candida albicans*. Dans le cas où la présence de *Candida albicans* n'a pas été déterminé, il faut poursuivre l'identification.

3.6- Conservation des souches fongiques

Une fois purifiées, toutes les souches fongiques obtenues sont conservées dans des tubes à essais stériles inclinés contenant le milieu SABC (Dévêt et Rouxel, 1997). Les tubes sont ensemencés par la colonie pure, laissés se développer 48h puis stockés au réfrigérateur à 4°C (Botton *et al.*, 1990).

Résultats et discussion

4. Résultats et discussion

Le présent travail porte sur l'isolement et la caractérisation des différents contaminants fongiques isolés à partir de plusieurs sites appartenant au service d'Oncologie Médicale de l'EH Didouche- Mourad à Constantine.

4.1- Prélèvements et mise en culture des échantillons

Le service d'oncologie de l'EH de Didouche Mourad est un service polyvalent ouvert à différents type de Cancers et équipé de matériel adéquat pour les traitements appropriés. Ce service est classé en **zone 4**, zone où les exigences d'hygiène doivent être en cohérence avec le degré d'asepsie. L'isolement de la flore fongique effectué sur gélose SABC a montré la présence d'un nombre élevé de souches fongiques et ce, à partir des différents sites étudiés. En effet, 409 isolats fongiques sont obtenus au cours des deux mois d'étude (**tableau3**).

Tableau 3 Répartition des isolats au niveau des différents sites d'échantillonnage des chambres d'hospitalisation.

Lieux	Sites et nombres d'isolats										
	Poignet de porte	Paillasse	Table de nuit	Table à manger	Toilette	Lit	Cache néon	Réfrigérateur	Climatiseur	Porte de balcon	Potence
Chambre n=6(F)	3	3	2	4	12	8	4	3	1	2	/
Chambre n=11(H)	7	4	10	6	6	12	6	3	3	7	4
Chambre n=7(F)	1	4	8	4	*	8	6	6	2	5	/
Chambre n=12(H)	3	3	7	2	3	7	4	3	5	3	-
Chambre n=9(H)	5	2	9	2	7	12	5	4	3	5	-

(*)Hors service, (/) Non disponible, (-) Négative,(F) Femme,(H) Homme.

Tableau 4 Répartition des isolats au niveau de différents sites d'échantillonnage de la salle des Paramédicaux.

Lieux	Sites et nombres d'isolats									
	Table chimio	Armoire traitement	Chariot chimio1	Chariot chimio 2	Table	Poigner de porte	Chariot de tension	Réfrigérateur	Chariot traitement	Étagères dossiers
Paramédicaux	4	7	7	8	4	4	7	5	7	6

Tableau 5 Répartition des isolats au niveau de différents sites d'échantillonnage d'hôpital de jour.

Lieux	Sites et nombres d'isolats											
	Tuyaux	Armoire traitement	Chariot 1	Chariot 2	Chariot 3	Lit	Étagères de traitement	Potence	Chariot de tension	Climatiseur	Chambre de stock	Étagères dossiers
Hôpital de jour	3	7	5	8	5	3	3	3	6	2	5	6

4.2- Identification des isolats obtenus

L'étude macroscopique et microscopique, effectuée sur l'ensemble des isolats fongiques obtenus, a montré que les moisissures sont beaucoup plus fréquentes que les levures. Parmi les genres les plus dominants des moisissures on note : le genre *Cladosporium* 187 isolats soit (46,2%) et *Penicillium* 71 isolats soit (17,5%) suivi par *Alternaria* 22 isolats soit (5,4%), *Beauveria* 20 isolats soit (4,9%) *Aspergillus* 18 isolats soit (4,4%), *Acremonium* 10 isolats soit (2,5%), *Chrysosporium* 7 isolats soit (1,7%) et enfin *Scopulariopsis* 6 isolats soit (1,5%). Cependant, un seul genre levurien a pu être identifié, il s'agit de *Rhodotorula* 5 isolats avec un pourcentage de 1,2% (**Figure 7**) (**Tableau 6**).

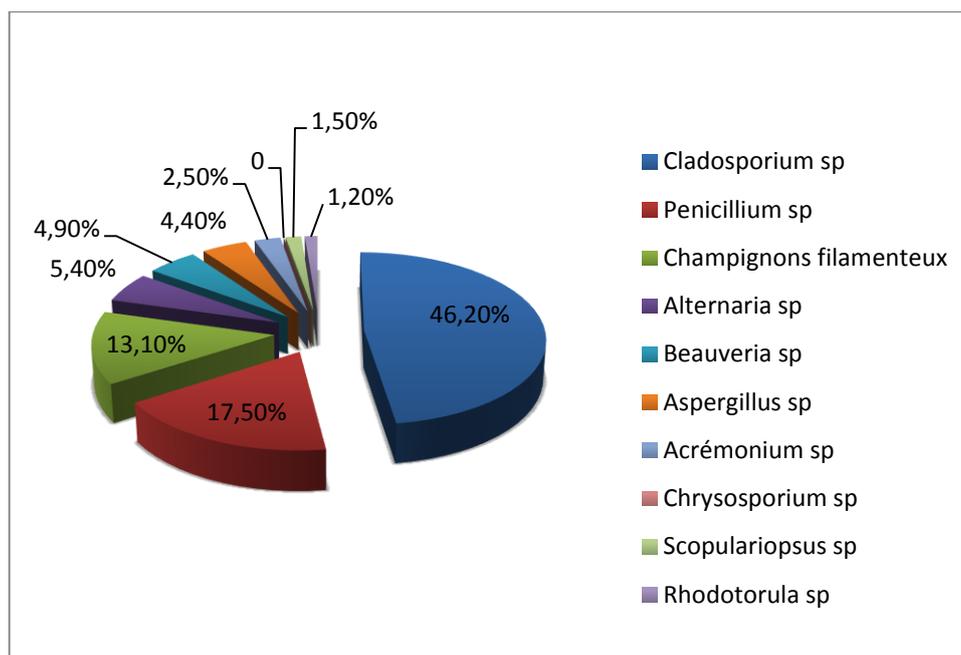


Figure 7 Répartition de la flore fongique obtenue au niveau du service d'Oncologie Médicale.

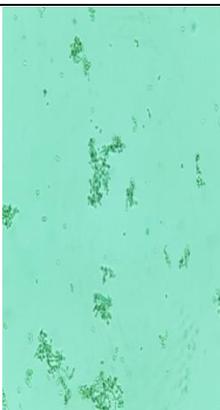
Il est remarquable que le pourcentage obtenu du genre *Aspergillus* est relativement faible notant une absence totale de l'espèce *fumigatus*, cette constatation est similaire à celle de Savy, (2005) faite lors de son étude au niveau du service d'Hématologie adulte du CHU de Poitiers, où : 6,8 % de prélèvements d'air positifs à *Aspergillus sp*, et aucun *Aspergillus fumigatus* n'a été isolé.

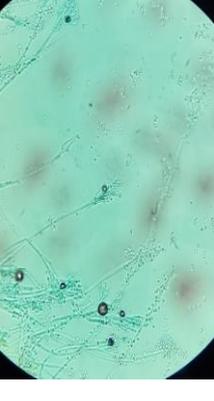
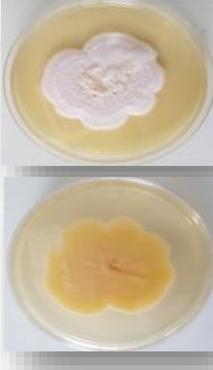
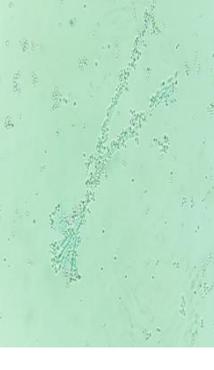
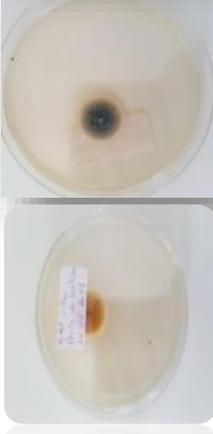
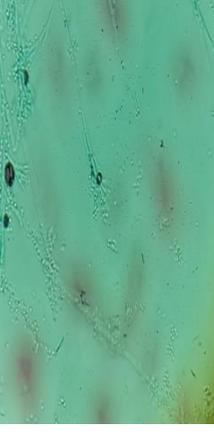
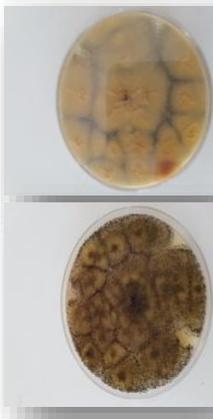
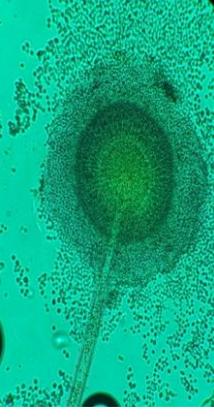
Une étude effectuée par Pakchiret *al.*, (2007), portant sur la détermination des aérocontaminations fongiques au sein de deux hôpitaux généraux Shiraz et Southern à Iran, a montré que *Cladosporium* était le genre le plus dominant dans les chambres à haut risque suivi par *Penicillium* et *Aspergillus niger*. Ces résultats s'approchent de ceux trouvés dans le présent travail.

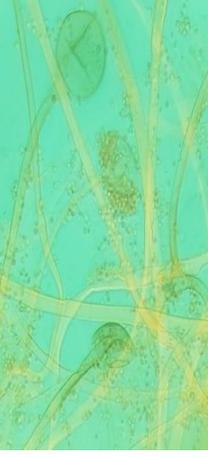
Dans une autre étude, faite au niveau des services d'hospitalisation à haut risque d'infections fongiques (Oncologie pédiatrique, réanimation, néonatalogie, chirurgie pédiatrique, cancérologie) au CHU Aristide Le Dantec de Dakar (Sénégal), il s'est avéré que les genres les plus fréquents sont *Cladosporium* (91,1 %), *Aspergillus* (86,6 %) *Penicillium* (71,1 %) et *Candida* (57,7 %), cependant, les genres *Fusarium* et *Mucor* sont les plus faibles (4,4%) (Diongue *et al.*, 2014).

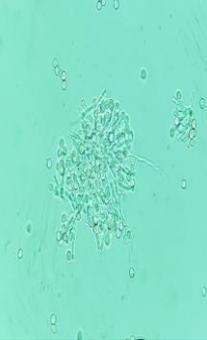
Il est à noter que 13% de moisissures et 1,4% de levures n'ont pas pu être identifiés en se basant uniquement sur leur critères macro et microscopiques, des techniques plus performantes sont nécessaires à leurs identification (séquençage du gène 18SrDNA). Le tableau suivant, résume les aspects macroscopiques et microscopiques des 14 genres fongiques obtenus.

Tableau 6 l'identification macroscopique et microscopique des genres fongiques obtenus.

Observation macroscopique (Recto et verso)	Aspect macroscopique	Observation Microscopique	Aspect microscopique	Identification Présumée
	<p>une texture poudreuse. La couleur va du vert olive au brun noir trop foncé, et le revers est brun noir.</p>		<p>Conidiophores uni ou pluricellulaires en chaînes acropètes conidies elliptique.</p>	<p><i>Cladosporiumsp1.</i></p>
	<p>une texture veloutée. La couleur va du vert olive au brun noir trop foncé, et le revers est brun noir.</p>		<p>Conidiophores uni ou pluricellulaires en chaînes acropètes conidies elliptique.</p>	<p><i>Cladosporiumsp2.</i></p>

	<p>Les colonies d'aspect poudreux, prennent une teinte brune, revers jaune à pale</p>		<p>Le mycélium est septéconidiophore est septé et porte des phialides, Les conidies forment de longues chaînes irrégulières</p>	<p><i>Penicillium sp1.</i></p>
	<p>Veloutée à poudreuse, Pas de pigment, revers jaune à pale.</p>		<p>Le mycélium est septéconidiophore est septé et porte des phialides, Les conidies forment de longues chaînes irrégulières.</p>	<p><i>Penicillium sp2.</i></p>
	<p>Surface poudreuse, blanche à bleu-vert Revers incolore à jaunâtre.</p>		<p>le mycélium est septéconidiophore est septé et porte des phialides, Les conidies forment de longues chaînes irrégulières.</p>	<p><i>Penicillium sp3.</i></p>
	<p>colonies noirâtres granuleuses, verso incolore à jaune pale</p>		<p>Tête aspergillaireconidienne radiées,bisériée, noires à maturité.</p>	<p><i>Aspergillus niger.</i></p>

	<p>Colonie laineuse, varie du brun au gris en surface. Revers : noir, incolore au centre. Colonies envahissent quasi- totale les boites</p>		<p>Filaments large peu ou pas septés. Spores rondes à ellipsoïdales, lisses ou ornementées de spicule</p>	<p><i>Mucor sp.</i></p>
	<p>Colonies laineuse, brun sombre, le verso incolore ; envahissent quasi- totale les boites</p>		<p>Filaments large pas septés, les sporocystes foncés, la présence de rhizoïdes, et l'abondance des chlamydo spores.</p>	<p><i>Rhizomucor sp.</i></p>
	<p>Colonies cremeuses, rose à rouge saomon, lisse à plissée.</p>		<p>Petites cellules (levures) ovoïde à allongées.</p>	<p><i>Rhodotorula sp.</i></p>
	<p>Les colonies finement poudreuses ou humides et muqueuses de couleur blanche</p>		<p>Conidies unicellulaire disposés en amas</p>	<p><i>Acremonium sp.</i></p>

	<p>Colonie d'une texture duveteuse a laineuse, d'une couleur foncé. Revers: foncé.</p>		<p>Les conidies sont brunes, pluricellulaires d'aspect ovoïde.</p>	<p><i>Alternaria sp.</i></p>
	<p>Colonie aplatie, blanche revers incolore.</p>		<p>Nombreuses microconidies ovoïdes.</p>	<p><i>Fusarium sp.</i></p>
	<p>Colonies blanches floconneuses avec un verso jaunâtre.</p>		<p>Conidies unicellulaire disposées en grappes au sommet de cellules conidiogènes</p>	<p><i>Beauveria sp.</i></p>

Le genre *Cladosporium* est largement retrouvé dans le sol et sur de nombreux végétaux, Il est souvent isolé à partir de l'air ambiant. Cette moisissure se caractérise par une texture veloutée parfois poudreuse et une couleur variant entre le vert olive et le brun noir. Sous microscope, les conidies sont de petites ou grandes taille uni ou pluricellulaires de forme elliptique à cylindrique (Chabasse, 2009). Selon le même auteur, *Penicillium sp*, qui est un champignon ubiquiste, se caractérise par des colonies poudreuse souvent bleu-vertes bien que certaines espèces sont de couleur brune et d'un revers jaune à pale. Les hyphes septés et hyalins,

portent des conidiophores simples ou ramifiés. Les conidies, portées par les phialides, sont rondes à ovoïdes mesurant de 2 à 4 µm.

Parmi les genres fongiques aussi retrouvés dans cette étude, on note *Alternaria* et *Beauveria*. Le premier se caractérise selon Boutton *et al.*, (1996) par des colonies à croissance rapide de couleur blanche-grise au départ puis devient rapidement verte-foncée. Les hyphes sont septés et ramifiés, les conidiophores sont cloisonnés simple ou ramifiés avec des conidies brunes, pluricellulaires d'aspect piriforme ou ovoïde. Le deuxième est connu par sa croissance assez rapide, ses colonies sont blanches et poudreuses laineuses ou veloutées avec un verso incolore jaunâtre. Les filaments portent des cellules conidiogènes agrégées en bouquets denses, les conidies sont unicellulaires, hyalines et lisses globuleuses ou subglobuleuses.

Selon le même auteur, les *Aspergillus* sont des champignons filamenteux ubiquitaires, cosmopolites très abondants dans l'environnement (sur le sol, meubles, vêtement et climatiseur), ils sont saprophytes sur les matières organiques en décomposition. Les spores aspergillaires sont disséminées dans l'atmosphère. Ces colonies ont une teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces. Au recto, les colonies sont de couleur grise-verte pour *A. fumigatus*, verte-jaune pour *A. flavus*, jaune puis noire pour *A. niger*. L'identification du genre *Aspergillus* repose principalement sur la mise en évidence de têtes aspergillaires sous microscope.

Par ailleurs, le genre *Acremonium* est caractérisé par des colonies humides et muqueuses de couleur blanche au rose orangée. Ses filaments sont septés et ses spores sont cylindriques ou elliptiques, regroupées en amas à l'extrémité des phialides (Bastides, 2010).

Dans une autre étude, Chabasse, (2009) décrit le genre *Mucor* comme étant un champignon cosmopolite très répandu, appartenant aux zygomycètes. Il se caractérise par des colonies à croissance très rapide et extensive avec une texture laineuse, de couleur variant du gris au brun à la surface avec un verso incolore. Sur le plan microscopique les espèces du genre *Mucor* possèdent des filaments larges septés ou pas, des spores rondes et ellipsoïdales lisses ou ornementées de spicules. Cependant, le genre *Rhizomucor* possède des spores globuleuses lisses et hyalines ainsi que des rhizoïdes.

Dans le présent travail, le genre *Fusarium* est celui qui a été retrouvé le moins, il se distingue des autres genres par des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variables (blanche, crème, jaune, rose, rouge et violettes, selon les espèces), son identification microscopique est basée sur l'aspect des conidies qui peuvent être des macroconidies, des microconidies, des mésoconidies ou des chlamydospores (Chabasses, 2009).

Toutes les observations citées ci-dessus corroborent celles obtenues dans la présente étude, ce qui nous a permis de faire une identification présumée des genres en question.

Dans ce qui suit, les résultats vont être présentés et interprétés, dans une première partie, par rapport aux différents lieux visés et dans une seconde étape par rapport aux sites choisis pour chaque lieu.

Cette étude a montré que la plupart des genres fongiques retrouvés, sont les mêmes au niveau des trois lieux ciblés à savoir : hôpital du jour ; salle des paramédicaux et chambres d'hospitalisation (6, 7, 9, 11, 12) avec prédominance des moisissures par rapport aux levures. Il faut souligner que la plupart des genres fongiques obtenus sont les mêmes pour toutes les chambres ainsi que leurs proportions; *Cladosporium*, suivi de *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* et *Beauveria*. Ces résultats corroborent ceux de Pakchiretal., (2007).

Dans le présent travail, plusieurs sites sont choisis pour les prélèvements, en l'occurrence: le cache néon ; semi de lit et rebord ; table de nuit, paillasse, potence, draps, toilette, porte, table à manger, poignée de porte, climatiseur, réfrigérateur, chariot de traitement, chariot de préparation de la chimiothérapie. Les résultats obtenus montrent que les sites les plus contaminés des chambres d'hospitalisation sont les toilettes, les lits et les tables de nuit (**Figure 8**), ceci peut être expliqué par la nature de l'utilisation quotidienne de ces sites. Les genres les plus dominants sont : *Cladosporium*, suivi de *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* et *Beauveria* (**Figure 9**).

Remarque : les figures montrant la répartition des champignons au niveau des différents sites des chambres d'hospitalisation N°6,7,9,12 sont représentées en Annexe 3.

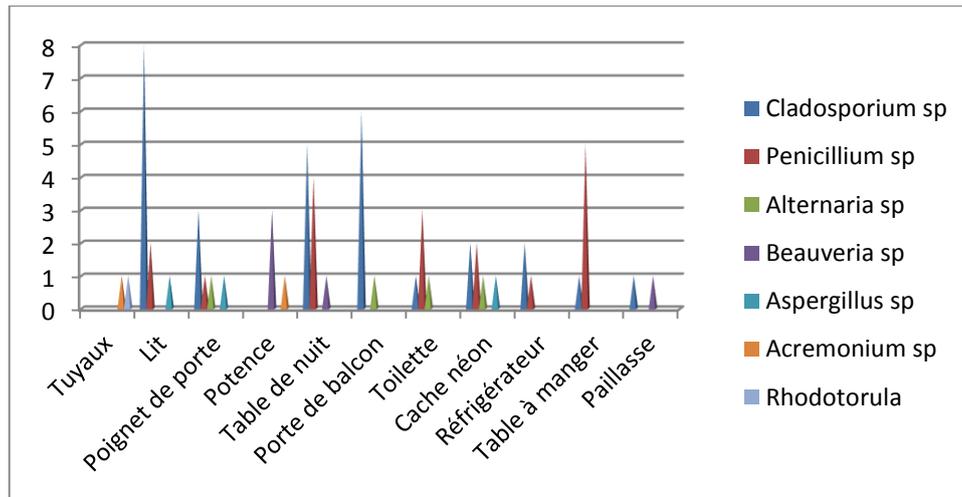


Figure8 Répartition des souches fongiques au niveau des différents sites de la chambre N°11 du service d’Oncologie Médicale.

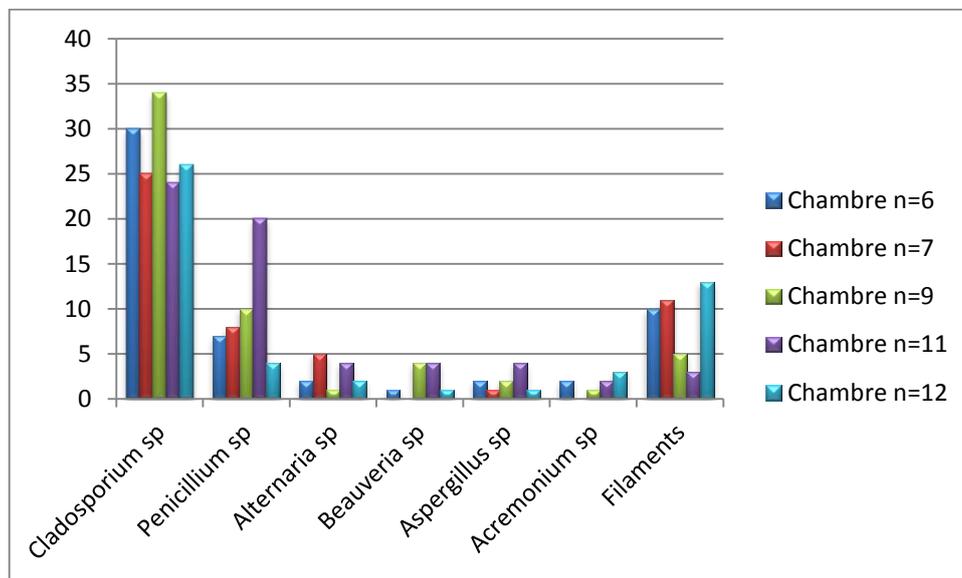


Figure9 Répartition de la flore fongique au niveau de six chambres d’hospitalisation.

D’un autre coté, les prélèvements effectués au niveau de la salle des paramédicaux et l’Hôpital du jour montrent que ce dernier est moins chargé en souches fongiques en comparaison avec la salle des paramédicaux (**Figures 10et11**).

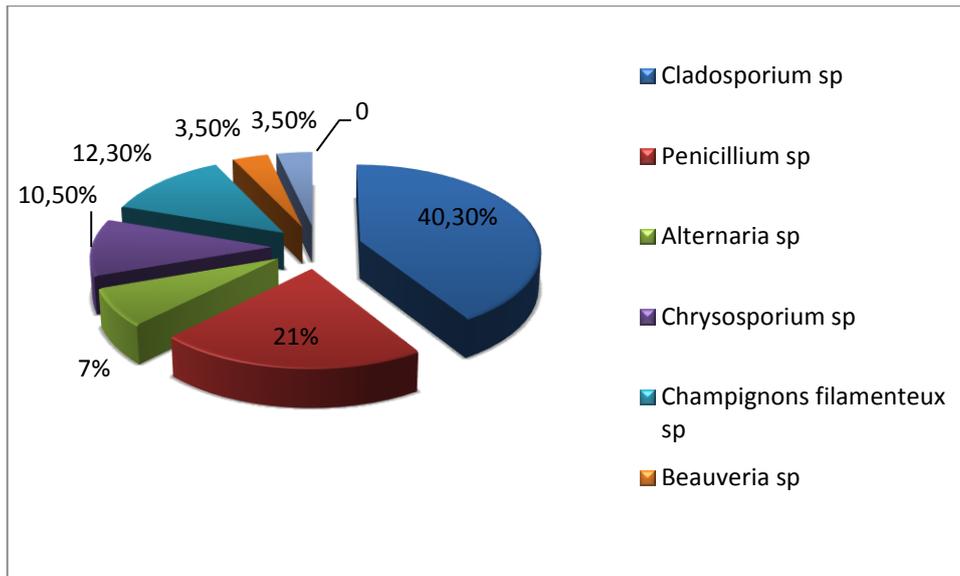


Figure 10 Pourcentage des genres fongiques identifiés au niveau de l'hôpital de jour.

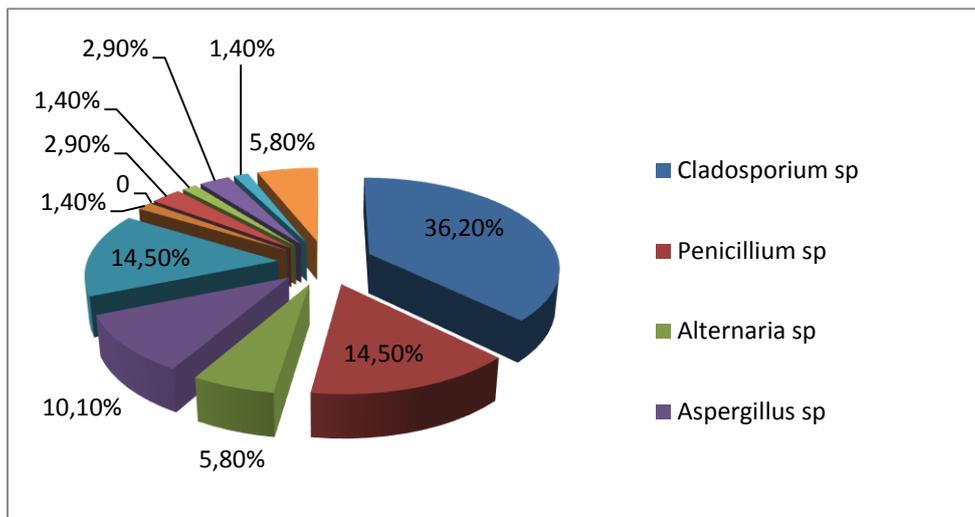


Figure 11 Pourcentage des genres fongiques identifiés au niveau de la salle des paramédicaux.

Cependant, il a été constaté que le genre *Aspergillus* n'est présent qu'au niveau de la salle des paramédicaux contrairement à l'Hôpital du jour où aucune espèce n'a été identifiée. Il est à noter que l'Hôpital du jour reçoit un bio-nettoyage chaque 15 jours au niveau de toutes les surfaces particulièrement, les murs.

Cette étude nous a permis aussi de constater que, les sites les plus contaminés sont les différents chariots de traitement de chimiothérapie et de tension suivi par l'armoire de traitement, les étagères des dossiers et enfin la chambre de stock des sérums (Figures 12 et

13). Ces constatations sont expliquées par le déplacement continu des chariots ce qui les charge en contaminants surtout ceux de l'air, en plus de leur utilisation par différentes personnes du paramédical. Le taux élevé de souches fongiques observé dans la chambre de stock est du à l'humidité et l'absence d'aération, ce qui favorise le développement des moisissures notamment : *Cladosporium* et *Penicillium* (Oktenet al., 2014).

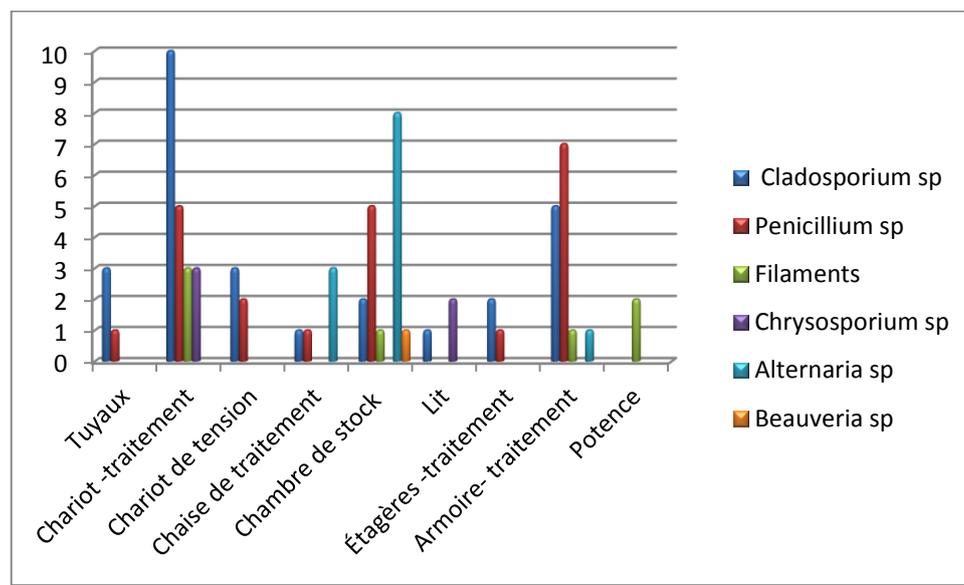


Figure 12 Répartition des différents genres fongiques au niveau de sites étudiés de l'hôpital de jour.

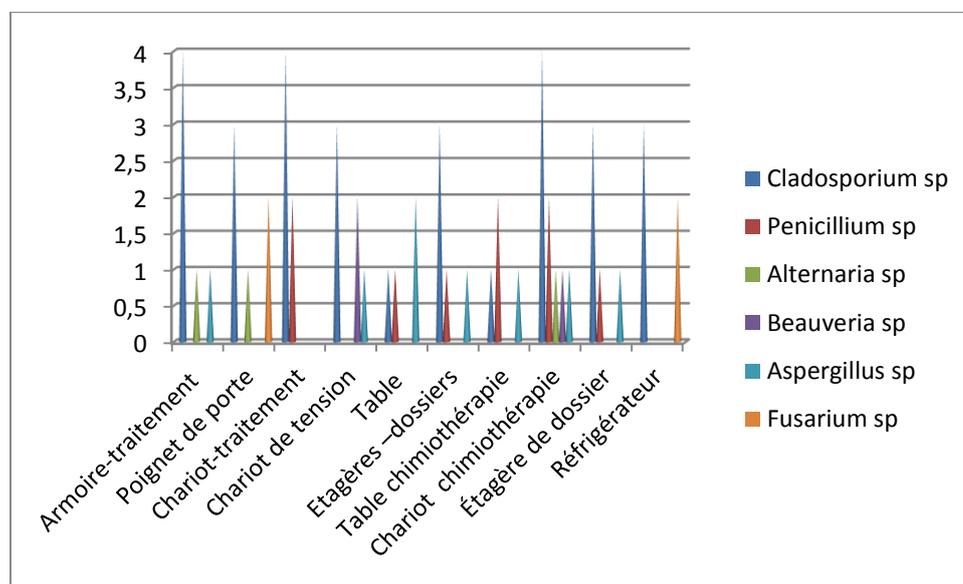


Figure 13 Répartition des différents genres fongiques au niveau de sites étudiés de la salle des paramédicaux.

Il est à noter que parmi les facteurs écologiques influençant la croissance des champignons ; les différentes saisons de l'année. En effet, notre étude a été effectuée au printemps où les températures variaient entre 14 et 23°C. Selon Sautour,(2009), la concentration des moisissures fluctue en fonction des saisons sauf l'*Aspergillus* et le *Penicillium* qui sont à peu près répartis dans les mêmes proportions au cours de l'année.

La présence commune de *Cladosporium* dans tous les échantillons peut être liée à la résistance possible de leurs spores à des conditions d'air sec. *Penicillium* vit dans la nature dans presque tous les habitats ; le taux faible d'isolats de *Penicillium* peut être expliqué par le fait que certaines espèces de *Penicillium* préfèrent des environnements humides donc la possibilité d'isoler ce genre dans les environnements secs est bas.

De même la détermination fongique dans le service d'Oncologie Médical à l'Hôpital Universitaire de Trakya, en Turquie, a montré que, *Cladosporium* et *Alternaria* ont été aussi isolés en grand nombre au cours des mois de printemps (Okten *et al.*, 2014).

En complément, le niveau de contamination dépend de plusieurs paramètres qui peuvent être utilisés pour la maîtrise du développement fongique: l'ancienneté et la conception du bâtiment (défaut d'isolation, présence de ponts thermiques), le système de traitement de l'air (présence d'une filtration absolue), le bio-nettoyage (méthode, fréquence), la présence d'un milieu humide et enfin la saison (Araujo *et al.*, 2008; Tormo-Molina *et al.*, 2012). De plus, les facteurs physiques de l'environnement (humidité, température, oxygène...) constituent un élément déterminant pour l'initiation du développement de la flore fongique. Parmi ceux-ci, le plus important est l'humidité.

La seule façon d'éviter le développement de contaminants fongiques est donc de maintenir une hygrométrie faible dans l'environnement.

Conclusion et perspectives

5- Conclusion et perspectives

Le but de cette étude est de contribuer à la sensibilisation sur les infections fongiques, notamment les infections fongiques invasives qui sont des maladies redoutables dont le risque d'acquisition et le pronostic varient selon les capacités individuelles à mettre en place une réponse anti-infectieuse efficace. Les patients hospitalisés dans les établissements de santé peuvent développer une infection fongique invasive associée aux soins, parmi les plus fragiles tels que ceux traités par chimiothérapie. Le service d'Oncologie Médicale est parmi les services à haut risque d'infections fongiques où aucune étude, portant sur la détermination de sa flore fongique, n'a été effectuée, ce qui nous a encouragés à le choisir comme service pour notre étude.

Dans ce travail, les résultats obtenus ont montré que 95% des cultures effectuées étaient positives ce qui montre que la contamination fongique au niveau du service en question est élevée.

L'analyse mycologique effectuée sur nos échantillons nous a permis d'identifier 14 genres différents de champignons, dont 13 appartiennent aux moisissures et un seul aux levures.

En effet, ces Mycètes font partie de trois grands embranchements à savoir ; les Deuteromycotina, les Ascomycotina et les Zygomycotina.

L'étude macroscopique et microscopique, effectuée sur les 409 isolats fongiques obtenus, a montré que les moisissures sont beaucoup plus fréquentes que les levures. Les genres les plus dominants sont: *Cladosporium* (46,2%), *Penicillium* (17,5%), *Alternaria* (5,4%), *Beauveria* (4,9%), *Aspergillus* (4,4%), *Acremonium* (2,5%), *Chrysosporium* (1,7%), *Scopulariopsis* (1,5%) et enfin *Rhodotorula* (1%)

Rappelons que les unités choisies sont celles d'hospitalisation (hommes et femme) des paramédicaux et de l'hôpital du jour.

Les prélèvements effectués au niveau des cinq chambres d'Hospitalisation montrent que les sites les plus contaminés sont les toilettes, les lits et les tables de nuit. Les genres les plus dominants sont : *Cladosporium*, suivi de *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* et *Beauveria*. D'un autre côté, les prélèvements effectués au niveau de la salle des paramédicaux et l'Hôpital du jour montrent que ce dernier est moins chargé en souches fongiques en comparaison avec la salle des paramédicaux.

Cependant, il a été constaté que le genre *Aspergillus* n'est présent qu'au niveau de la salle des paramédicaux contrairement à l'Hôpital du jour où aucune espèce n'a été identifiée.

Il est à noter que les sites les plus contaminés sont les différents chariots de traitement de chimiothérapie et de tension suivi par l'armoire de traitement, les étagères des dossiers et enfin la chambre de stock des sérums.

En effet, les différents champignons isolés, dans le présent travail, sont des champignons cosmopolites très répandus à l'état saprophytique dans la nature et dont la propagation pour la majorité d'entre eux se fait au moyen des spores; leurs actions est surtout sensibles sur les sujets immunodéprimés.

Cette étude devrait permettre d'attirer l'attention des praticiens hospitaliers et des autorités sanitaires sur l'importance de la surveillance de l'environnement hospitalier afin de prévenir d'éventuelles infections fongiques nosocomiales.

Au terme de cette étude, il serait intéressant de fixer les points suivants comme perspectives:

- Elargir les sites d'échantillonnage en tenant compte des mécanismes d'aérocontamination fongiques, à savoir; la dispersion de l'air et la sédimentation sur les surfaces;
- Etudier l'impacte de l'utilisation du bio-nettoyage sur le développement des champignons ;
- Utiliser des techniques plus performantes afin d'arriver à une identification complète des champignons isolés (séquençages des gènes 18SrDNA...).

Abstract

6- Abstract :

In hospitals, the control of the quality of the ambient air of the hospitalization services is an essential element. Indeed, airborne fungal flora is a real danger for patients hospitalized in the service at risk of nosocomial fungal infections including immunocompromised.

The qualitative and quantitative determination of the fungal flora of the environment of the medical oncology department of the HE of Didouche-Mourad was carried out during the months of April and May 2018. One hundred samples were taken from three units. Within the same service.

A number of 409 fungal isolates were obtained, distributed over 13 genera. The most dominant genera are *Cladosporium* (46.2%), *Penicillium* (17.5%) *Alternaria* (5.4%), *Beauveria* (4.9%), *Aspergillus* (4.4%), *Acremonium* (2.5%) and *Rhodotorula* (1%).

At the level of the five hospitalization rooms, the results show that the most contaminated sites are beds (47 fungal isolates), night tables (36 fungal isolates), and toilets (28 fungal isolates, the most dominated genera). are: *Cladosporium*, followed by *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* and *Beauveria*.

In addition, the samples taken at the Hospital of the day and the paramedical room show that the latter is much more loaded fungal strains in comparison with the day hospital. It is important to note that 7 species of *Aspergillus niger* were found only at the paramedical room level, unlike at the Hospital of the day when no species was identified.

Finally, it was found that the most contaminated sites are the different chemotherapy trolleys (15 fungal isolates) and tension (13 isolates) followed by the cabinet (14 isolates) of treatment (25 isolates), the shelves of the files (12 isolates) and finally the stock chamber of sera (8 isolates)

ملخص

7- الملخص:

في المستشفيات ، يعد التحكم في جودة الهواء المحيط لخدمات المستشفى عنصراً أساسياً. في الواقع ، تعتبر النباتات الفطرية المحمولة جواً خطراً حقيقياً على المرضى الذين يتلقون العلاج في المستشفيات المعرضين لخطر العدوى الفطرية المستشفوية بما في ذلك المناعة.

وأجري تحديد النوعي والكمي للنباتات الفطرية للبيئة للخدمة علم الأورام الطبية لل-EH-ديدوش مراد خلال شهري أبريل ومايو 2018. وأخذت مائة عينات من ثلاث وحدات داخل نفس الخدمة.

تم الحصول على عدد 409 عزلة فطرية موزعة على 13 أجناس. وكانت أجناس الأبرز المبعثرة (46.2%)، البنسليوم (17.5%)، النوباء (5.4%)، البوفيرية (4.9%)، الرشاشيات (4.4%)، المكبومة (2.5%)، وأخيراً، المتوردة (1%). في خمس غرف للاستشفاء، وأظهرت النتائج أن أكثر المواقع الملوثة هي سرير (47 الفطرية المعزولة)، والجداول السرير (36 الفطرية المعزولة)، ودورات المياه (يعزل 28 الفطرية، و dominats معظم نوع هي: *Cladosporium* ، يليها

Beauveria ، *Aspergillus* ، *Alternaria* ، *Penicillium*

بالإضافة لذلك، فإن العينات التي تم أخذها في مستشفى اليوم وغرفة العلاج الطبي تبين أن هذه الأخيرة هي سلالات فطرية محسنة أكثر بكثير مقارنة بالمستشفى النهاري. من المهم أن نلاحظ أن 7 أنواع من النمر *Aspergillus* تم العثور عليها فقط على مستوى الغرفة الطبية، على عكس المستشفى في اليوم الذي لم يتم فيه تحديد أي نوع.

وأخيراً، فقد وجد أن أكثر المواقع الملوثة هي الشاحنات مختلفة العلاج الكيميائي (15 الفطرية المعزولة) والجهد (13 عزلة)، يليه مجلس الوزراء (14 عزلة) العلاج (25 isolats)، رفوف المجلدات (12 عزلة) وأخيراً غرفة الأوراق في الأمصال (8 عزلات).

Références bibliographiques

9-Références bibliographique

1. Chabasse D. Classification des champignons d'intérêt médical. *Encycl Méd Chir*, 2008; 8088-B-10; 10p.
2. Chabasse D, Guiguen C, Contet-Audonneau N. *Mycologie médicale*. Collection abrégé 1999.
3. Chabasse D. Les moisissures d'intérêt médical. *Cahier de formation Biologie médicale*. 2002; N°25: 159 p.
4. Philippe Dufresne Guy StGermain Mars 2014. Mycologie Partie 1 Introduction/champignons filamenteux *.Identification des champignons d'importance médicale*. Institut National de Santé publique Québec :5p.
5. Institute of Medicine (IOM). Clearing the air: Asthma and indoor air exposure. Committee on the assessment of asthma and indoor air. Division of health and disease prevention. *National Academy Press*. 2000: 456p.
6. Kirk PM, Cannon PF and David JC. Ainsworth and Bisby's Dictionary of Fungi. *Centraalbureau voor Schimmelcultures*. 2001; 9th Edition: p 624.
7. Roquebert MF. Les moisissures: nature, biologie et contamination, 1997.
8. De Hoog GS. Risk assessment of fungi reported from humans and animals mycoses 1996; 39: 407-417.
9. Anonyme 1. (2000). World Health Organization (WHO). Human exposure assessment. *Environmental health criteria*. 2000; 214: 375
10. Stetzenbach LD et Buttner MP. Airborne Microorganisms and Indoor Air Quality, "In" *Encyclopedia of Microbiology. Second Edition, Academic Press. Rockefeller University*. 2000; Vol.1: 116-125.
11. Lhotellier L. Asepsie au bloc opératoire, 2010.
12. Brucker G. Infections nosocomiales et environnements hospitalier. *Ed Flammarion. Médecine-sciences. Paris*, 1998.
13. Anonyme 2. (2010). Environnement et circuits, *Surveiller et prévenir les infections associés aux soins*. 2010 ; 79-93.
14. Anonyme 3. (2009). Salles propres, *Le magazine de la maîtrise de la contamination*, Mai 2009, N°61.
15. Anonyme 4. (2002). La prévention et le contrôle des infections nosocomiales environnementales. Un Guide d'action dans les établissements de santé. Régie régionale de la santé et des services sociaux de Montréal Centre. Avril 2002.

16. Pini G, Donato R, Faggi E, Fanci R. Two years of a fungal aerobiocontamination survey in a Florentine haematology ward. *Eur J epidemiol* 2004, n°19(7), pp.693-6
17. Savy A.Évaluation de la connaissance du risque fongique en milieu hospitalier.Rennes(France):Mémoire d'ingénieur en génie sanitaire;2005.
18. Anonyme5.2011. Risque infectieux fongique et travaux en établissement de santé : Identification du risque et mise en place de mesures de gestion, *Hygiène*, 2011, Volume XIX, N°1.
19. Lidwell O M. Airborne contamination of wounds in joint replacement operations: the relationship to sepsis rates, *J Hosp Infect.*1983; 2: 111-131.
20. Lamrani N. Aérocontamination fongique à l'hôpital. Thèse de pharmacie, faculté de médecine et de pharmacie de rabat, N°1, 2005, p129.
21. De Bock R, Gyssens I, Peetermans M, Nolard N. Aspergillus in pepper. *Lancet* 1989, n°ii, pp.331-332.
22. Nicolle MC, Lebeau B, Perraud M, Berthelot P, Gari -Toussaint M, Raberin H, Thiebaut A, Piens MA et Chapuis F. Surveillance de l'environnement fongique en hématologie : Analyse des pratiques de neuf centres hospitaliers et élaboration d'un protocole commun. *J Mycol Med*2002, n°12, pp.12-20.
23. Summerbell RC, Krajden S, Kane J. Potted plants in hospitals as reservoirs of pathogenic fungi. *Mycopathologia*1989, n°106, pp.13-22.
24. Lass-Flörl C, Rath PM, Niederwieser D, Kofler G, Würzner R, Kresy A and Dierich MP. Aspergillus terreus infections in haematological malignancies : molecular epidemiology suggests association with in-hospital plants.*Journal of Hospital Infection*2000, n°46, pp.31-35.
25. Burton JR, Zachery JB, Bessin R, Rathbun HK, Greenough WB, Sterioff S, Wright JR, Slavin RE, Williams GM. Aspergillosis in four renal transplant recipients. Diagnosis and effective treatment with amphotericin B. *Ann Intern Med* September 1972, n°77(3), pp.383-388.
26. Lentino JR, Rosenkranz MA, Michaels JA, Kurup VP, Rose HD, Rytel MW. Nosocomial aspergillosis : a retrospective review of airborne disease secondary to road construction and contaminated air conditioners. *Am J Epidemiol*1982, n°116, pp.430-437.
27. Auboyer C, Jospe R, Mahul P. Les aspergilloses invasives en réanimation. Conférences d'actualisation 1998, pp.679-691.

28. Anaissie EJ and Costa SF. Nosocomial aspergillosis is waterborne. *Clinical Infectious Disease* 2001, n°33, pp.1546-1548.
29. Panagopoulou P, Filioti J, Petrikkos G, Giakouppi P, Anatoliotaki M, et al. Environmental surveillance of filamentous fungi in three tertiary care hospitals in Greece. *Journal of Hospital Infection* 2002, n°52, pp.18-191.
30. K. Pakshir, G. Shekarkhar, S. Mostagnie, B. Sabaya, A. Vaghefiki. December 2007. Monitoring of Airborne Fungi in Two General Hospitals in Shiraz, Southern Iran. *Iran J Med Sci* December 2007; Vol 32 No 424.
31. Suzan Okten, Burhan Sen, Ahmet Asan and Nurcan Bahadi. Airborne microfungi in Oncology Service of Medical School Hospital of Trakya University. 2015. *Indoor and Built Environment*, Vol. 24(6) 771–776.
32. K.Diongue, A.S.Badiane, M.C.Seck, M.Ndiay. M.A.Diallo, S.Diallo, O.Sy, J.L.Ndiaye, B. Faye, O.Ndi., D.Ndiay. 2014. 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 Médicale*. Odels MYCMED-520; No. Of Pages 5.
33. Hocquette A, Grondin M, Bertout S, Malité M. Les champignons des genres *Acremonium*, *Beauveria*, *Chrysosporium*, *Fusarium*, *Onychocola*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Scedosporium* et *Scopulariopsis* responsables de hyalohyphomycoses. *Journal de mycologie médicale*. 2005 ; 15: 136-149.
34. Barbut F, Neyme D. Les difficultés d'interprétation des contrôles microbiologiques environnementaux, *Revue francophone des laboratoires*. 2006 ; 389 : 27-32.
35. Lamrani N. Aérocontamination fongique à l'hôpital. Thèse de pharmacie, faculté de médecine et de pharmacie de rabat, N°1, 2005, p129.
36. A, SIRBOU (2011). Aérocontamination fongique au bloc opératoire de l'HMIMV-RABAT. N°83, p37.
37. H, Claire (2011). Le traitement de l'air en milieu hospitalier Place des unités mobiles: expérience en Oncologie pédiatrique au CHU de Poitiers. Docteur en pharmacie N°8, p1.

Annexes

8. Annexes

Annexe 1

➤ Description du service d'Oncologie Médicale



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de la Santé, la Population et de la Réforme Hospitalière
Etablissement Hospitalier DIDOUCHE Mourad, CONSTANTINE



PROFESSEUR Chef de Service
Pr. A. BENSALÉM
assiabensalem@yahoo.fr



Constantine le 05/06/2018

Le service d'Oncologie Médicale est constitué de quatre (04) unités (unité hospitalisation hommes, unité hospitalisation femmes, unité hôpital du jour avec douze (12) fauteuils de chimiothérapie et unité douleurs avec quatre (04) lits)

Le service d'Oncologie Médicale dispose de trente (30) lits d'hospitalisation pour des cures de chimiothérapie variant de 24H à cinq (05) jours.

La plus grande activité du service Oncologie Médicale est au niveau de l'HDJ avec un taux d'occupation dépassant les 30% par jour.

Médecin Chef
Oncologie Médicale
Pr. A. BENSALÉM

Annexe 2

➤ Fiche de prélèvement

	<p>Etablissement Hospitalier Didouche Mourad Laboratoire central</p>	
<h3>Fiche de Prélèvement</h3>		
<p>➤ <u>Chambre d'hospitalisation n=9(femme)</u></p>		
<p>Service : ONCOLOGIE MEDICALE</p>		
<p>Date/Heure de prélèvement :</p>		
<p>Climat :</p>		
<p>Lieu :</p>		
<p>Sites de prélèvements :</p>		
<p>Résultats :</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p>		

Annexe 3

➤ Répartition de la flore fongique au niveau des chambres d'hospitalisation (6, 7, 9,12)

✓ Chambre d'hospitalisation n=6

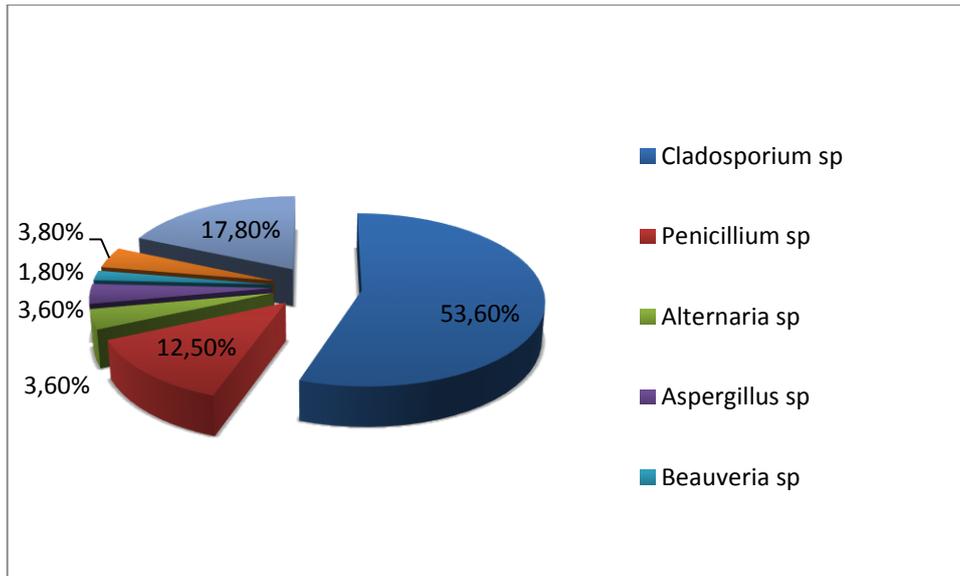


Figure13 Flore fongique isolée dans la chambre d'hospitalisation n=6(Femme)

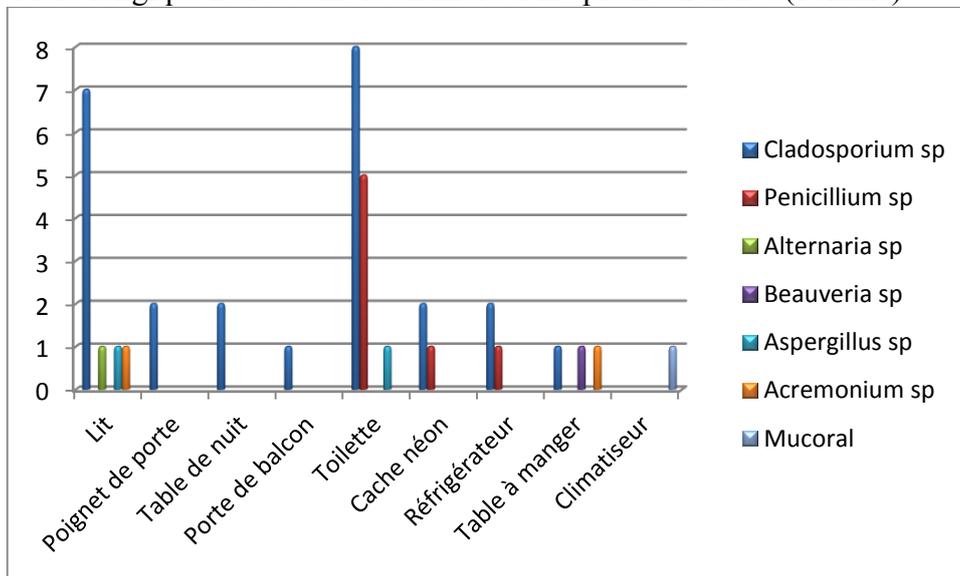


Figure 14 Répartition de la flore fongique au niveau de la chambre d'hospitalisation n=6(Femme)

✓ **Chambre d'hospitalisation n=7**

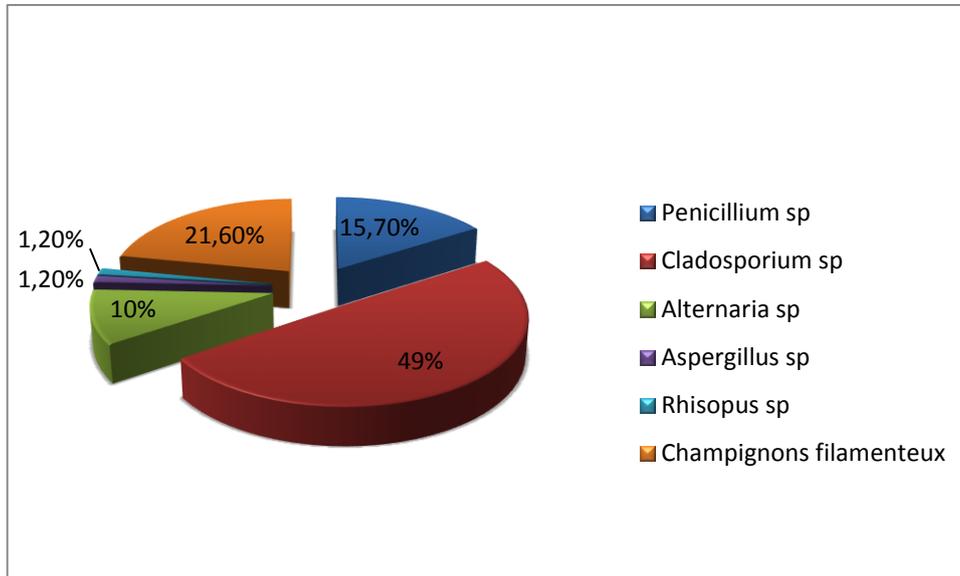


Figure15 Flore fongique isolée dans la chambre d'hospitalisation n= 7(femme)

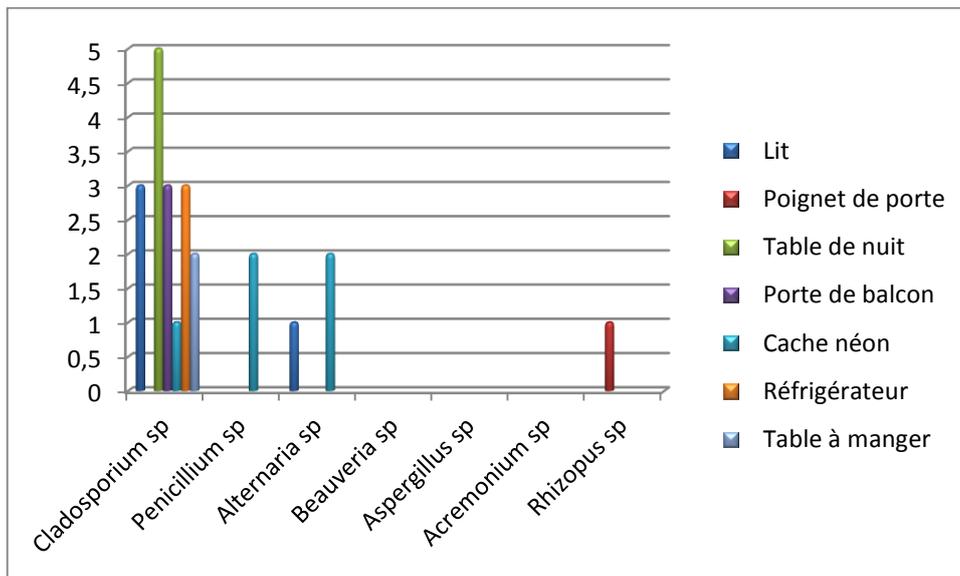


Figure16 Répartition de la flore fongique au niveau de la chambre d'hospitalisation n=7(Femme)

✓ **Chambre d'hospitalisation n=9(femme)**

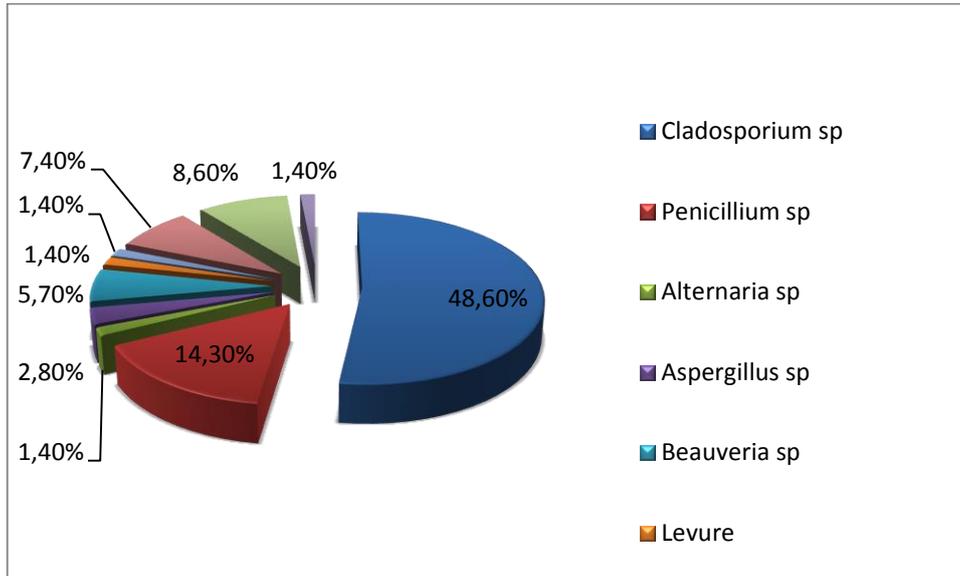


Figure17 Flore fongique isolée dans la chambre d'hospitalisation n=9 (Femme)

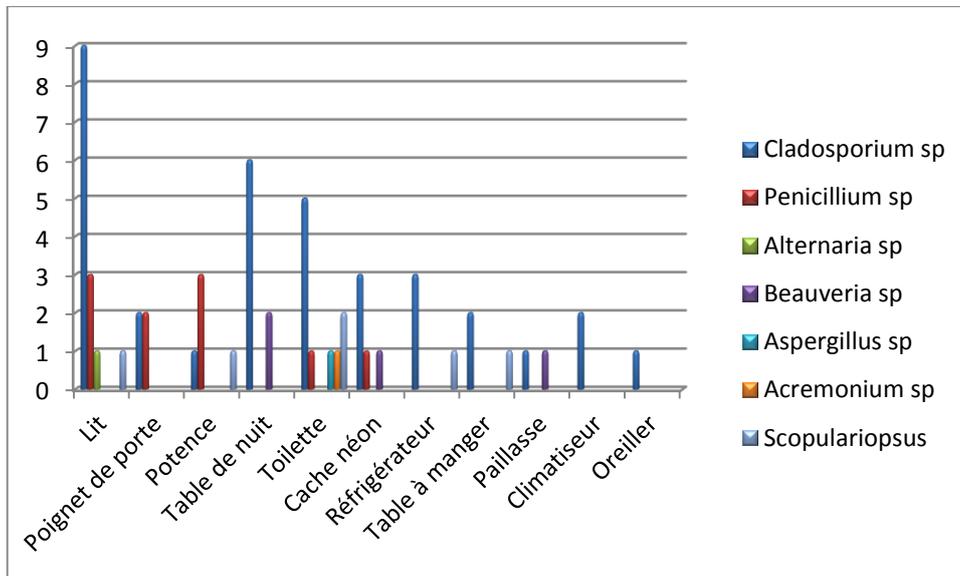


Figure 18 Répartition de la flore fongique au niveau de la chambre d'hospitalisation n=9(Femme)

✓ Chambre d'hospitalisation n=12

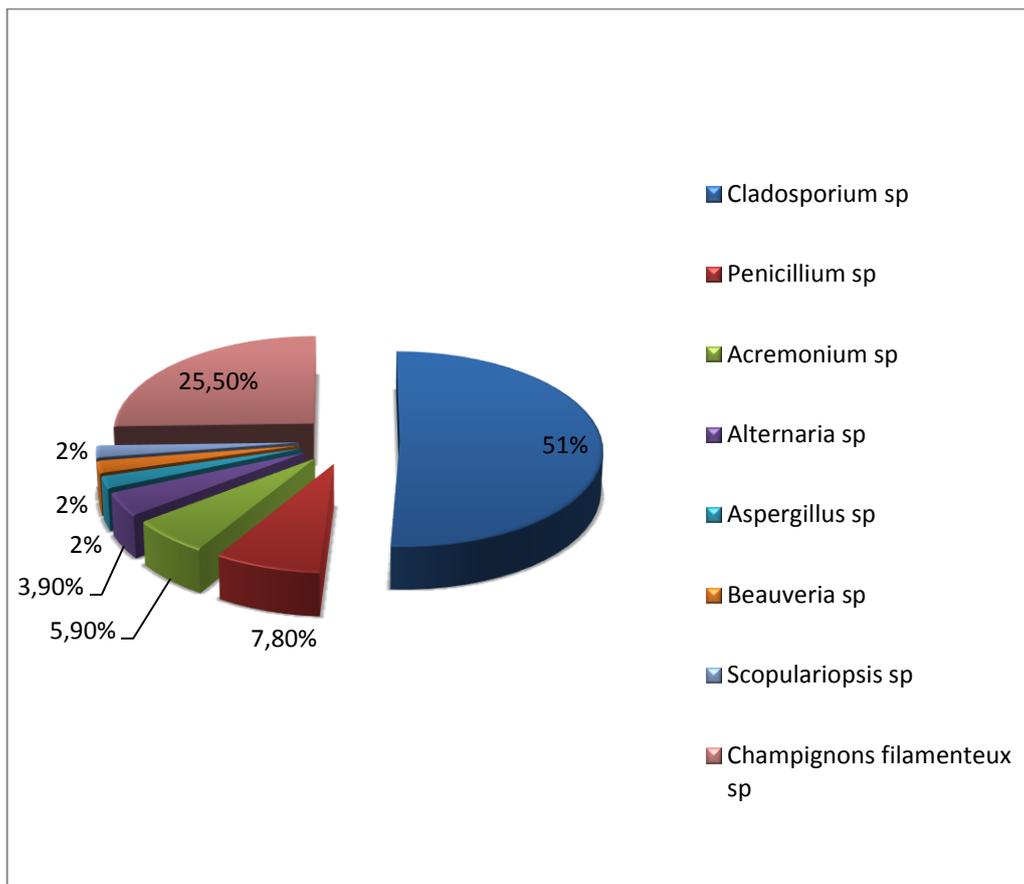


Figure 19 Flore fongique isolée dans la chambre d'hospitalisation n=12 (Homme)

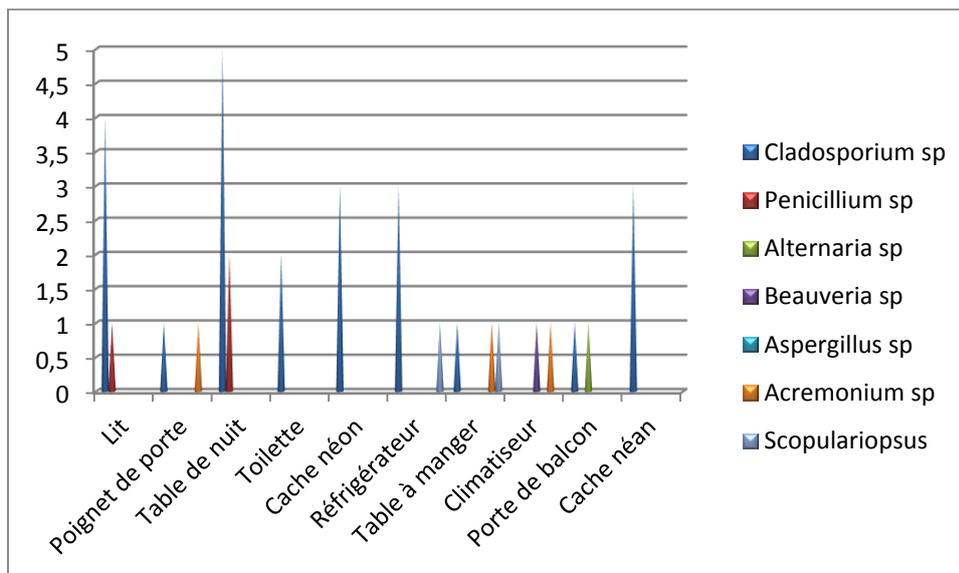


Figure 20 Répartition de la flore fongique au niveau de la chambre d'hospitalisation n=12(Homme)

Annexe 4

➤ Composition des milieux de cultures

✓ Milieu Sabouraud-Agar

Glucose.....	20g
Peptone.....	10g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

pH=6

✓ Sabouraud -Chloramphénicol (SABC)

Néo-peptone Difco.....	10g
Glucose.....	20g
Agar.....	20g
Eau distillée q.s.p.....	1000ml
Chloramphénicol.....	0,5g

pH=6 -6.5

✓ Pomme de terre -carotte-Bile (PCB)

Pulpe de pomme terre.....	20g
Pulpe de carottes.....	20g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml
Bile fraîche filtrée.....	200ml

PH=6,8

✓ RAT (Riz, Agar,Tween)

Riz

Tween (agent tensio-actif)

Agar

Annexe 5

➤ Composition des colorants:

✓ Le bleu coton au lactophenol (bleu de méthyle)

Acide phénique cristallisée.....	10g
Acides lactique.....	10g
Glycérine.....	20g
Bleu coton (bleu de méthyle).....	0,25g
Eau distillée.....	1000ml

➤ Matériel

1. Appareillage

- Vortex
- Microscope optique
- Étuve de 37°C et 27°C

2. Verreries et petit matériel

- Tubes à essai
- Boîtes de Pétri
- Bec bunsen
- Anses de platine.
- Pipettes Pasteur.
- Eau physiologique stérile.
- Portoirs
- Lames et lamelles
- Écouvillons
- Bistouri
- Micro-pipette

Nom : MERABET
Prénom : Sabrina

Date de soutenance : 03/07/2018

Thème : Détermination de la flore fongique du service d'Oncologie Médicale de l'Hôpital de Didouche-Mourad

Résumé :

En milieu hospitalier, la maîtrise de la qualité de l'air ambiant des services d'hospitalisation est un élément primordial. En effet, la flore fongique aéroportée constitue un réel danger pour les patients hospitalisés dans le service à risque d'infections fongiques nosocomiales notamment les immunodéprimés.

La détermination qualitative et quantitative de la flore fongique de l'environnement du service d'Oncologie Médicale de l'EH de Didouche-Mourad a été effectuée durant les mois d'avril et mai 2018. Cent échantillons ont été prélevés à partir de trois unités au sein du même service.

Un nombre de 409 isolats fongique a été obtenu, répartis sur 13 genres. Les genres les plus dominants sont *Cladosporium* (46.2%), *Penicillium* (17.5%) *Alternaria* (5.4%), *Beauveria* (4.9%), *Aspergillus* (4.4%) *Acremonium* (2.5%) et enfin, *Rhodotorula* (1,2%).

Au niveau des cinq chambres d'Hospitalisation, les résultats montrent que les sites les plus contaminés sont les lits (47 isolats fongiques), les tables de nuits (36 isolats fongiques), et les toilettes (28 isolats fongiques), Les genres les plus dominants sont : *Cladosporium*, suivi de *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* et *Beauveria*.

Par ailleurs, les prélèvements effectués au niveau de l'Hôpital du jour et la salle des paramédicaux montrent que cette dernière est beaucoup plus chargée en souches fongiques en comparaison avec l'hôpital de jour. Il est important de signaler que 7 espèces d'*Aspergillus niger* ont été retrouvées uniquement au niveau de la salle des paramédicaux contrairement à l'Hôpital du jour où aucune espèce n'a été identifiée.

Enfin, il a été constaté que les sites les plus contaminés sont les différents chariots de chimiothérapie (15 isolats fongiques) et de tension (13 isolats) suivi par l'armoire (14 isolats) de traitement (25isolats), les étagères des dossiers (12isolats) et enfin la chambre de stock des sérums (8 isolats).

Mots clés : Flore fongique, aérocontamination, infections fongique nosocomiales, service d'Oncologie Médicale.

Laboratoire de recherche : Laboratoire central, unité de parasito-mycologie EH Didouche Mourad

Président de jury: Mr. HAMIDECHI Abdelhafid

Prof. UFM Constantine 1

Rapporteur: Mme. YUCEF-ALI Mounia

Dr.UFM Constantine 1

Examineur: Mr. ALLOUACHE Badredine

Dr. CHU Constantine 1

Maitres de stage :

Mr. FENDRI Hichem

Prof.UFS Constantine 3

Mme. DJABELLAH Malika

MA.UFS Constantine 3