

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Frères Mentouri Constantine 1



Département de Microbiologie

MEMOIRE

Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master domaine :

Science de la nature et de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Fongique

THEME

Les otomycoses en Algérie

Présenté et soutenu par :

DEHANE SAOUSSEN

LEBIED ABIR

Soutenu le : 16 / 07/ 2019

Devant le jury :

Présidente : MERGOUD Lilya (Maître-Assistante A - UFM Constantine).

Encadreur : REHAMNIA Yacine (Assistant en mycologie -HUM Constantine).

Examinatrice : ABDLAAZIZ ouided (Maître de Conférence B- UFM Constantine).

Année Universitaire 2018-2019

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions DIEU tout puissant qui nous a donné le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent en premier lieu à notre encadreur **Dr REHAMNIA Yacine**, Assistant en mycologie médicale pour ses orientations, son aide, sa rigueur scientifique et pour la confiance qu'il nous a accordé tout au long de cette étude.

Nos remerciements s'adressent également à **Mme MERGOUD Lilya** maitre assistante A à l'Université frères Mentouri Constantine 1 à le grand honneur de présider le jury.

À Mme **ABDLAAZIZ Ouided** maitre assistante B à l'Université frères Mentouri Constantine 1 pour avoir bien voulu examiner ce travail.

Enfin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A la mémoire de ma très chère et regrettée maman.

Cette œuvre t'est dédiée en témoignage de mon profond amour, gratitude et reconnaissance, que j'aurai tant aimé exprimer par des actions concrètes, malgré la douloureuse séparation.

Cet ouvrage est le fruit de longues années de sacrifices consentis par te personne, en dépensant sans compter pour mon éducation et ma formation afin de me permettre d'atteindre cette étape de ma vie et de mon but.

Tu as été là pendant tout ce temps, tu es, et tu seras toujours et à jamais ancrée dans mon cœur.

A mon exemple éternel, mon soutien moral, source de joie et de bonheur, à celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir grandir et réussir, que dieu te garde et te protège mon très cher Père.

A ma très chère grand-mère MIMI avec tout mon amour.

A ma très chère tante « FAOUZIA », Avec la tendresse et la reconnaissance que je te porte pour m'avoir transmis l'amour de la vie et le goût d'entreprendre. J'espère que j'ai gagné votre confiance, votre satisfaction et votre fierté.

A la personne la plus précieuse de mon cœur à mon mari «RAOUF».

A ma très chère et adorable sœur HIBA et ses poussins MAYAR et TAYEM ainsi que mon petit frère MIDOU avec toute ma tendresse.

A ma grande famille.

A ma belle-mère ainsi que mon beau père.

A mes oncles et leurs épouses.

A mes tantes et leurs époux.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

A mon binôme de travail, ABIR pour l'aide apportée.

A tous ceux que j'ai un lien de parenté.

A tout mes ami(e)s avec qui j'ai partagé et passé de bons moments.

Saoussen

Dédicaces

Au nom de Dieu Tout Puissant, je dédie ce modeste travail à mes très chers parents pour leur soutien et pour leurs encouragements qu'ils n'ont pas cessés de m'apporter tout au long de mes études.

À mon très cher grand mère que Dieu l'accueille au paradis

À ma sœur Kawther et mon frère Djamil qui ont toujours été là pour moi.

À toute ma famille

À toutes mes copines, camarades, cousines, cousins et collègues

À mon binôme Sacussen et toute sa famille

Abir

INTRODUCTION

Introduction

L'oreille contient un grand nombre de structures complexes dans un espace restreint. Cet organe est fréquemment exposé à divers microorganismes, y compris des champignons responsables de 5 à 10 % d'otites fongiques externes. (**Aboumakarim et al. , 2010**).

L'identification des espèces fongiques dans le canal auditif externe est donc utile pour déterminer le risque potentiel de ces microorganismes responsables d'une mycose auriculaire ou l'otomycose. (**Munguia et al. , 2008**).

En 1844, Mayer a été le premier à rapporter un cas d'otomycose. Il est le précurseur d'un débat récurrent qui tente de savoir si les champignons sont des agents infectieux primaires ou secondaires à des bactéries. (**Gray et al. , 2005**).

L'otomycose est une infection fongique qui touche principalement le conduit auditif externe, c'est une pathologie habituellement bénigne quand elle se limite au conduit auditif externe, mais elle peut toutefois mettre en jeu le pronostic vital chez des patients immunodéprimés, prenant la forme d'otite interne s'étendant à l'oreille moyenne, l'oreille interne et aux régions anatomiques adjacentes.

Actuellement, il s'agit d'une pathologie bien définie et d'un problème récurrent dont l'implication des champignons comme agents pathogènes va en augmentation, les principaux agents rencontrés sont *Aspergillus* et *Candida*. Dans les régions tropicales et subtropicales, l'otomycose est principalement causé par *Aspergillus niger*.(**Munguia et al. , 2008**). Ceci est favorisé par un certain nombre de facteurs prédisposants à savoir : l'utilisation d'antibiotiques à large spectre et de corticoïdes pour le traitement de l'otite bactérienne, le terrain (diabète, immunodépression, SIDA...), le climat tropical et les traumatismes locaux et post chirurgicaux.

Les otomycoses sont parfois longues et difficiles à traiter, notamment en cas de pathologie otologique chronique sous-jacente.

Introduction

On a réalisé une modeste étude, allant de 10 mars au 30 avril 2019 ; au sein du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire Universitaire Cdt Abdelali Benbaatouche, Constantine(HMRUC). On a fixé comme principaux objectifs :

- Étudier la prévalence des otites fongiques dans le service d'otorhinolaryngologie (ORL)
- Décrire les aspects cliniques et épidémiologiques des otites fongiques .
- Identifier et caractériser qualitativement et quantitativement les agents étiologiques fongiques.

Etude bibliographique

Etude bibliographique

1. Anatomie de l'oreille

Etant très complexe, l'oreille est l'organe qui assure deux principales fonctions : Audition et équilibration. Elle possède des organes spécifiques pour accomplir ces deux fonctions. L'oreille est développée dans une charpente osseuse : l'**os temporal**, pièce importante du squelette crânien, constituant de la voûte et de la base du crâne (Savalle, 2015). Anatomiquement, on distingue 3 parties : l'oreille externe, l'oreille moyenne et l'oreille interne (Figure n°01).

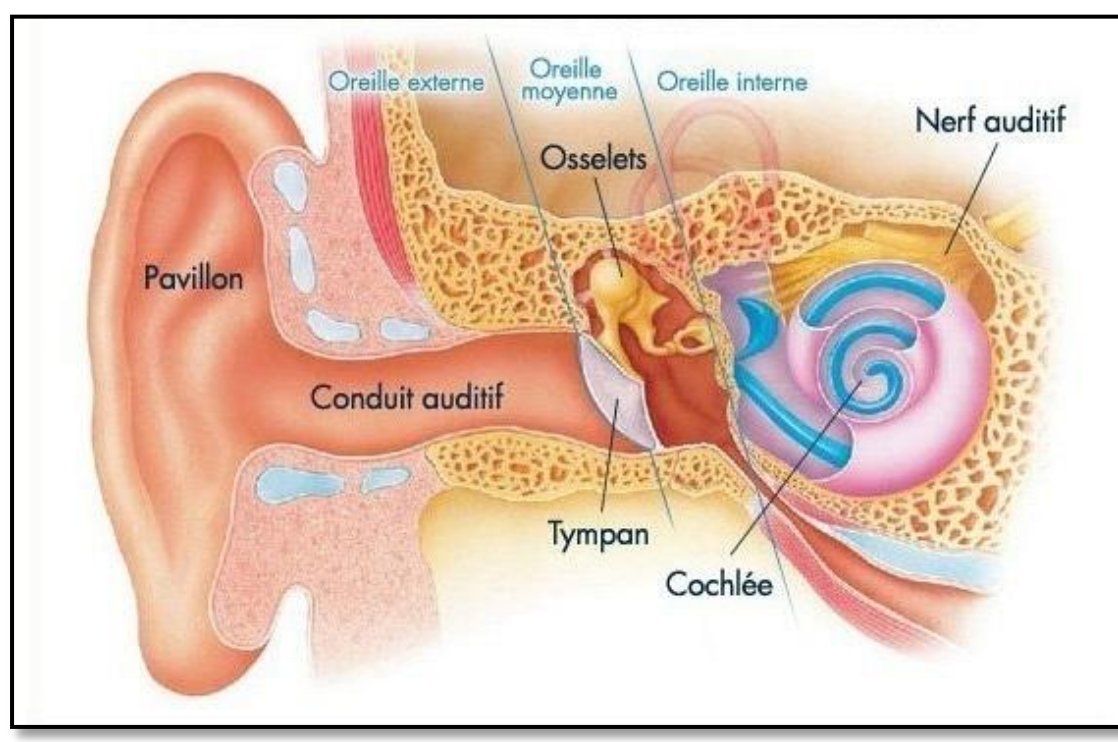


Figure 01 : Schéma général de l'oreille humaine (Bokowy et al. , 1995).

1.1. L'oreille externe

Qui regroupe le pavillon–feuille de cartilage de peau, le conduit auditif externe dont la paroi est cartilagineuse en dehors, osseuse en dedans. (Berezin , 1985)

1.1.1. Le pavillon Est une expansion lamelleuse plissée sur elle-même, armée de fibrocartilage qui lui donne sa fixité, sa forme, sa rigidité et sa direction. Son squelette cartilagineux forme des reliefs et des creux. Cette forme en cornet va permettre d'amplifier les sons de 10 à 15 dB sur les fréquences 155/7000 Hz avec une résonance à 2000Hz. En

Etude bibliographique

périphérie, on retrouve le bourrelet du bord externe appelé « hélix » s'élargissant en bas pour former le lobule, ensuite un relief concentrique « anthélix ». Au centre, la conque recueille les sons comme un entonnoir pour les transmettre au conduit qui lui succède. Le conduit auditif externe s'ouvre vers l'extérieur pour former la conque. Celle-ci est bordée du tragus en avant et de l'antitragus en arrière. Le pavillon capte et concentre les ondes sonores. **(Berezin, 1985).**

1.2. Le canal auditif externe :

Est un tuyau de 2 à 3 cm de long, creusé dans l'os temporal. La partie externe est cartilagineuse recouverte d'une peau épaisse comprenant poils et glandes sébacées et cérumineuses. La partie interne consiste en un tissu osseux recouvert d'une peau très fine sans poil ni glande. Cette peau se renouvelle en glissant vers l'extérieur, elle est arrêtée par les poils et se mélange au cérumen pour constituer ce que l'on appelle populairement la cire. Le canal s'ouvre au niveau de la conque en dehors, le fond est fermé par la membrane du tympan, cartilagineuse en dehors et osseuse en dedans. C'est par le conduit auditif externe que transitent les ondes sonores.

Le canal auditif externe (CAE) est protégé des infections par plusieurs mécanismes anatomiques et physiologiques importants : Le système pileux, dans la région du méat, et le complexe tragus/antitragus constituent des obstacles superficiels à la pénétration de débris dans le CAE. La forme en sablier du CAE protège la membrane tympanique en empêchant un trajet direct des particules sur le tympan. Cette forme de sablier résulte du rétrécissement de la paroi du canal au niveau de l'articulation temporo-mandibulaire. Le cérumen est une barrière à la fois physique et physiologique contre l'infection.. Il est sécrété par les glandes sébacées du derme superficiel. **(Berezin, 1985).**

1.3. L'oreille moyenne

Est une cavité ou plutôt un ensemble de cavités creusées dans le temporal, séparée du conduit auditif externe par la membrane du tympan, la caisse du tympan contient la chaîne des osselets : marteau enclume et étrier.

Le nerf facial passe dans sa paroi profonde, cette caisse du tympan communique : en avant, avec le rhinopharynx, par la trompe d'Eustache. En arrière, avec une cavité creusée dans la mastoïde, l'antre mastoïdien, par un seuil étroit, l'aditus ad antrum. **(Berezin, 1985)**

Etude bibliographique

1.4. L'oreille interne

Immédiatement en dedans de l'oreille moyenne, est l'organe neurosensoriel de l'audition, elle comporte en réalité deux organes, correspondant à deux fonctions différentes :

- la cochlée, organe de l'audition.
- le vestibule, organe de l'équilibration.

Ces deux organes très délicates sont reliés entre eux et baignent dans les liquides endo et périlymphatiques.

- les fibres nerveuses issues de ces deux organes sensoriels se rassemblent en un nerf cochléaire et un nerf vestibulaire qui constituent le nerf auditif ou acoustique ou **VIII** éme paire. Le huit rejoint en suite les centres acoustiques du névraxe. (**Berezin, 1985**).

2. La physiologie de l'oreille humaine

2.1. La fonction auditive

Elle consiste à transformer les vibrations sonores en impulsions nerveuses transmises aux centres auditifs du cerveau.

Les ondes sonores, amplifiées par le système tympano-ossiculaire sont transmises aux liquide de l'oreille interne, elles stimulent les cellules cochléaires, donnant naissance à des impulsions nerveuses, qui sont acheminées vers le cerveau par les voies périphériques et centrales. (**Berezin, 1985**).

2.2. La fonction d'équilibration

C'est l'affaire du vestibule .ce dernier comportant l'utricule, le saccule et les trois canaux semi-circulaires, renseigne à tout instant les centres sur les positions, les mouvements, les accélérations angulaires et linéaires.

- Normalement, le système vestibulaire couplé avec le système extrapyramidal fonctionne de façon extrapyramidal reflexe en dehors de la conscience.

Etude bibliographique

- Qu'un élément de déséquilibre intervienne : lésions de l'arc réflexe ou stimulation artificielle au cours d'un examen, les signes vestibulaires apparaissent (vertiges, trouble de l'équilibre nystagmus...). (**Berezin ,1985**) .

3. Physiopathologie

La peau du CAE cartilagineux (tiers externe) contient des follicules pileux et des glandes sébacées et apocrines produisant le cérumen tandis que la peau du CAE osseux (deux tiers internes) est beaucoup plus fine et ne comporte pas d'annexes .le cérumen et la flore commensale du CAE protège la peau et le tympan des infections. (**Brodure, 1995 ; Senturia, 1980**).

Le cérumen est une barrière physique et physiologique contre l'infection. son caractère hydrophobe protège la peau sous-jacente de la macération ; son pH acide est inapproprié au développement des agents pathogènes et il contient des immunoglobulines et des lysozymes dont le rôle est encore mal défini (**Senturia , 1980 ; Goffin, 1963**), (**Goffin , 1963**), (**Hyslop , 1971; Petrakis , 1971**) . Le nettoyage excessif du CAE (coton tige) enlève le cérumen et crée des microtraumatismes de la peau du CAE osseux favorisant l'infection.

4. Flore commensale du conduit auditif externe

La connaissance de la flore commensale du conduit auditif externe est indispensable. Elle comprend à l'état normal un certain nombre de bactéries et de champignons (micromycètes) qui vivent en équilibre. La plupart de ces microorganismes peuvent devenir pathogènes en cas de déséquilibre de cette flore. En ce qui concerne les champignons, la destruction sélective de la flore bactérienne par un traitement antibiotique à large spectre entraîne une augmentation anormale du nombre des champignons, ce qui peut leur conférer un caractère invasif et pathogène. (**Minchell , 2000**).

Des micromycètes saprophytes se trouvent à l'état normal au niveau du conduit auditif externe, comme en témoigne une étude de Singer qui a mis en évidence un prélèvement positif chez 31 % des sujets sains. (**Singer et al. , 1952**).Les champignons les plus fréquemment rencontrés sont les micromycètes filamenteux de la famille des *Aspergillacés* (groupe des *Aspergillus*) (**Bordure , 1995**).On peut aussi trouver des leuvisformes appartenant au genre *Malassezia* (anciennement *Pityrosporum ovale*). En revanche *Candida albicans* n'existe pas à l'état normal au niveau du conduit auditif externe (**Bordur , 1995**). La présence

Etude bibliographique

de bactéries ou de champignons commensaux dans un prélèvement microbiologique doit rarement faire conclure à un caractère pathogène. Par contre la découverte de champignons habituellement absents du conduit auditif externe témoigne le plus souvent d'une infection.

5. Etiologies

L'otite externe est avant tout une infection d'origine bactérienne dont l'agent pathogène principal est le *Pseudomonas aeruginosa*. L'association d'une infection bactérienne et mycosique est assez fréquente, de 5 % à 30 % selon les auteurs (**Bambule et al. , 1982 ; Paulose et al. , 1989 ; Baya et al., 1994**).

Les prélèvements réalisés chez les patients atteints d'otomycose avérée (figure .3 et 4) montrent que les principaux agents responsables sont du genre *Aspergillus* (*Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*) et du genre *Candida* (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*). Le *Penicillium* est retrouvé dans de plus faible proportions (**Tisner et al. , 1995 ; Pedarson et al. , 1974**). Mais son rôle pathogène est encore discuté. D'autres champignons sont beaucoup plus rarement en cause comme les mucorales. (**Chander et al. , 1996**).

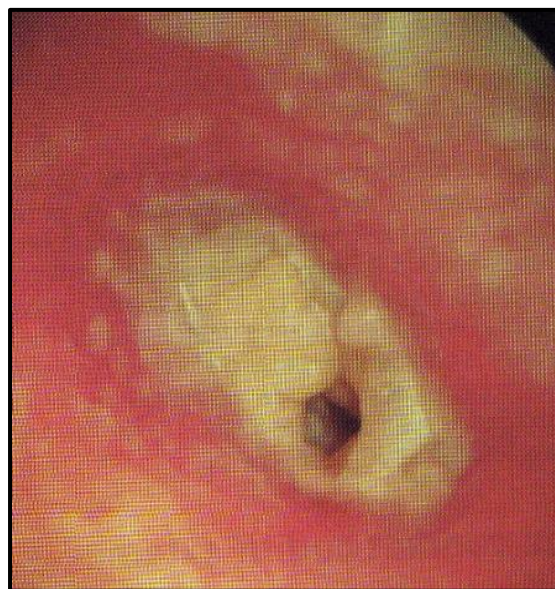


Figure 02 : Autre aspect d'otomycose aigue avec aspect typique papier buvard humide.

(**Klossek et al. ,2003**)

Etude bibliographique



Figure 03 : Otomyose aiguë d'origine aspergillaire avec présence de filaments blanchâtre cotonneux. (Klossek et al. , 2003)

Les dermatophytes peuvent atteindre le pavillon de l'oreille et plus rarement le conduit auditif externe (**watanabe , 1996**). Il existe trois classes de micromycètes responsables de dermatophyties : *Epidermophyton*, *Microsporium* et *Trichophyton*.

Les otomycoses invasives sont rares, elles surviennent chez des patients immunodéprimés et peuvent être causées par différents champignons : *Aspergillus*, *Candida* mais aussi *Scedosporium apiospermum*, *Blastomyces*, *Mucorales*, *Coccidioides*.

Enfin, *Malassezia sp* isolée en grande quantité dans la dermite séborrhéique peut atteindre le pavillon de l'oreille mais aussi et de manière plus spécifique, le conduit auditif externe (**Faegermann , 1994**). Sa recherche faite en routine en dermatologie est également à envisager lors d'atteintes otologiques isolées. Elle nécessite une recherche spécifique.

6. Epidémiologie

Les otomycoses représenteraient 5 à 30 % de l'ensemble des otites externes (**Bambule et al. , 1982**). L'otomyose atteint de manière prédominante l'adulte. L'été et l'automne constituent les périodes de prédilection. il existe des différences épidémiologiques selon le pays ou l'étude est réalisée (**Stern et al. , 1988**). Mais parfois également selon les régions, dans un même pays (Tableau n°01). Globalement *Aspergillus niger* est isolé surtout dans les

Etude bibliographique

zones chaudes et tropicales alors que *Candida albicans* semble prédominer dans les zones tempérées.

Tableau 01 : Principaux champignons responsables d'otomycose selon les pays (Klossek et al. , 2003)

	Angleterre (Mugliston et al. , 1985). N=1061	Suisse (Bambule et al. , 1982). N=30	Espagne (Tisner et al ,1995). N=83	Niger (Gugnani et al. ,1989). N=36	Inde (Kaur et al. ,2000). N=95	Inde (Chander et al. ,1996). N=80
Aspergillus						
<i>A. Niger</i>	21 %	37%	54%	36%	36.9%	57.5%
<i>A. Flavus</i>				17%		33.7%
<i>A. fumigatus</i>			16%		41.1%	3.7%
Levures(<i>Candida</i> <i>sp</i>)						
<i>Candida.</i> <i>albicans</i>	20%	47%	25%	17%	8.2%	
<i>Candida .</i> <i>parapsilosis</i>				11%		

7. Prévalence

La prévalence de l'otomycose chez les patients préexistants les états inflammatoires de l'oreille, tels que l'eczéma et le psoriasis, varie de 9% à 30,4% (Ho et al. , 2006 ; Kurnatowski et al. ,2001).

Il semble que la prévalence de la maladie soit affectée par plusieurs facteurs prédisposants tels que le climat (environnements extrêmement humides et chauds), l'otite bactérienne externe, natation, dermatomycoses et insertion d'objets étrangers dans l'oreille (Tableau n°02) (Barati et al. , 2011).

Etude bibliographique

Tableau 02 : Pourcentage des otomycozes parmi les otites, selon les auteurs (Riah , 2010).

Grande Bretagne (Stern, 1988)	Inde (Chander, 1976)	Pologne (Kurnatowski, 2001)	Allemagne (Vennewald, 2003)	Côte d'Ivoire (Yavo, 2004)	USA (Timothy, 2005)
9%	72,7 à 74,7 %	30,4 %	30,8 %	42,6 %	9,33 %

7.1. En fonction de l'âge

L'otomycoze peut s'observer à toute les catégories d'âges avec un pic de fréquence chez l'adulte jeune lié à certains facteurs favorisants (bains de mer, piscine) (Tableau n°03) (Lecanu *et al.* , 2008).

Tableau 03 : Tranche d'âge où la prévalence des otomycozes est maximale

(Lohoue Petmy et <i>al.</i> , 1976)	(Chander et <i>al.</i> ,1996)	(Kaur et <i>al.</i> ,2000)	(Mgbor et <i>al.</i> ,2001)	(Pradhan et <i>al.</i> ,2003)	(Ozcan et <i>al.</i> , 2003)	(Yavo et <i>al.</i> ,2004)
21-30 ans	21-30 ans	16 -30 ans	21-30 ans	21-30 ans	31-40 ans	21-30 ans

7.2. En fonction du sexe :

La distribution des otomycozes n'est pas corrélée au sexe. (Pradhan , 2003 ; Chander , 1996).

Cependant, au Nigeria la prévalence des otomycozes étaient plus élevée chez les garçons (44 %) que chez les filles (20 %), ce que peuvent expliquer des facteurs environnementaux, les garçons pratiqueraient plus d'activité à l'extérieur que les filles (Enweani *et al.* ,1997). En Inde, Kaur et al. Ont montré une fréquence plus élevée des

Etude bibliographique

otomycoses chez les jeunes hommes qui passent généralement plus de temps dehors, et sont donc plus exposés aux spores véhiculées par l'air (Kaur et al. , 2000)

7.3. En fonction du climat ou de la saison

L'incidence varie dans les différentes zones géographiques en fonction surtout de la température et l'humidité relative. L'automne et l'été constituent les périodes de prédilection (Molina et al. ,1994). Les espèces fongiques, comme *Aspergillus niger*, sont isolées surtout dans les zones chaudes et tropicales alors que *Candida albicans* semblent prédominer dans les zones tempérées.

8. Espèces impliquées dans la pathogénicité des otites fongiques.

8.1. Définition et caractéristiques des champignons.

Les champignons sont des organismes eucaryotes, uni ou pluri cellulaires, dont chaque cellule comporte un noyau entouré d'une membrane nucléaire. ils sont dépourvus de chlorophylle et se nourrissent par absorption, leur mode de vie est dit hétérotrophe. Leur paroi résistante est constituée de cellulose et aussi de chitine ce qui les distingue des plantes .ils constituent un règne bien individualisé (chabasse , 2001).

Les champignons sont constitués d'un appareil végétatif et d'un appareil reproducteur sur lequel repose la classification. L'appareil végétatif est formé d'un thalle uni ou pluricellulaire .Dans ce derniers cas il est constitué d'hyphes ou filaments dont l'ensemble est appelé mycélium.

Chez les levures, il est réduit à une cellule qui se multiplie in vitro par bourgeonnement. Dans l'organisme, certains (genre *Candida*) s'allongent en pseudo filaments qui sont des hyphes particuliers. (Klossek et al. , 2003)

Le mycélium des champignons filamenteux, quant à lui, se développe après la fixation et la germination d'une spore qui émet un tube dit germinatif et se ramifie sous forme d'hyphes différents :

- à bord parallèles, cloisonnés dont les ramifications sont à angle aigu, chez les Ascomycètes comme les *Aspergillus* (Figure n°04)

Etude bibliographique

- larges et irrégulières, peu ou pas cloisonnés dont les ramifications sont à angle droit. ce sont les zygomycètes comme les Mucorales (Figure n°05) (Klossek et al. , 2003)

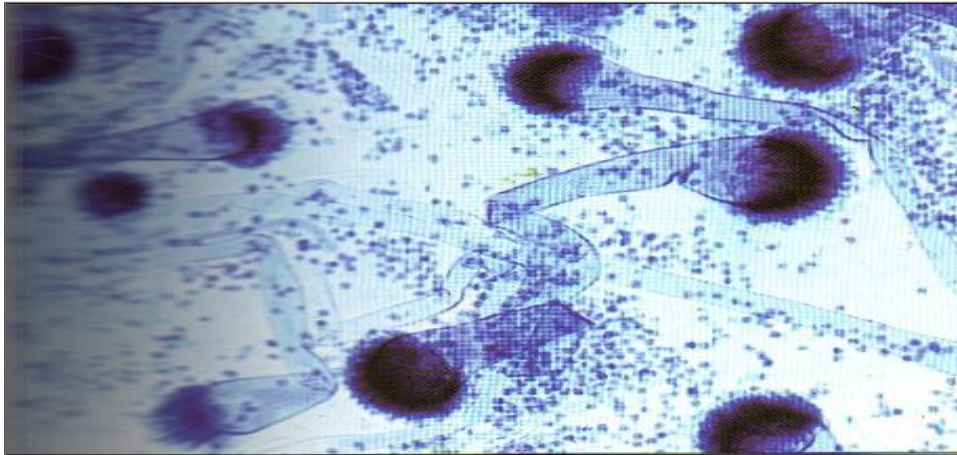


Figure n°04 : *Aspergillus fumigatus* (examen mycologique) (Klossek et al. , 2003)

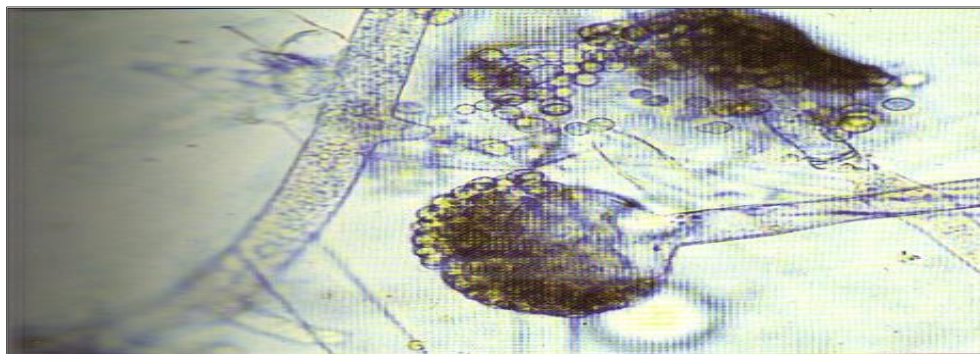


Figure n°05 : Mucorales (examen mycologique) (Klossek et al. , 2003)

8.2. Champignons responsables d'otites fongiques

Les espèces les plus fréquemment rencontrées dans les infections fongiques auriculaires appartiennent à différentes classes de champignons (Chabasse , 2008).

- ✓ Les Blastomycètes.
- ✓ Les Hyphomycètes
- ✓ Zygomycotina (zygomycètes).

Etude bibliographique

8.2.1. Les Blastomycètes

Ils se multiplient par simple bourgeonnement. Chez les Blastomycètes, parmi les levures d'intérêt médical, on individualise deux ordres : les Sporobolomycétales et les Cryptococcales. C'est dans ce dernier que l'on individualise les espèces appartenant aux genres *Cryptococcus*, *Candida*, *Trichosporon*, *Rhodotorula* et *Malassezia*. Il convient également de souligner la présence de « levures noires » qui sont les stades anamorphes d'un certain nombre d'espèces issues des Eumycètes. (Chabasse, 2008).

a. Genre *Candida*

Le genre *Candida* est incriminé dans plus de 80% des affections à levures. Bien qu'elles soient fréquentes sous les climats tropicaux, les levures du genre *Candida* ont une prévalence plus importante sous les climats tempérés (Hurst, 2001), et sont responsables de 5 à 40% des mycoses du conduit auditif dont la majorité est représentée par *Candida albicans* (Beer et al., 1990 ; Gray, 2005 ; Hueso et al., 2005 ; Kaur et al., 2000 ; Kurnatowski et al., 2001 ; Lohoue et al., 1996 ; Ozcan et al., 2003 ; Pradhan et al., 2003 ; Timothy et al., 2005). et *Candida parapsilosis* (Hueso et al., 2005 ; Kaur et al., 2000 ; Kurnatowski et al., 2001 ; Pradhan et al., 2003 ; Martin et al., 2005). Les autres espèces incriminées sont représentées par *Candida tropicalis* (Lohoue et al., 1996 ; Yavo et al., 2004), *Candida guilliermondii* (Kurnatowski et al., 2001, Low et al., 1996 ; Kaur et al., 2000). *Candida krusei* (Kaur et al., 2000). *Candida kefyr* (Kaur et al., 2000 ; Ozkan et al., 2003). *Candida humicola* (Yao et al., 2001).

b. Genre *Malassezia*

Les levures du genre *Malassezia* font partie de la flore cutanée normale humaine. Elles sont à l'origine de nombreuses dermatoses superficielles. *Malassezia furfur* Elle est plus fréquente, dans les zones les plus riches en glandes sébacées et les cavités naturelles, telles que les oreilles. *Malassezia furfur* a été identifié par biologie moléculaire, comme l'agent responsable d'otite fongique, dans un cas d'otite moyenne, alors que la culture avait été négative. (Kim et al., 2002).

8.2.2 Les Hyphomycètes

Ces derniers regroupent tous les micromycètes filamenteux qui ont un stade « anamorphe ». C'est un groupe très hétérogène, dont la biologie moléculaire permet des rapprochements et

Etude bibliographique

même des rattachements à des genres issus essentiellement des Ascomycète. (**Samuels et al. , 1995 ; Taylor , 1993**).

a. Genre *Aspergillus*

Les champignons du genre *Aspergillus* sont des champignons filamenteux dont les hyphes (filaments) sont septés (cloisonnés). parmi les 300 espèces qui compose ce genre, *Aspergillus fumigatus* est responsable de 80 % à 90 % des aspergilloses humaines (**association française des enseignants de parasitologie , 2007**). Les espèces du genre *Aspergillus* sont les agents pathogènes les plus fréquemment rencontrés dans les otomycoses (**Pradhan et al. , 2003**). *Aspergillus niger* est l'agent le plus fréquemment responsable d'otites fongiques, suivi d'*Aspergillus flavus* puis d'*Aspergillus fumigatus* (**Kaur et al. , 2000**).

b. Genre *Fusarium*

Ce genre inclut des champignons imparfaits appartenant à la classe des Deutéromycètes. Le genre comprend près de 40 espèces souvent largement répandues (**Nelson et al. , 1983**). L'espèce *Fusarium solani* a été isolée dans 6,3% des cas d'otomycoses. (**Enweani et al. , 1997**).

c. Genre *Penicillium*

Sont des contaminants fréquents. Ce sont des saprophytes très répandus dans l'environnement, à l'origine de la dégradation de denrées alimentaires (**Chabasse et al. , 2002**). Les rares otites externes causées par les champignons du genre *Penicillium* se produisent surtout chez des patients immunodéprimés, malnutris ou malades chroniques (**Selesnich , 1994**). Il s'agit d'infection superficielle dont la prévalence varie, selon les auteurs, entre 1,56% et 9,48% (**Kurnatowski et al. , 2001 ; Vennewald et al. , 2003**). *Penicillium expansum* est cité parmi les champignons impliqués dans les otomycoses, par Gurr et al., 1997.

d. *Scopulariopsis brevicaulis*

Est une espèce inhabituelle, récemment observée dans l'otomycose (**Hennequin et al. , 2000**). Bien qu'elle ait déjà été citée en 1986 par Grigoriu et al. Comme agent responsable d'otomycoses, seuls deux cas documentés ont été rapportés : l'un en 1994

Etude bibliographique

survenu après une tympanoplastie, l'autre en 2002 dû à une contamination d'origine tellurique (**Besbes et al. ,2002 ;Lohoue et al. , 1996**).

e. *Scedosporium apiospermum*

Les otomycoses causées par *Scedosporium apiospermum* sont extrêmement rares. Tous les cas d'otomycoses dus à ce champignon ont été rapportés chez des patients au stade SIDA (**Bhally et al., 2004 ; Chai et al . ,2000**). En 2004, Bally et al. rapportent le cas d'une otite externe et moyenne due à *Scedosporium apiospermum* chez un enfant immunocompétent (**Bhally et al. , 2004**).

f. Genre *Exophiala*

Est une levure noire qui est isolée des réservoirs d'eau oligotrophiques récemment observé dans les otomycoses (**Hennequin et al. , 1994**). La contamination pourrait aussi provenir de matériels d'inhalation mal séchés. Il s'agit essentiellement d'un zoo-pathogène. Cette espèce est exceptionnellement responsable de mycoses superficielles chez l'homme (**Chabasse et al. ,2002 ; Kerkmann et al. , 1999**). Un cas unique d'otite externe chronique due à *Exophiala dermatitidis* a été décrit en 1999 (**Kerkmann et al. ,1999**).

8.2.3 Les zygomycètes

Ce sont des champignons soit opportunistes comme les Mucorales qui, à elle seules, comptent 49 genres et 170 espèces. Soit exotiques comme les entomophtorales .Deux différences fondamentales permettent de les distinguer des autres champignons :

- ✓ d'une part, le mycélium végétatif est plus large , souvent dilaté et peu cloisonné
- ✓ d'autre part, les spores asexuées chez les mucorales se forment à l'intérieur de sacs à l'extrémité du filament appelés sporocyste. (**Klossek et al. ,2003**)

a. Genre *Rhizopus*

Les champignons du genre *Rhizopus* sont isolés du sol et de substrats divers fruits, légumes, céréales dont le riz mais aussi du compost et des eaux usées. Ce sont des agents responsables de 0,6 à 12% des otomycoses. (**Kaur et al . , 2000**).

Etude bibliographique

b. Genre Mucor

Les champignons du genre Mucor sont des agents responsables de 1,2% des otomycozes (**Carrat et al. , 2001 ; Chander et al. ,1996 ; Pradhan et al .,2003**).Un cas mortel d'otomycose causée par un champignon du genre Mucor a été rapporté chez un patient immunodéprimé: l'otomycose s'était compliquée en méningo-encéphalite (**Haruna et al. ,1994**).

b. Absidia corymbifera

Absidia corymbifera est la seule espèce reconnue comme pathogène. Les travaux de Jain et al sur l'effet fongistatique de molécules ont porté sur les champignons isolés, dans un service ORL, chez des patients atteints d'une otomycose. Parmi ces champignons figurait *Absidia corymbifera*. (**Jain et al. ,1994**).

Donc Les espèces fongiques responsables d'otomycozes, pour lesquelles des données chiffrées existent dans la littérature, sont répertoriées dans le (**Tableau n°04**).

Etude bibliographique

Tableau n°04 : Prévalence des espèces fongiques responsables d'otomycoses. (Riah , 2010).

	Paul ose et <i>al.</i> , 198 9 (He nne quin et <i>al.</i> , 199 6	Yehia et <i>al.</i> , 1990 (Chand er et <i>al.</i> , 1996 ; Kaur et <i>al.</i> , 2000)	Jais w et <i>al.</i> , 1990 (Kau r et <i>al.</i> ,	Sagnol li et <i>al.</i> , 1993	Lohou e Petmy et <i>al.</i> , 1996	Chande r et <i>al.</i> , 1996	Enwea ni et <i>al.</i> , 1998	Henneq uin et <i>al.</i> , 2000	Kaur et <i>al.</i> , 2000	Dysckho ff et <i>al.</i> , 2000
Genre <i>Aspergillus</i>	79,5 %	92,1%				95%		54 à 95%	79,4 %	55 à 95%
<i>A. niger</i>	54,4 %	70,9%	34%	33,8%	12,7%	57,7%	43,8%		36,9 %	66,6%
<i>A. flavus</i>		15,9%		25,8%	6,6%	33,7%			1,4%	
<i>A. fumigatus</i>	25,1 %	5,6%		12,9%	24,7%	3,7%	6,3%		41,1 %	3,7%
<i>A. glaucus</i>				1,61%						
<i>A. nidulans</i>				1,61%						
Genre <i>Candida</i>	17%	7,3%	46%						13,7 %	5 à 40%
<i>C. albicans</i>				16,1%	27,1%		12,5%		8,2%	
<i>C. tropicalis</i>					0,6%	3,7%				
<i>C. krusei</i>					21,7%					
<i>C. kefyr</i>					2,4%					
<i>C. glabrata</i>					1,8%					

9. Facteurs prédisposants

L'environnement et les pathologies associées de l'hôte ont un rôle considérable dans le développement des otomycozes. Leur recherche et leur identification sont importantes à connaître pour assurer le traitement le plus efficace et surtout éviter les récurrences. (**Klossek et al. , 2003**).

9.1. Facteurs liés à l'environnement

9.1.1. Chaleur et humidité

Ces deux facteurs semblent plus liés à l'épidémiologie de l'otomycoze qu'au risque de développer une otomycoze. Les *Aspergillus* sont plus souvent responsables des otomycozes dans les régions chaudes et humides alors que les *Candida* semblent plus fréquemment en cause dans les régions tempérées. Mais l'analyse de la littérature ne permet pas de conclure que les otomycozes sont plus fréquentes dans les pays chauds et humides que dans les pays tempérés. (**Klossek et al. ,2003**).

9.1.2. Baignades

Les baignades diminuent l'acidité de la peau du conduit auditif externe et altèrent le film cérumineux protecteur. il paraît logique que les bains répétés favorisent la survenue d'otomycozes .Alors que les baignades représentent un facteur de risque évident pour les otites externes et en cas particulier celles causées par *Pseudomonas aeruginosa* (**Wan et al. ,1995 ; Brook et al. ,1982**). elles ne paraissent pas aussi déterminantes dans les otomycozes . En effet il n'y a pas dans la littérature d'argument évident ou de preuves qui vont dans le sens d'une augmentation de fréquence des otomycozes après baignades. (**Klossek et al. , 2003**).

9.1.3. Chirurgie otologique et tympanoplasties

La chirurgie otologique associe plusieurs facteurs de risque tel que les traumatismes, les pansements occlusifs (favorisant la macération et la croissance de microorganismes), et l'utilisation de topiques antibio-corticoïdes (favorisant le développement des champignons aux dépens des bactéries). (**Klossek et al. , 2003**).

Etude bibliographique

9.1.4. Gouttes antibio-corticoïdes

L'utilisation de gouttes antibiotiques ou antibio-corticoïdes peut favoriser la survenue d'une otomyose en déséquilibrant la flore du profit des champignons. Il est assez habituel de constater la survenue d'une rechute d'otite externe initialement bactérienne, sous la forme d'une infection mycosique après traitement local par gouttes antibio-corticoïdes. (**Klossek et al. , 2003**).

9.1.5. Prothèses auditives

En dehors d'une intolérance ou d'une allergie de contact, il n'y a pas de lien démontré entre le port de prothèses auditives et la survenue d'otomyose. Par contre les embouts prothétiques doivent être évités en cas de dermite du conduit, qu'elle soit d'origine mycosique ou non , car l'occlusion du conduit par l'embout favorise dans ces cas la macération et l'entretien de l'infection . Ces constatations amènent à proposer un nettoyage régulier de l'embout prothétique par simple savonnage ou utilisation d'un produit spécifique. (**Klossek et al. , 2003**).

9.2. Facteurs liés au patient

9.2.1. Diabète

Le diabète semble favoriser la survenue d'otomyose et probablement leur gravité comme les otites externe dues à *Pseudomonas aeruginosa*. puisque la flore commensale du conduit auditif externes des patients diabétiques est normale, le risque accru d'otomyose est probablement du à d'autre facteurs tel qu'un déséquilibre de la flore locale. (**Salie et al. , 1996**).

9.2.2. Dermatoses

Plusieurs éléments lient les dermatoses aux otomyoses. En premier, la dermite séborrhéique qui peut intéresser l'oreille externe est liée à la présence d'un champignon, *Malassezia sp (Pityrosporum ovale)*. De plus la plupart des dermatites du conduit auditif externe quelle que soient leurs étiologies paraissent favoriser la survenue d'otomyoses du fait de la macération des débris épidermiques dans le conduit auditif externe et éventuellement par les traitements antibio-corticoïdes successifs qui ont pu être prescrits, voir le passage à la chronicité. . (**Klossek et al. , 2003**).

Etude bibliographique

Enfin des auteurs ont évoqué la possibilité d'une autocontamination de l'oreille externe à partir d'autres territoires cutanés déjà atteints (**Derebery et al. ,1996**). principalement pour les rares formes de dermatophyties.

9.2.3.Allergie et otomycoses

Le rôle de l'allergie a été évoqué dans la genèse des otomycoses. La dermite atopique peut intéresser l'oreille externe, en particulier le méat auditif externe. Les modifications caractéristiques de la peau et le prurit favorisent les lésions de grattages et la lichénification. De même, des topiques locaux ou des embouts de prothèses auditives peuvent déclencher une dermite de contact .Ces lésions dermatologiques favorisent le développement des mycoses (**Klossek et al. , 2003**) .

L'allergie fongique a aussi été évoquée dans le déterminisme des otomycoses chroniques. Derebery et coll. (**Derebery et al. ,1996**). Rapportent 14 cas d'otites externes chroniques résistantes aux traitements locaux, pour lesquels une intradermoréaction aux dermatophytes était positive .il n'existait pas forcément de mycoses dans d'autre territoire cutanés. mais la présence d'une intradermoréaction positive a amené l'auteur à évoquer une allergie fongique .Une immunothérapie associé à un régime alimentaire d'exclusion a permis une guérison complète dans 8 cas sur 14. (**Klossek et al. , 2003**).

10. Formes cliniques:

10.1. Otomycoses asymptomatiques:

Son diagnostic est en règle facile. L'otomycose est découverte lors d'un examen systématique. A L'otoscopie des dépôts, souvent colorés, greffés sur des débris de cérumen, sont observés. Ce sont, soit des masses blanchâtres « cotonneuses, neigeuses » évocatrices d'otomycose à *Candida albicans*, soit des sécrétions « charbonneuses » évocatrices d'otomycose à *Aspergillus niger*.Cet aspect s'observe volontiers dans des cavités d'évidement ou les filaments mycéliens poussent sur les berges de la cavité insuffisamment aérée (**Figure n°06**).Après détersion de ces dépôts sous microscope, la peau du conduit auditif et la membrane tympanique apparaissent intactes. (**Klossek et al. , 2003**).

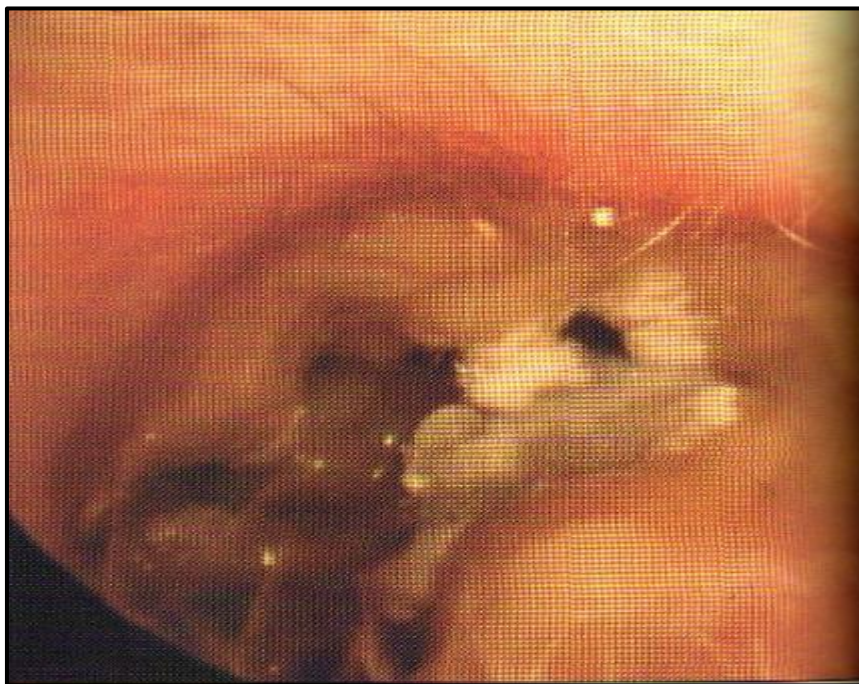


Figure n°06 : Otomycose aspergillaire au niveau d'une cavité d'évidement. (Klossek et al. , 2003).

10.2. Otomycoses simples aiguës

Au stade initial, il existe un prurit modéré et une hyperhémie de la peau du conduit auditif externe. La présence de filaments colorés sur les sécrétions permet d'évoquer le diagnostic. A un stade plus évolué, le patient consulte pour une otalgie intense associée à une otorrhée, un prurit avec une sensation de cuisson cutanée, une hypoacousie et une sensation d'oreille bouchée. La pression exercée sur le tragus et l'examen au spéculum entraînent une exacerbation de la douleur. L'otoscopie montre un comblement du conduit auditif externe par une masse humide, parfois comparée à du papier buvard. Dont la couleur varie du jaunâtre au noir. Après détersion sous microscope, la peau du conduit auditif externe se montre très inflammatoire, douloureuse, et saigne au contact. la membrane tympanique peut être le siège d'une myringite granuleuse évocatrice, qui n'est cependant pas spécifique de l'infection fongique. En l'absence de traitement adapté, les signes fonctionnels s'intensifient.

L'inflammation peut s'étendre, des adénopathies satellites prétragiques peuvent se constituer, et une perforation tympanique peut survenir : C'est le clou mycosique. (Klossek et al. , 2003).

10.3. Otomycoses chroniques

L'inflammation du conduit auditif externe est diffuse. La présence de plages cotonneuses, charbonneuses ou filamenteuses fait souvent défaut. L'absence d'amélioration, l'aggravation des symptômes après un traitement antibiotique et corticoïde local, ou la récurrence rapide doit attirer l'attention du praticien, et faire évoquer le diagnostic. Il faut également y penser devant un eczéma du conduit qui ne guérit pas ou qui récidive après l'arrêt des traitements. Dans ces formes, les prélèvements mycologiques et bactériologiques sont utiles pour confirmer le diagnostic. En cas de récurrence, quelques semaines après la fin des soins, ou s'il persiste une anomalie de la peau du conduit, il est fondamental de rechercher une dermatose sous-jacente, et tout particulièrement une dermite séborrhéique, un psoriasis, une dermatite atopique ou une dermite de contact. Ces dermatoses peuvent être limitées au conduit auditif externe ou s'accompagner d'autres lésions typiques dans d'autres territoires cutanés. (Pigatto et al., 1991).

10.4. Otomycose et perforation tympanique

L'association d'une perforation tympanique et d'une otomycose pose deux problèmes au praticien : éliminer une otite externe invasive et adapter le traitement à cette perforation qui contre-indique l'emploi de nombreux agents locaux ototoxiques. A côté des surinfections mycotiques des otites moyennes chroniques à tympan ouvert et des cholestéatomes, l'otomycose du CAE inaugurale peut se compliquer d'une perforation tympanique «aiguë» appelée «clou mycosique» cette perforation est régulière, non marginale à bord inflammatoire, et siège le plus souvent dans le quadrant antéro-inférieur. Après aspiration de l'otorrhée, la muqueuse tympanique visible à travers la perforation est inflammatoire. Il existe une hypoacousie de transmission moyenne à sévère constituant fréquemment la plainte principale du patient. (Lecanu et al., 2008). (Figure n°07)

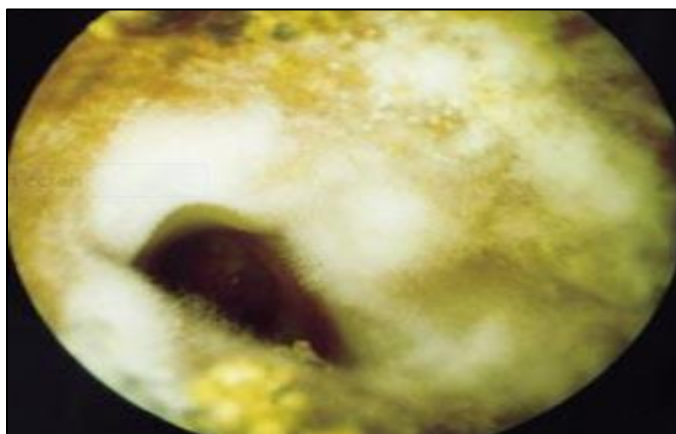


Figure n°07 : Otomycose chez un patient porteur de perforation tympanique

(Malard et al. , 1999).

10.5. Otomycose postopératoire

La présence de dépôts évocateurs d'otomycose dans le CAE en préopératoire doit amener à reporter systématiquement l'intervention : risque d'échec de la tympanoplastie, de colonisation persistante des cavités de l'oreille moyenne, voire de chondrite du pavillon. Le bouleversement de l'écologie du CAE, les plaies cutanées et l'emploi de gouttes auriculaires contenant des antibiotiques et/ou des corticoïdes expliquent la survenue d'une otomycose postopératoire. Il s'agit cependant d'une complication rare, qui doit être rapidement dépistée en raison du risque d'échec de l'intervention qu'elle entraîne (nécrose du greffon tympanique). Une otomycose postopératoire doit être suspectée dans les circonstances suivantes :

- signes fortement évocateurs d'otomycose (présence de filaments caractéristiques) ;
- persistance d'une inflammation suintante du CAE malgré le traitement antibiotique local postopératoire. Un prélèvement doit toujours être réalisé, idéalement après 72 heures d'arrêt des gouttes auriculaires. **(Lecanu et al. , 2008).**

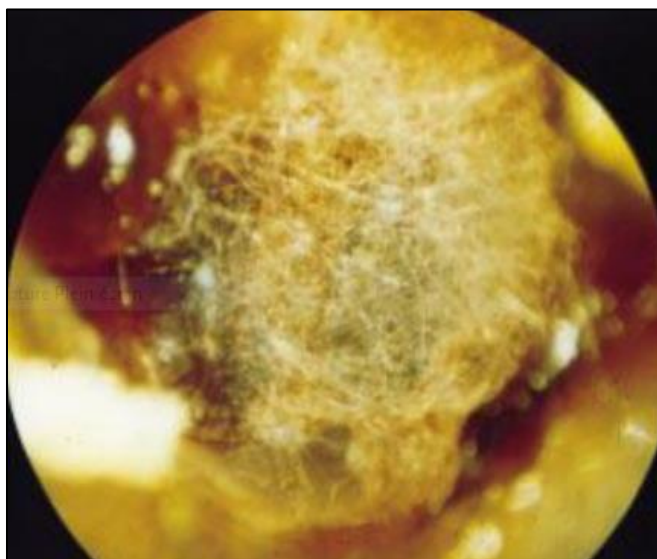


Figure n°08 : Otomycose survenue au cours de la surveillance postopératoire d'une patiente opérée de stapédecotomie (Malard et al. ,1999).

10.6. Otomycose nécrosante ou maligne

L'otite externe maligne est une ostéomyélite de l'os temporal, le plus souvent due à *Pseudomonas aeruginosa*, pouvant infiltrer la base du crâne et entraîner des conséquences neurologiques graves pouvant mettre en jeu le pronostic vital. L'otomycose externe nécrosante a été décrite à plusieurs reprises. Le tableau clinique d'otomycose nécrosante ne diffère pas des autres formes « classiques » d'otites externes nécrosantes et le diagnostic est posé lors des résultats du prélèvement. L'agent le plus souvent rencontré est *Aspergillus*. Quelques cas ponctuels impliquant des agents plus rares ont été décrits (*Scedosporium apiospermum*, *Malassezia sympodiale*, blastomycose), rencontrés notamment lors d'immunodépressions profondes (greffes de moelle, etc.). Cette forme grave d'otomycose touche presque exclusivement les sujets immunodéprimés : syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) et aplasie médullaire, plus rarement diabète. (Lecanu et al. ,2008).

11. Traitement

11.1. Définition des antifongiques

Les antifongiques sont des molécules capables de détruire spécifiquement les différents champignons impliqués en mycologie médicale (fongicide), ou au moins de réduire leur prolifération (fongistatique). (Galès , 2009).

Etude bibliographique

11.2. Cibles des antifongiques

L'ergostérol membranaire : la membrane plasmique de la levure est constituée d'une bicouche lipidique incrustée de protéines. Cette membrane joue le rôle de barrière entre le microorganisme et l'extérieur, tout en permettant les échanges. L'ergostérol est un constituant essentiel nécessaire au maintien de la structure. L'activité fongique des dérivés azolés repose sur l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol, empêchant la constitution d'une membrane plasmique fonctionnelle. Les polyènes, tel que l'amphotéricine B (AMB), quant à eux, interagissent directement avec ce constituant membranaire. Cette interaction forme des pores perméables dans la membrane de la levure. (Figure n°09).

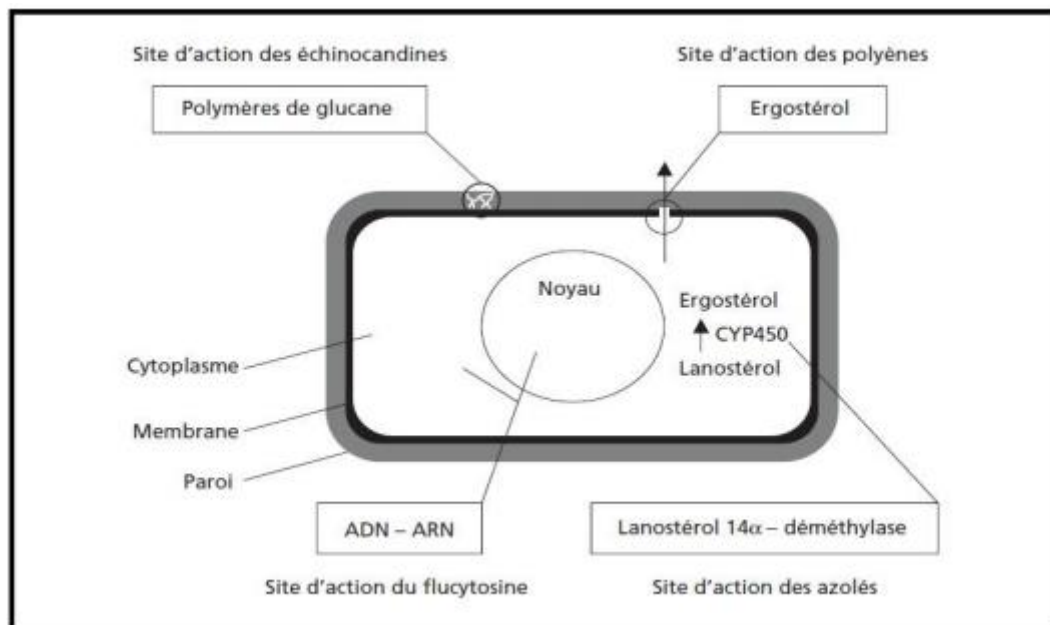


Figure n°09 : Sites d'action des antifongiques, (Galès , 2009).

- La paroi cellulaire fongique C'est la cible privilégiée des échinocandines. Elles inhibent la biosynthèse des glucanes de la paroi par l'inhibition de la β (-1 ,3) glucane synthétase. Cela entraîne l'arrêt de la synthèse de la paroi cellulaire (effet fongicide).
- Le métabolisme pyrimidique : Certains antifongiques tel que les dérivés pyrimidiques peuvent inhiber la biosynthèse d'ADN ou encore interférer avec la traduction des ARN en protéines fongiques. (Galès, 2009).

10.3. Classe des antifongiques

Il n'existe à ce jour que quatre classes d'antifongiques : les polyènes, les dérivés azolés les dérivés pyrimidiques et les échinocandines.

10.3.1. Les polyènes

Dans cette classe on trouve:

- L'Amphotéricine B (Fungizone®):cet antifongique a un spectre large comprenant les levures, les champignons filamenteux et les champignons dimorphiques .Elle est utilisée par voie intraveineuse pour traiter les mycoses systémiques ou profondes.
- La Nystatine (Mycostatine®):cet antifongique a une absorption digestive quasi nulle, ce qui en fait un traitement de choix pour les mycoses buccales pouvant être étendues au restant du tube digestif.

10.3.2. Les azolés

Ce sont des molécules synthétiques, utilisées en applications locales ou par voie systémique ; elles trouvent leurs indications aussi bien dans les mycoses superficielles que profondes.

a. Les imidazolés On distingue:

- ✓ Le miconazole (Daktarin®) en applications buccales.
- ✓ Le kétoconazole (Nizoral®) a été le premier dérivé azolé actif par voie systémique, réservé aux mycoses buccales sévères.

b. Les triazolés

- ✓ Le fluconazole (Triflucan®) utilisé par voie orale ou systémique est très actif sur la plupart des levures, notamment *Candida albicans*.
- ✓ L'itraconazole (Sporanox®) utilisé par voie intraveineuse dans certaines mycoses exotiques comme l'histoplasmose.

10.3.3. Les dérives pyrimidiques

- ✓ Le 5-fluorocytosine (Ancotil®) est le seul analogue structural des bases pyrimidiques. La 5-Flucytosine inhibe la biosynthèse d'ADN ou interfère avec la traduction des ARNm en protéines fongiques. La 5-Flucytosine est fongicide et sélective des champignons car les cellules des mammifères ne possèdent pas la cytosine désaminase, enzyme cible de cet anti métabolite, de la voie de métabolisation des pyrimidines. . (Galès , 2009).

Etude bibliographique

10.3.4. Les échinocandines

Les échinocandines sont une nouvelle classe d'antifongiques systémiques présentant un mode d'action innovant, spécifique et original. Ces molécules interfèrent avec la synthèse de la paroi fongique par inhibition non compétitive de la 1, 3 β -D-glucanesynthétase, système enzymatique présent chez la plupart des champignons pathogènes. Leur spectre d'action est étendu, englobant les *Candida* spp., les *Aspergillus* spp. et *Pneumocystis carinii* (**Lacroix et al. , 2003**).

10.3.5. Autres antifongiques

- ✓ **Griséofulvine** : Son mode d'action invoque plusieurs mécanismes : blocage du déroulement des mitoses en métaphase, interférence avec la synthèse des acides nucléiques et inhibition des fonctions des microtubules. Toutes ces actions au niveau cellulaire altèrent la constitution de la paroi du filament fongique. La griséofulvine possède un spectre étroit limité aux trois genres de dermatophytes: *Epidermophyton*, *Microsporum* spp et *Trichophyton* spp. (**Zagnoli et al. , 2005**).

10.4. Les soins locaux :

il n'y a pas de traitement antimycosique efficace sans un nettoyage, une déterision du conduit auditif externe ou d'une cavité d'évidement, visant à supprimer les dépôts mycosique et les sécrétions purulentes associées. Il faut utiliser le microscope opératoire et une canule d'aspiration stérile. L'examen bactériologique et mycologique doit être réalisé dans les formes récidivantes. (**Paulose et al. , 1989 ; Sean , 1988**).

10.5. La désinfection et les antiseptiques locaux

En cas de surinfection (*Pseudomonas* , *Staphylococcus* sp), certains antiseptiques et antibiotiques locaux peuvent être utiles.

Le peroxyde d'hydrogène à 10 % boraté à saturation (eau oxygénée boratée) qui de surcoit a des propriétés fongitoxiques , mais insuffisantes pour en faire le traitement local d'une otomyose .

Le polyvidone iodée (Bétadine® dermique à 10 %) est un fongicide . Son ototoxicité potentielle doit faire récuser son utilisation prolongée au-delà de 7 jours en cas de perforation tympanique associée. (**AFFSAPS , 2002**).

Etude bibliographique

10.6. Les antibiotiques locaux :

Les Quinolones locales (ofloxacin®) ont un spectre adapté aux pyocyaniques et aux staphylocoques et ne sont pas ototoxiques en cas de perforation tympanique. L'utilisation au long cours (supérieurs à 10 jours) peut cependant favoriser l'apparition de résistance bactérienne. (AFFSAPS, 2002).

Les aminoasides seuls (Gentamycine®)ou associées (Oxytétracycline+Polymyxine B +Dexaméthasone + Nystatine : Auricularum®) sont très efficaces en cas de surinfection bactérienne associée mais doivent être évités en cas de perforation tympanique , en particulier sèche (Source Vidal 2002) . la prescription doit toujours être inférieure à 10 jours pour éviter d'entraîner à terme l'apparition de bactéries résistantes.

10.7. Les antifongiques appliqués pour traitement d'otomycose

L'association Oxytétracycline + Polymyxine B + Dexaméthasone + Nystatine (Auricularum®) est la seule ayant stricto sensu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) en cas de d'otomycose(AFFSAPS , 2002).

Les traitements antifongiques à visée dermatologique : Ils sont proposés dans les récentes recommandations de l'AFFSAPS (AFFSAPS . ; 2002) .Deux classes sont utilisables (Malard , 1999). (Tableau n°05 et n°06).

Les antifongiques imidazolés avec un spectre large sur le groupe des aspergillacés, et un pouvoir bactéricide sur les germes Gram positifs. Les antifongiques polyéniques ont le désavantage d'être ototoxiques lorsqu'ils sont utilisés en présence d'une perforation tympanique . Même si les imidazolés ont une ototoxicité moindre , leur usage doit être prudent en cas de perforation tympanique associée .

Etude bibliographique

Tableau n°05 : Pharmacologie des médicaments antifongiques polyéniques et imidazolés (Klossek et al. ,2003).

Propriétés	Antifongiques polygéniques	Antifongique azolés
Mode d'action	Fongicide Bactéricide nulle	Fongistatique Bactéricide sur les bacilles gram positif
Durée de traitement	Durée minimale de 2 semaines (Candidose et Aspergillose)	Durée minimale de 2 semaines (Candidose et Aspergillose)
Absorption digestive	Nulle	Bonne
Toxicité	Rénale pour l'amphotéricine B par voie injectable	Hépatique pour les formes systémiques
Effet sur : <i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus</i> <i>Dermatophytes</i>	Sensible Sensibilité inconstante Toujours résistant	Sensible Sensible Sensible

Etude bibliographique

Tableau n°06 : Les formes commerciales des antifongiques locaux utilisables en otologie (Malard, 1999).

Classe antifongique	Nom commercial	Dénomination Commune Internationale (DCI)	Mode d'emploi
Polyénique	Fungizone® Lotion a 3 % Solution aqueuse	Amphotéricine B ®	2 à 4 applications par jour
Polyénique corticoïde et antibiotique	Auricularum®	Déxaméthasone , nystatine , polmyxine B , oxytetracycline	1 poudrage tous les 3 jours
Imidazolé	MyK®1 lotion excipient alcoolique	Sulconazole	2 application par jour
Imidazolé	Pevaryl®Spray- solution excipient alcoolique	Econazole	2 application par jour
Imidazolé	Amycor® spray solution	Bifonazole	1 application par jour
Imidazolé	Mycoster®solution 1 % excipient alcoolique	Ciclopiroxolamine	2 application par jour

10.8. Prophylaxie

La prophylaxie est préférable à la thérapie dans la plupart des affections comme les otomycoses tout en éliminant des facteurs de prédisposition pour faire baisser l'incidence et améliorer le traitement (Selesnich , 1994).

Il faut surtout limiter l'exposition à l'eau ainsi que la rétention d'humidité dans le conduit auditif externe, tout en maintenant l'intégrité de la barrière cutanée. Pour ce faire, on peut enlever le cérumen obstruant le conduit et conseiller au patient d'utiliser des gouttes acidifiantes avant ou après la baignade ou encore au coucher, surtout pour les nageurs, d'assécher le conduit auditif à l'aide d'un séchoir à cheveux tout en étant prudent pour éviter les blessures du conduit.

Etude bibliographique

Le traitement des problèmes dermatologiques favorise le maintien de la barrière cutanée pour cela les patients atteints d'otomycoses doivent subir un examen dermatologique fréquent afin de diagnostiquer, de traiter simultanément les dermatomycoses et l'otomycose, et d'empêcher la récurrence des deux infections.

En 1990, Robinson et al ont observé que la conservation du CAE au sec était plus efficace avec des bouchons auriculaires à la vaseline. Afin d'éviter des allergies du CAE, il faut éliminer toute utilisation de goutte auriculaires suspectes et éviter une utilisation prolongée de certaines préparations auriculaires (**Hawke et al. ,1984 ; Pak et al. ,1997**).

Pour les otomycoses invasives, la correction des facteurs physiopathologiques de prédisposition sous-jacentes (aération des sinus infectés, ablation des sondes à demeure contaminées, ou traitement de l'acidose et déshydratation chez les patients diabétiques) constitue la pierre angulaire du traitement. Malheureusement la correction des immunodéficiences sous-jacentes est souvent impossible.

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

1. Population et cadre d'étude

Les sujets éligibles pour cette étude, étaient des patients reçus en consultation au service D'ORL et de Chirurgie Maxillo-faciale à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire Cdt Abdelali Benbaatouche (HMRUC), durant la période allant de 10 mars au 30 avril 2019 chez lesquels un spécialiste avait diagnostiqué à l'examen clinique une otite externe où moyenne ou un prélèvement auriculaire a été pour chaque patient (2 écouvillon). Elle a porté sur l'isolement et l'identification de souches fongiques responsables d'otomyose chez des patients à consultation externe.

2. Recueil des données

Les données ont été recueillies à partir des dossiers médicaux des malades et de la consultation qui avaient été rapportées sur une fiche d'exploitation.

Pour chaque prélèvement ; on a rédigé une fiche de renseignement qui comporte :

- ✓ L'âge et le sexe du patient
- ✓ Les signes cliniques
- ✓ Les maladies associées.
- ✓ Le traitement antifongique s'il existe
- ✓ Les autres facteurs éventuels de prédisposition, notamment des habitudes courantes comme la baignade, le nettoyage quotidien du conduit auditif externe .

3. Matériels

3.1. Matériels de prélèvement

- ✓ Ecouvillons en coton stériles et secs.
- ✓ Bistouri (pour les squames).

3.2. Matériels et produits utilisés dans le laboratoire d'analyse mycologique

3.2.1. Matériels à usage permanent

- ✓ Anse de platine
- ✓ Bain marie.
- ✓ Bec Bunsen.
- ✓ Etuve (27C° - 37C°).
- ✓ Microscope optique.
- ✓ Poire.
- ✓ Portoir.
- ✓ Vortex.
- ✓ hotte à flux laminaire

Matériels et méthodes

3.2.2. Produits et matériels à usage unique

- ✓ Agar Agar.
- ✓ Bleu lactophénol et lactophénol.
- ✓ Boîtes à Pétri stérilisées.
- ✓ Eau distillée.
- ✓ Eau physiologique stérile à 9%.
- ✓ Auxacolor® .
- ✓ Lames et lamelles.
- ✓ Test BICHRO-DUBLI FUMOUIZE®.
- ✓ Pipettes Pasteur.
- ✓ PCB ((Pomme de terre - Carotte - Bile).
- ✓ Sabouraud- Chloramphénicol- Actidione.
- ✓ Sabouraud.
- ✓ Sérum (humain).
- ✓ Tube à essais stérile.
- ✓ Disques d'antifongiques commercialisés.

4. Méthodes

Les examens mycologiques ont été réalisés au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie Médicale à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine HMRUC dans des conditions aseptiques a une hotte à flux laminaire (**Figure n°10**).

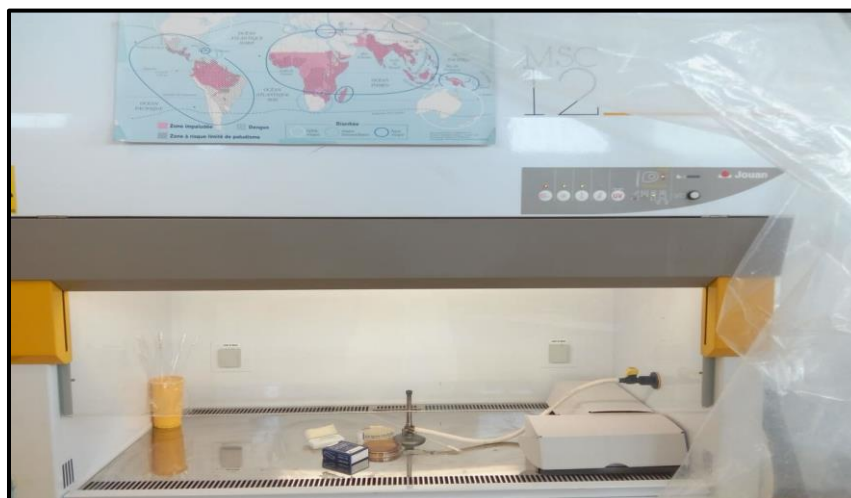


Figure 10 : Hotte à flux laminaire

Matériels et méthodes

*La Démarche de diagnostic mycologique :

La démarche de diagnostic mycologique d'otomycose comporte les étapes successives suivantes :

- ✓ Le prélèvement
- ✓ L'examen direct
- ✓ La mise en culture
- ✓ Identification et l'interprétation des résultats par l'antifongigrame

4.1. Modalités de prélèvement :

Le prélèvement est une étape essentielle ; qui conditionne la réussite de l'analyse mycologique, Il doit être réalisé d'une façon stérile et à distance de tout traitement antifongique afin d'éviter des faux négatifs en culture (**Anane et al. , 2007 ; Chabasse et al. ,2008**).

Ce prélèvement sera suivi à un examen direct et une mise en culture ainsi qu'une identification et interprétation des résultats par un antifongigrame.

Le prélèvement auriculaire est pratiqué sous **contrôle microscopique** pendant l'**examen otoscopique**, il se fait à l'aide d'écouvillons en coton stériles et secs. Pour chaque oreille on utilise deux écouvillons, le premier destiné à l'examen microscopique direct, l'autre pour la culture (**Figure n°11**).

Les prélèvements sont acheminés rapidement au laboratoire de parasitologie à l'hôpital militaire régionale universitaire de Constantine HMRUC.

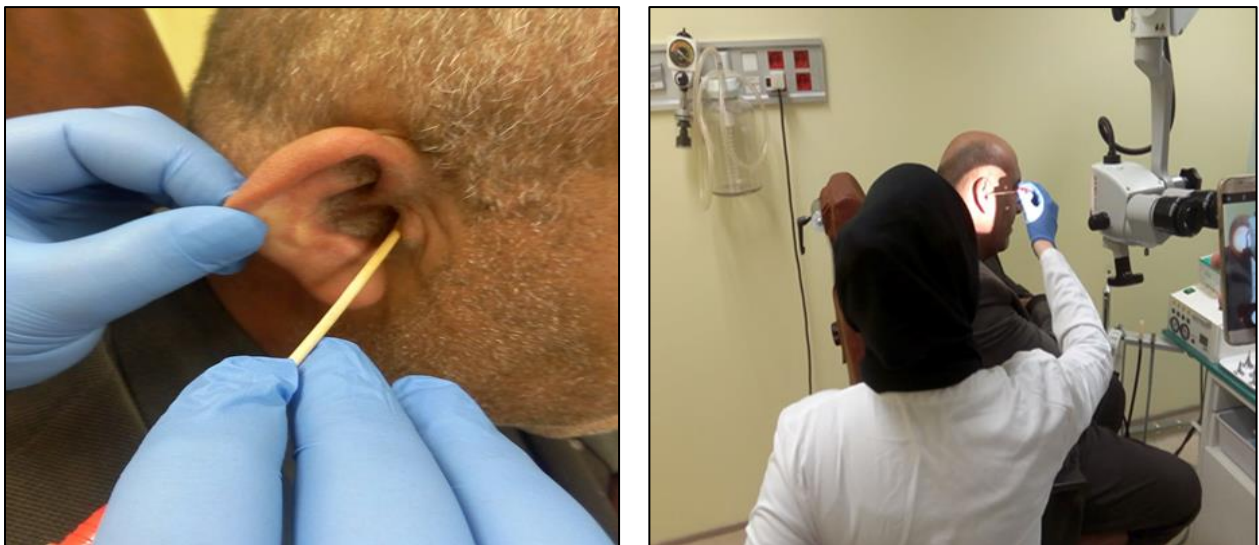


Figure 11 : Prélèvement auriculaire à l'aide d'écouvillons en coton stériles et secs.

Matériels et méthodes

5. Examen direct

L'examen direct des produits prélevés est à la fois incontournable et indispensable.

Dans la présente étude, un examen direct est effectué pour chaque échantillon, afin de visualiser les champignons dans une lésion. Il se fait facilement, avec peu de matériel ; un microscope, lame et lamelle, une goutte de l'eau physiologique à 9‰, un échantillon saturé (écouvillon), une pipette Pasteur. L'examen microscopique direct a été réalisé successivement à l'objectif ($\times 10$) et ($\times 40$).

Cet examen direct, nous permettra de mettre en évidence des matériaux fongiques tel que ; les filaments mycéliens, pseudo mycéliums et les blastospores, témoignant la croissance du champignon filamenteux et les levures, qui nous ont permis d'expliquer la signification de la pathologie fongique d'une espèce isolée à partir d'un écouvillon auriculaire par exemple l'observation de blastospores avec pseudo-mycéliums oriente vers une candidose.

5.1.à l'état frais

La technique est la suivante :

- ✓ Déposer quelques gouttes de prélèvement sur une lame microscopique propre
- ✓ Recouvrir d'une lamelle microscopique neuve et propre.
- ✓ Observer au microscope à l'objectif ($\times 40$).

❖ Lecture :

En présence de champignons levuriformes on observe des formations ovalaires ou arrondies bourgeonnantes ou non avec ou sans filaments.

En présence de champignons filamenteux on observe des filaments mycéliens habituellement cloisonnés et à paroi claire, on peut observer également des têtes aspergillaire (*Aspergillus sp.*) (**Figure n°12**)



Figure 12 : Examen microscopique direct à l'état frais.

Matériels et méthodes

5.2. Après éclaircissement et coloration

On a utilisé de Lactophénol, l'utilisation de cette technique de coloration c'est a pour but de mieux visualiser les éléments fongiques présents dans les prélèvements solides (squames) (Figure n°12).

La technique consiste à :

- ✓ Placer le matériel à examiner sur une lame neuve et propre.
- ✓ Ajouter 01 à 02 gouttes de bleu de coton au Lactophénol.
- ✓ Recouvrir d'une lamelle microscopique neuve et propre.
- ✓ Chauffer très doucement à la flamme de bec Bunsen.
- ✓ Observer au microscope à l'objectif ($\times 40$).



Figure 13 : Technique de coloration et éclaircissement.

❖ Lecture

En présence de champignons levuriformes on observe des formations ovalaires ou arrondies bourgeonnantes ou non avec ou sans filaments.

En présence de champignons filamenteux on observe des filaments mycéliens habituellement cloisonnés et à paroi claire, on peut observer également des têtes aspergillaires (*Aspergillus sp.*).

6. Culture

6.1. Culture et isolement

La culture est indispensable dans tous les cas. Elle permet d'une part de récupérer le diagnostic d'une mycose si l'examen direct est négatif, d'autre part l'identification précise du genre et de l'espèce du champignon en cause et la détermination de sa sensibilité aux antifongiques.

Matériels et méthodes

Les échantillons provenant du conduit auditif contiennent des débris et des sécrétions qui peuvent être utilisés pour la culture mycologique, elle est réalisée à l'aide de l'écouvillon imprégné du prélèvement et promené dans un tube à essai sur une gélose selon la méthode de stries.

a. Les milieux

Les milieux utilisés sont : Sabouraud- simple, Sabouraud- Actidione- Chloramphénicol sont les deux milieux utilisés pour mettre en évidence les champignons incriminés dans les otites fongiques

- ✓ *Le milieu Sabouraud- Actidione- Chloramphénicol favorise la culture des champignons microscopiques grâce à son pH relativement acide.*
- ✓ *Le chloramphénicol est un antibiotique à large spectre, actif sur les bactéries à Gram négatif et à Gram positif.*
- ✓ *L'actidione, ou cycloheximide, inhibe les *Aspergillus*, les levures du genre *Cryptococcus*, certaines levures du genre *Candida*. Les dermatophytes et la plupart des levures du genre *Candida* sont sélectionnés.*

b. Durée d'incubation

Les cultures sont ensuite incubées à l'étuve à 26 et à 37°C. Le délai de croissance des champignons est variable. Les levures poussent en 24 à 48 heures, alors que les champignons filamenteux poussent en 48 heures à 20 jours. Les cultures sont suivies pendant une semaine à un mois.

7. Identification

Les techniques d'identification dépendent des champignons isolés :

7.1. Identification des levures (genre *Candida*)

L'identification des levures passe par plusieurs étapes qui sont comme suit :

7.1.1. L'aspect macroscopique

On observe des colonies blanc crème, de taille moyenne, ellipsoïde ou bien circulaire.

7.1.2. L'aspect microscopique

L'observation au microscope des champignons levuriformes est assurée par l'examen d'un petit fragment d'une colonie de levure entre lame et lamelle avec une goutte de liquide de montage (bleu Lactophénol) et examiné à l'objectif 10x et 40x. Lors de l'analyse microscopique y'a une présence des levures ovoïdes, à bourgeonnement multilatéral et présence de vrai et/ou pseudo-filamentation.

Matériels et méthodes

7.2. Identification de l'espèce

L'identification des espèces de levures s'effectue à l'aide de critères phénotypiques (tels que la production de filaments et des chlamydospores), de critères physiologique tels que l'assimilation ou la fermentation de certains sucres à l'aide de galeries (API AUX 20C ou 32C, Bio Mérieux) et finalement des critères immunologiques.

7.2.1. Critères phénotypiques

7.2.1.1. Test de Blastèse (Test de filamentation en sérum)

Ce test de germination est utilisé pour identifier les levures en recherchant la présence de tubes germinatifs permettant d'identifier les deux espèces *Candida albicans* et *Candida dubliniensis*.

❖ Méthode :

- ✓ Répartir 0,5 ml de sérum dans un tube à hémolyse
- ✓ Ensemencer la souche à tester qui est prélevé sur le milieu solide à l'anse de platine
- ✓ Homogénéiser le tube à l'aide de vortex pour obtenir une suspension d'opacité légère.
- ✓ Incuber le tube à 37 °C pendant 3 heures.

Pour la lecture, déposer une goutte de la suspension entre lame et lamelle, l'examiner au microscope à l'objectif (x40). On observe au microscope un ou plusieurs tubes fins de germination partant de la levure, et ne présentant aucune constriction à la base du filament. Ce filament peut être cloisonné (**Figure n°14**).

Matériels et méthodes

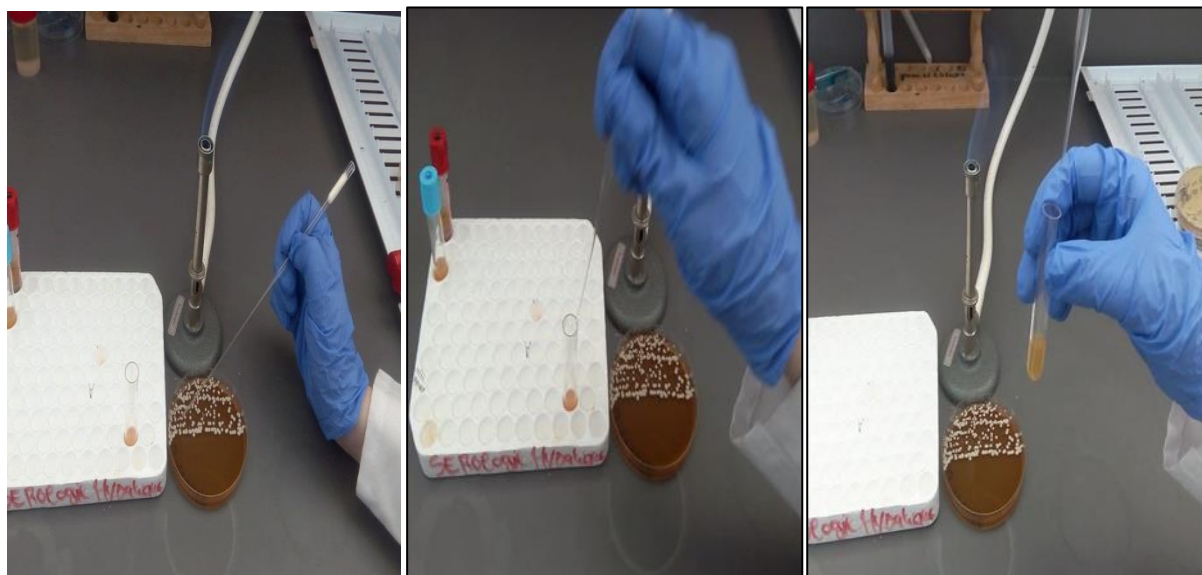


Figure 14 : le test de Blastèse.

7.2.1.2. Le test de chlamydoespores

Le but de ce test est la différenciation de *Candida albicans* et *candida dubliniensis* d'autres *Candida sp* sur la base de la formation des chlamydoespores : Ce sont de volumineuses cellules (10 à 15 micromètres), sphériques, à double paroi, réfringentes, le plus souvent terminales, mais pouvant être latérales. Pour cela, une goutte de suspension de levure est ensemencée sur milieu PCB (Pomme de terre, Carotte, Bile) puis incubation entre 23 et 28 °C à la température ambiante pendant 18 à 48 h (Anonyme, 2003).

Pour réussir ce test ; il faut suivre les étapes suivantes :

- ✓ Couler le milieu Pomme de terre-Carotte-Bile (PCB) en boîte de Pétri (l'épaisseur sur milieu doit être d'environ 05mm).
- ✓ Déposer 02 gouttes d'une suspension de levure dans le milieu à l'aide d'une pipette stérile.
- ✓ Déposer dessus deux lamelles neuves.
- ✓ Recouvrir du couvercle.

In vitro, on les obtient facilement, après 48 heures de culture sur un milieu pauvre en éléments nutritifs (PCB) .Du fait de leur spécificité à l'espèce *albicans*, leur recherche sert au diagnostic de l'espèce. La présence de chlamydoespores spécifiques de l'espèce *albicans* permet de confirmer le test de Blastèse. 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 28 °C pendant 24 à 48 heures.

Si après examen au microscope, on voit du pseudo-mycélium seul, il s'agit d'une

Matériels et méthodes

espèce non *albicans* du genre *Candida*. Si on observe une pseudo - filamentation et des chlamydozoïdes, il s'agit de l'espèce *Candida albicans*. Dans le cas où on n'a pas déterminé la présence de *Candida albicans*, il faut poursuivre l'identification (**Figure n°15**).



Figure 15 : Test de chlamydozoïdation.

7.2.2 Critères physiologique

7.2.2.1. La galerie AUXACOLOR TM 25(Auxanogramme)

La galerie est un système d'identification dont le principe repose sur l'assimilation des sucres, Treize sucres sont étudiés. La croissance des levures est visualisée par le virage d'un indicateur de pH. La galerie comporte également 3 tests enzymatiques dont un test de détection de l'activité phénoloxidasique de *Cryptococcus neoformans*. Elle permet d'identifier 31 espèces de levures et une espèce d'algue unicellulaire, *Prototheca wickerhamii*.

Les avantages de cette méthode sont : sa facilité de lecture, sa bonne sensibilité (91,9%) et son excellente spécificité (91,2%), (**Anane et al., 2007**).

a. Composition de la microplaque

L'Auxacolor® comprend (**Figure n°16**) :

- ✓ Un (01) contrôle négatif qui est un témoin négatif pour faciliter la lecture des résultats d'assimilation (cupule de couleur bleue).
- ✓ Treize (13) tests d'assimilation comportant les sucres suivants : glucose (GLU), maltose(MAL), cellobiose (CEL), saccharose (SAC), tréhalose (TRE), galactose

Matériels et méthodes

(GAL), adonitol (ADO), lactose (LAC), melezitose (MEL), raffinose (RAF), xylose (XYL), inositol (INO) et arabinose (ARA).

Chaque sucre est déshydraté en présence d'un milieu de base et d'un indicateur de pH : le pourpre de bromocrésol. La croissance d'une levure se traduit par le virage de l'indicateur du bleu au jaune et par l'apparition d'un trouble dans la cupule.

- ✓ Un (01) test enzymatique de détection de l'activité N-acetyl-galactosaminidase (Hexosaminidase : HEX):
- ✓ Une réaction positive se traduit par une coloration jaune de la cupule.
- ✓ Une réaction négative reste incolore.
- ✓ Un (01) test phénoloxydase (POX) permettant de détecter l'activité phénoloxidasique associé à un test de détection de l'activité proline arylamidase (PRO):
 - Une coloration marron de la cupule traduit une activité phénoloxidasique (POX) positive
 - une coloration jaune traduit une activité proline- arylamidase (PRO) positive.
- ✓ Une absence de coloration ou une coloration grise correspond à une réaction négative pour ces deux tests.

La coexistence des tests POX et PRO dans la même cupule se justifie par le fait que ce deux tests ne sont jamais positifs en même temps .Les seuls profils possibles sont : POX négatif/PRO négatif; POX positif/PRO négatif, POX négatif /PRO positif, ce qui permet l'interprétation colorimétrique décrite précédemment. (Tableau n°02).

b. Inoculation de la microplaque

- ✓ Préparer l'inoculum à partir d'une culture de 24 à 48h réalisée sur milieu de Sabouraud- Chloramphenicol- actidione (SAC). Dans des conditions stériles, ensemercer le milieu de suspension avec des colonies de souche pure (1 à 3 colonies identiques)
- ✓ Homogénéiser la suspension à l'aide d'un vortex.
- ✓ Prélever et distribuer, à l'aide d'une pipette, 2 gouttes de l'inoculum dans chacune des cupules de la microplaque.
- ✓ Recouvrir la microplaque avec l'adhésif en s'assurant que l'adhésion est parfaitement uniforme.
- ✓ Incuber pendant 24h à 48h à 27°C.

Matériels et méthodes

c. Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats se fait selon le **Tableau n°07** ci-dessous. .

Tableau 07 : Guide d'interprétation des réactions colorées

	Cupule	Test	Couleur/Interprétation	
Témoin Négatif	C. Neg	Contrôle négatif	Bleu	
			Négatif	Positif
Tests d'assimilation des sucres	GLU	Glucose (Témoin positif)	Bleu (a) ou Vert	Jaune (b) ou Incolore
	MAL	Maltose		
	SAC	Saccharose		
	GAL	Galactose		
	LAC	Lactose		
	RAF	Raffinose		
	INO	Inositol		
	CEL	Cellobiose		
	TRE	Trehalose		
	ADO	Adonitol		
	MEL	Melezitose		
	XYL	Xylose		
	ARA	Arabinose		
Tests enzymatiques	HEX	Détection de l'activité N-acétyl-galactosaminidase (hexosaminidase)	Incolore	Jaune
	POX/PRO	Détection de l'activité phénoloxydase de <i>Cryptococcus neoformans</i> (POX)	Incolore ou Gris (c)	Marron
		Détection de l'activité proline-arylamidase (PRO)		Jaune (b)

Remarque : le témoin ou le contrôle négatif a la couleur bleue



Figure 16 : Microplaque de type « Auxacolor® » après inoculation.

Matériels et méthodes

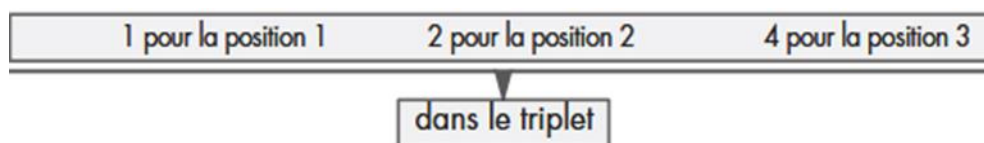
7.2.2.2. Méthodologie pour le codage et l'identification :

Les 16 caractères biochimiques, répartis dans 15 cupules (les tests POX et PRO, étant associés dans une même cupule), sont utilisés pour l'identification.

- Un profil numérique de "05 chiffres" est obtenu en regroupant par 03 les valeurs des 15 tests suivants :

1 ^{er} chiffre	Glucose	Maltose	Saccharose
2 nd chiffre	Galactose	Lactose	Raffinose
3 ^{ème} chiffre	Inositol	Cellobiose	Trehalose
4 ^{ème} chiffre	Adonitol	Melezitose	Xylose
5 ^{ème} chiffre	Arabinose	Hexosaminidase	Phenoloxidase

On attribue à chaque réaction négative la valeur zéro et à chaque réaction positive une valeur en rapport avec sa position dans le triplet :



L'addition des trois valeurs donne un chiffre qui permet l'obtention d'un profil numérique à 5 chiffres. Exemple : Glucoses (+), Maltose (+) et Saccharose (+) $1+2+4=$ le premier chiffre est 7.

- L'activité proline - arylamidase (PRO: cupule POX/PRO) sera notée + ou - selon la couleur observée:

→ Cupule jaune ou jaune pale ou jaune -vert : test PRO positif.

→ Cupule incolore ou grise ou gris -marron : test PRO négatif.

- Deux chiffres supplémentaires sont calculés selon la méthodologie décrites ci dessus et complètent le code .Ils représente les caractères suivants :

Pigmentation (PI.)	Arthrospores (AR.)	Capsule (CA.)
Mycelium/pseudo-mycelium (MY. PS-MY.)	Chlamydospores (CHL.)	Croissance à 37°C

Matériels et méthodes

L'identification finale repose donc sur le résultat des tests biochimiques, morphologiques et métaboliques ; qui permettent de déterminer un profil numérique. Ce dernier est recherché dans la base de données figurant dans le livre d'Auxacolor. (en annexe). Il est demandé de se rapporter à un tableau d'interprétation (rapporté en annexe) dans le cas d'obtention d'un profil numérique non référencié.

	GLU	MAL	SAC	GAL	LAC	RAF	INO	CEL	TRE	ADO	MEL	XYL
La souche	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	1	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
	1			0			4			0		

ARA	HEX	POX	PRO	PI	AR	CA	MY	CHL	37 C°
-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
0	2	0	0	0	0	0	0	0	4
2			0			4			

L'identification de la souche sera la suivante :

	Profil numérique			identification
	Tests biochimiques	Test PRO	Caractères complémentaires	
La souche	10400	-	04	<i>Candida glabrata</i>

Matériels et méthodes

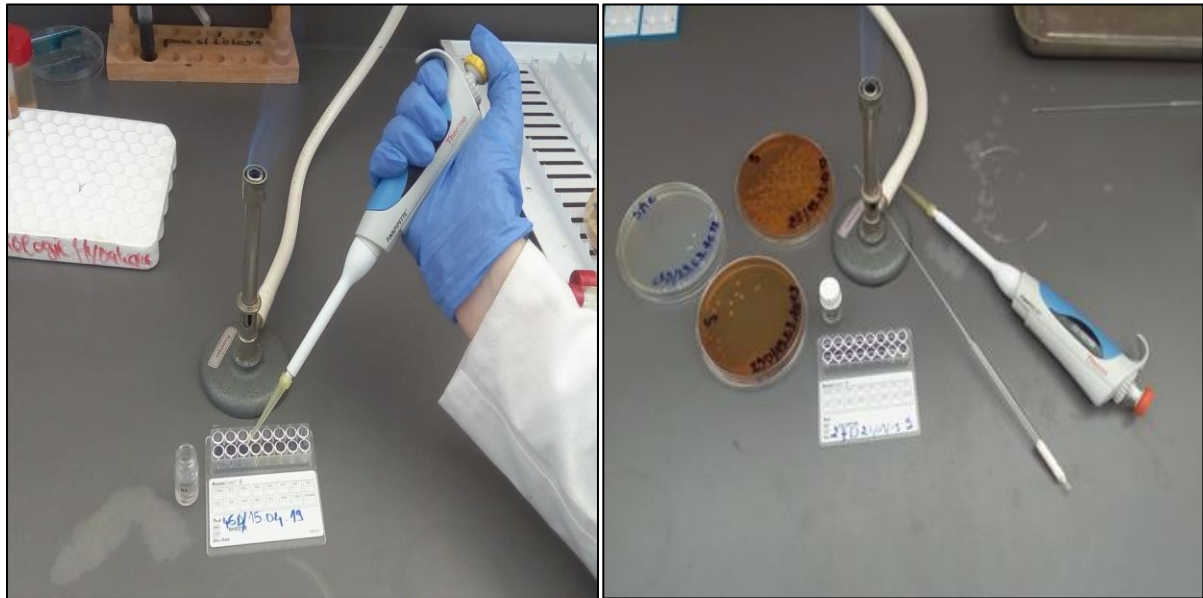


Figure 17 : Inoculation de la microplaque AUXACOLOR TM 2.

7.3.3 Critères immunologiques

a) Test de Co-agglutination sur lame : Bichro-latex albicans Fumouze

Principe

On utilise des particules de latex sensibilisées avec un anticorps monoclonal reconnaissant spécifiquement un antigène pariétal (démasqué par un réactif dissociant contenant des enzymes) des *Candida* du groupe *Candida albicans/Candida dubliniensis*. Ces particules de latex sensibilisées, en présence de *Candida albicans* ou *Candida dubliniensis* donneront une agglutination.

Mode opératoire

Laisser les réactifs revenir à température ambiante avant utilisation.

1-reconstitution du réactif dissociant :

-Enlever la capsule extérieure puis soulever légèrement le bouchon sans l'enlever complètement afin que l'air puisse pénétrer dans le flacon, ensuite enlever le bouchon en évitant toute perte de lyophilisat .

-Ajouter dans le flacon, le volume d'eau distillée exactement mesuré , indiqué sur l'étiquette du flacon .

-Reboucher le flacon et agiter par retournement pour bien dissoudre tout le lyophilisat .

Matériels et méthodes

2-Réalisation du test sur lame :

-Pour chaque culture à tester, déposer 20 μ L de réactif dissociant dans un cercle d'une lame à usage unique.

-A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une quantité de culture correspondant à 3-4 colonies.

-Dissocier les colonies dans la goutte de réactif dissociant et l'étaler sur toute la surface du cercle

-Après avoir bien homogénéisé, ajouter, à l'aide du compte-gouttes fourni dans le coffret, une goutte de réactif latex dans le cercle.

-A l'aide d'un agitateur à usage unique, mélanger et étaler sur toute la surface du cercle jusqu'à obtention d'une suspension homogène.

-Appliquer à la lame un lent mouvement oscillant circulaire pendant 5 minutes et observer l'apparition éventuelle d'agglutinats rouges sur un fond vert.



Figure 18 : Microplaque de Bichro-latex albicans Fumouze.

Matériels et méthodes

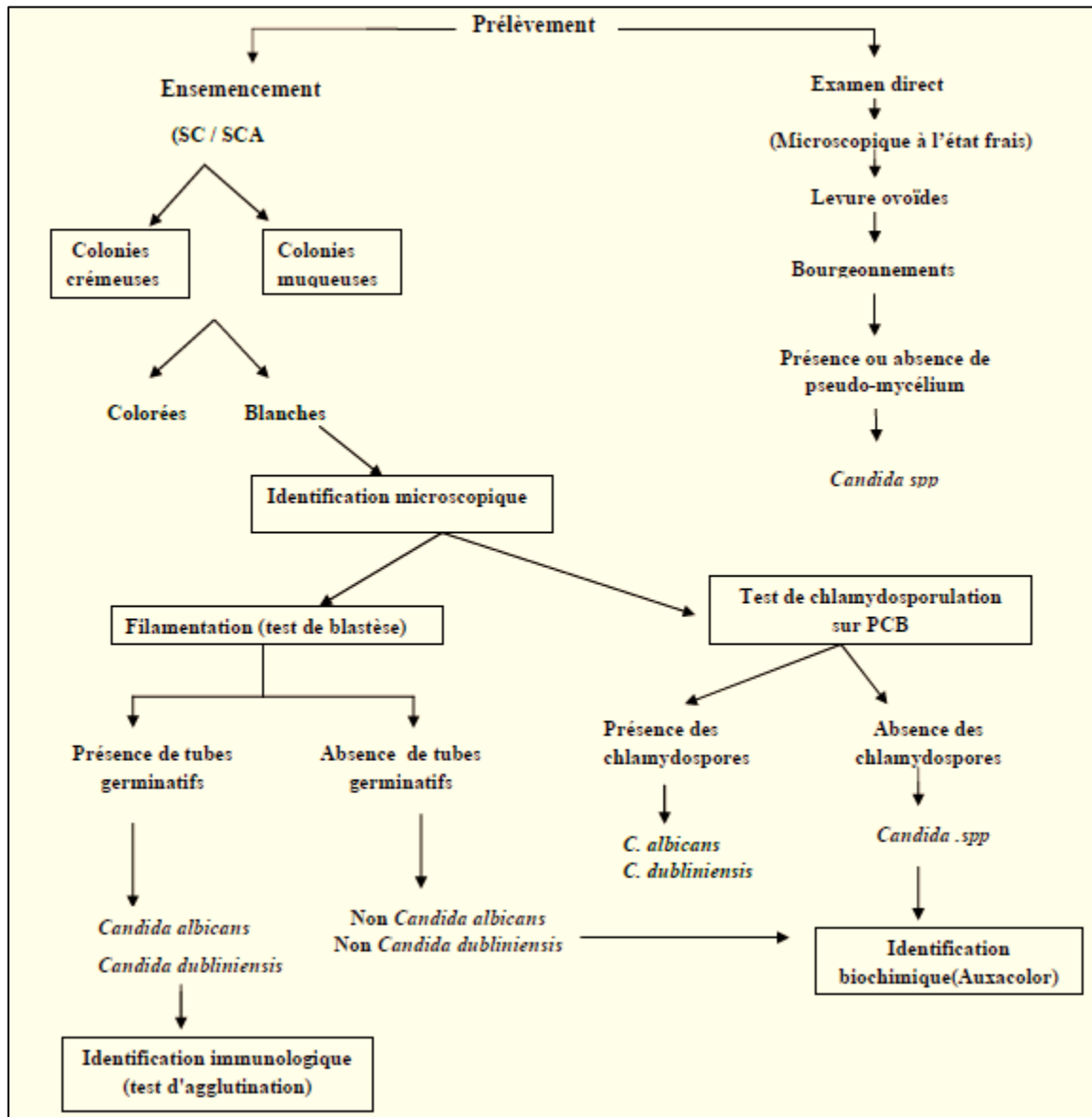


Figure 19 : Schéma d'identification de *Candida sp* (Guillaume , 2009).

7.3 /Identification des moisissures :

L'identification des moisissures fait essentiellement appel au caractère culturaux (identification macroscopique) et à la morphologie (identification microscopique) mais rarement à des propriétés biochimiques

a) *Identification macroscopique*

Les caractères morphologiques et culturaux sont déterminés après ensemencement des prélèvements auriculaires sur les deux milieux de cultures *milieu* Sabouraud- Actidione- Chloramphénicol et Sabouraud simple et incubée à deux températures différentes : 25°C , et 37°C pendant 7 jours. L'identification se fait à l'œil nue et elle se base essentiellement sur les caractères suivant.

- La vitesse de croissance (rapide, moyenne, lente)

Matériels et méthodes

- La texture des colonies.
- La couleur des colonies.
- La couleur du revers de la culture.
- Le mode de reproduction

b) Identification microscopique

L'identification microscopique est effectuée par un prélèvement d'un petit fragment mycélien à l'aide d'une anse de platine stérile. Puis le fragment est déposé sur une lame en lui ajoutant le Bleu de c, ensuite recouvert d'une lamelle ; L'observation est effectuée au microscope optique aux différents grossissements ($\times 10$, $\times 40$) ainsi qu'à l'immersion ($\times 100$).

L'étude microscopique du mycélium est basée sur.

- L'absence ou présence de cloisons
- Couleur des filaments mycéliens
- Mode de ramification des cloisons
- Différenciation des thallospores
- Eléments de fortification (ex : tête aspergillaire)

8/ Antifongigramme

C'est la méthode classique de l'antibiogramme qui consiste à déposer des disques d'ATF (prêt à l'emploi) sur un milieu solide préalablementensemencé.

Pour déterminer la résistance et/ou la sensibilité des souches fongiques isolées et identifiées ; aux agents antifongiques nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques), Cette méthode, par diffusion, utilise des disques dont la charge en principe actif est variable selon l'antifongique testé sont déposés sur un milieu de culture gélosé,ensemencé par inondation ou écouvillonnage. L'antifongique diffuse dans la gélose créant une zone d'inhibition de croissance du germe autour du disque, en fonction du diamètre de cette zone d'inhibition les souches peuvent être classées en sensibles, intermédiaires ou résistantes (**Figure n°20**).

Nous nous sommes limitées à l'étude de deux espèces de Candida, vu que l'antifongigramme ne s'applique au laboratoire de mycologie qu'à la demande du médecin traitant et qu'en cas de candidoses profondes

-Avantages de méthode de disques :

- Facile d'emploi.
- Permet d'évaluer la sensibilité des souches de Candida, Cryptococcus neoformans et les champignons filamenteux sporulés tels Aspergillus Sp.

Matériels et méthodes

8.1/ Mode opératoire

* Milieu de culture

Le milieu Sabouraud est coulé dans une boîte de Pétri jusqu'à une épaisseur de 04 mm (25ml).

*Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 24 heures, obtenue sur un milieu de purification (Sabouraud - Chloramphénicol). Pour ce fait, 05 colonies bien isolées de 01mm de diamètre sont raclées à l'aide d'une anse de platine et mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile.

L'inoculum ainsi préparé est homogénéisé au vortex de façon à obtenir une suspension dense.

* Ensemencement

Un écouvillon de coton est plongé dans la suspension. L'excès de liquide est éliminé en pressant fortement l'écouvillon contre la paroi du tube au-dessus du niveau du liquide.

Après séchage du milieu 15 minutes à 37°C, la totalité de la surface estensemencée à l'aide de l'écouvillon selon la méthode standard.

L'écouvillonnage est répété plusieurs fois en tournant la boîte de 60°, de manière à s'assurer de l'homogénéité de la répartition de l'inoculum sur toute la surface, y compris sur les bords.

La boîteensemencée est laissée ouverte pendant 3 à 5 minutes dans l'étuve à 37°C (sans dépasser 15 minutes) de manière à laisser absorber l'excès d'humidité avant de déposer les disques sur le milieu.

*Application des disques

Les disques d'antifongiques sont appliqués à l'aide d'un distributeur automatique (**Figure n°33**)

* Incubation

La boîte est incubée à 27°C dans un délai de 24 heures.

8.2 / Lecture et interprétation

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision, à l'aide d'une règle à l'extérieur de la boîte fermée.

Les résultats obtenus sont comparés aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture (en annexe) permettant ainsi de classer les souches fongiques dans l'une des catégories : Sensibles (S); Intermédiaires (I) ou Résistantes (R). Au total, dix (10) antifongiques sont utilisés pour déterminer les profils de sensibilité

Tableau 08 : Liste des antifongiques testés sur les deux souches de *Candida*.

Matériels et méthodes

N°	Disques d'antifongiques testés	Sigle	Charge
1	Éconazole	ECO	10 µg
2	Miconazole	MCZ	10 µg
3	Itrconazole	ITR	5 µg
4	Kétoconazole	KTC	10 µg
5	Amphotéricine B	AMB	20 µg
6	Flucytosine	AFY	1 µg
7	Griséofulvine	GRS	10 µg
8	Nystatine	NY	100 µg
9	Clotrimazole	CLO	50 µg
10	Métronidazole	MET	5 µg

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Analyse descriptive de la population d'étude avec otite clinique

1.1 Prévalence des otites fongiques

Durant la période d'étude, nous avons inclus 34 patients, Sur les 34 patients inclus, 18 cas se sont révélés positifs. Le taux de prévalence globale des otites fongiques au service d'ORL et de Chirurgie Maxillo-faciale à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire Cdt Abdelali Benbaatouche, Constantine(HMRUC) durant la période de deux mois (de 10 Mars 2019 à 30 Avril 2019) est de 53%.

Sur ces 18 patients, 14 patients ont présenté une infection auriculaire fongique avec un taux de prévalence de 78% et 4 patients ont présenté une infection bactérienne, avec un taux de prévalence de 22%. (Figure n°20).

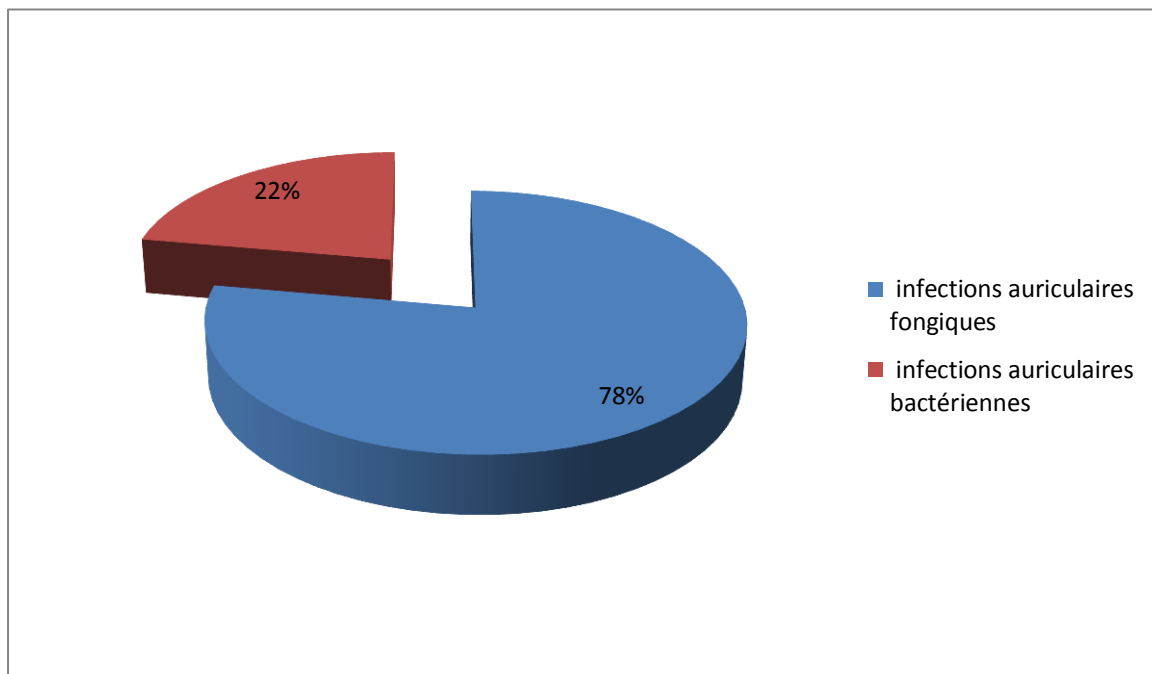


Figure 20 : Prévalence des otites fongiques

1.2 Prévalence des otomycoses selon la positivité des cas

La figure 21 représente la prévalence des prélèvements selon la positivité des cas pour les infections auriculaires d'origine fongiques pendant la période d'étude.

Résultats et discussion

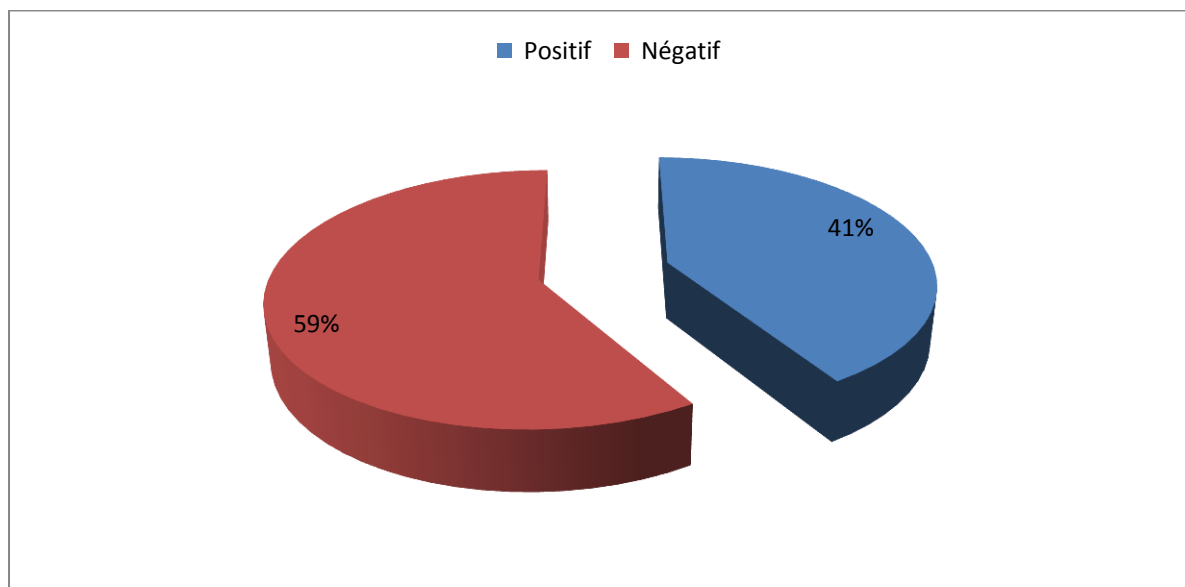


Figure 21 : Répartition des prélèvements selon la positivité des cas

Sur 34 échantillons, 14 cas se sont révélés positifs avec un taux de 41%.

Les prélèvements considérés comme positifs ont montré un développement fongique positif (présence de colonies) après culture sur les deux milieux Sabouraud et Sabouraud-Chloramphénicol Actidione (SCA); même si l'examen direct s'est montré négatif.(les levures ont poussé sur les deux milieux alors que l'*Aspergillus* sp pousse seulement sur la gélose Sabouraud).

Nous constatons aussi que 20 prélèvements se sont révélés négatifs (59%.) ; ce qui signifie que l'examen direct et la culture étaient à la fois négatifs.

Nous signalons une absence totale de contamination de nos échantillons prélevés et analysés.

Ceci se traduit par la localisation stratégique du laboratoire de mycologie : unité isolée au fond du laboratoire de microbiologie, bien propre ; et rarement fréquentée par le personnel et les stagiaires d'un part ; et les conditions d'asepsie rigoureuse suivies (le port des gants ; des calots ; et des bavettes) ainsi que l'usage de milieux très sélectifs ; ce qui a limité la contamination bactérienne et même fongique de l'air.

1.3 Sur le plan épidémiologique

1.3.1 Répartition selon le sexe

Chez les 14 patients avec otomycose, nous avons noté une prédominance du sexe masculin 11 cas (79%) pour 3 cas de sexe féminin (21%), soit un sexe ratio F/H de 0,3. la figure, illustre bien le pourcentage des cas d'otomycose en fonction de sexe des patients. (**Figure n°22**).

Résultats et discussion

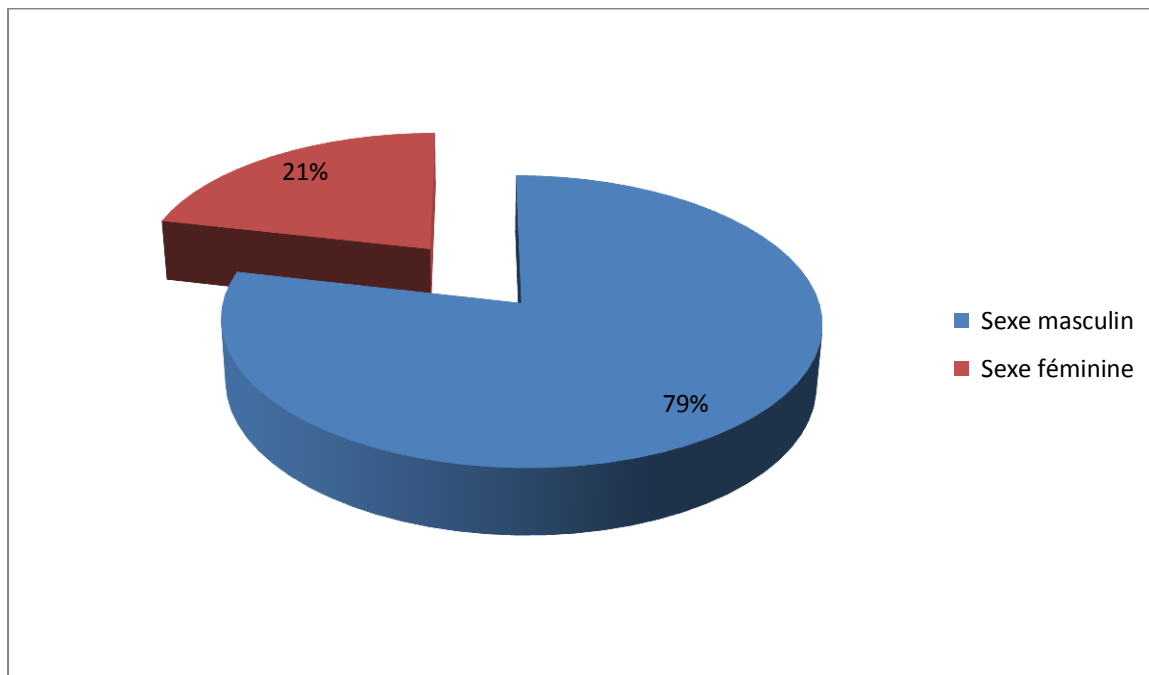


Figure 22 : Répartition des 14 cas d'otite fongique selon le sexe

Sur le plan épidémiologique, selon Keïta et al, le sexe masculin était majoritaire avec un sex-ratio de 12/15. Lors de notre étude, nous avons eu la même constatation avec une prédominance du sexe masculin, Le même constat a été fait en Inde et au Nigeria qui ont rapporté une prédominance masculine.

1.3.2 Répartition selon l'âge

L'âge des 34 patients prélevés a été compris entre [23 à 80] ans avec une moyenne d'âge de 42,44 ans.

Chez les 14 patients avec otomycose, la tranche d'âge la plus touchée entre (35-49 ans) avec un pourcentage de 67%,(**Figure n°23**).

Résultats et discussion

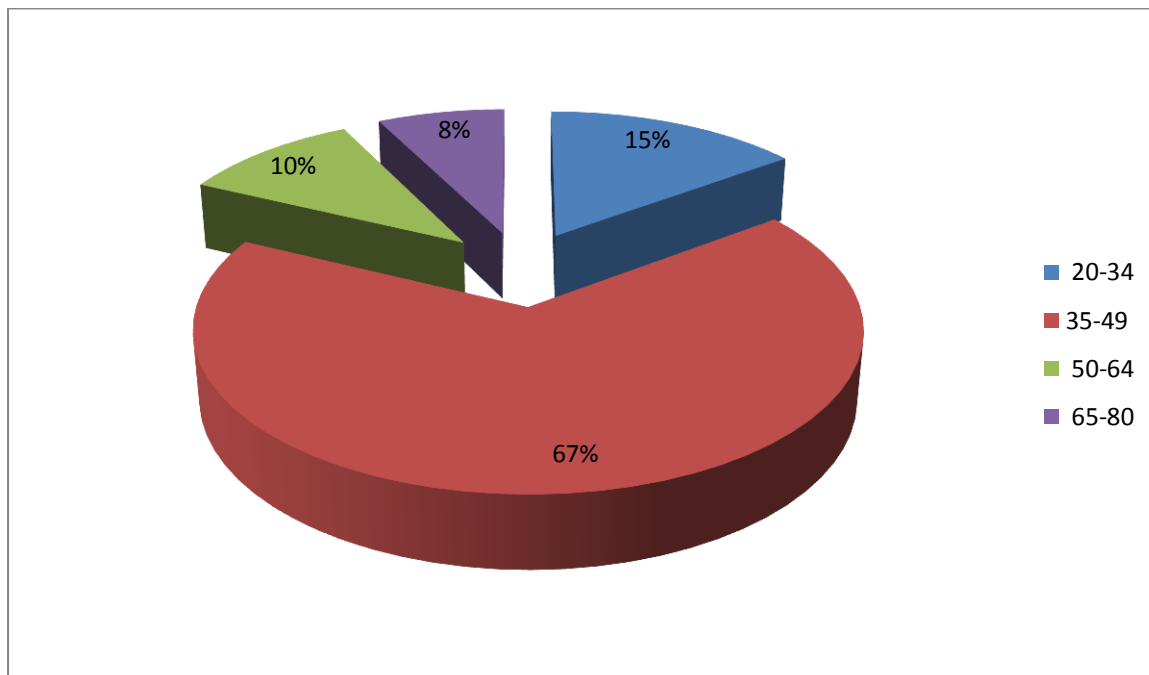


Figure 23 : Répartition des cas d'otite clinique selon l'âge des patients

L'incidence la plus élevée d'otite clinique a été enregistrée dans le groupe d'âge de 35-49 ans. Par ailleurs, la valeur la plus basse a été notée dans le groupe d'âge de 65-80 ans.

1.3.3 Répartition selon les facteurs favorisants

La survenue des otomycoses était statistiquement plus fréquente chez les patients ayant pour habitude de se nettoyer quotidiennement les oreilles au coton tige et de se baigner dans les réservoirs d'eaux naturelles ou les piscines, (Tableau n°09).

Tableau 09 : Répartition des cas selon les facteurs favorisants dans le groupe d'otomycose (14 patients)

les facteurs favorisants	Nombre de cas	Fréquence en %
Nettoyage auriculaire abusif (cotons tiges)	6	42,9%
Bains (réservoirs d'eau naturelle ou piscines)	4	28,6%
Eczéma du conduit auditif externe	1	7,14%
Diabète	3	21,4%

Résultats et discussion

La présence d'un facteur de risque était retrouvée chez 14 patients, plusieurs facteurs interviennent pour déterminer l'incidence d'otomycoses, Le nettoyage au coton tige (42,9%) et les baignades (28,6%) fréquentes étaient les facteurs de risque principaux chez les patients atteints d'otomycoses. Le nettoyage des oreilles se faisant par des cotons tiges provoquerait des traumatismes et un déséquilibre de la flore microbienne auriculaire et majorerait la fréquence des otomycoses, Jia et al ont identifié le nettoyage fréquent des oreilles comme des facteurs de risque (Adoubryn et al . , 2014).

1.4 Données cliniques

1.4.1 Répartition selon les signes cliniques

Les signes cliniques retrouvés sont dominés par des otalgies (35,7%), viennent ensuite les otorrhées (28,6%), prurit et sensation d'oreille bouchée (14,28%), les hypoacusies (7,14%), (Tableau n°10).

Tableau 10 : Répartition des cas selon les signes cliniques dans le groupe d'otomycose (14 patients)

les signes cliniques	Nombre de cas	Fréquence en %
Otalgie	5	35,7%
Otorrhée	4	28,6%
Hypoacousie	1	7,14%
prurit	2	14,28%
Sensation d'oreille bouchée	2	14,28%

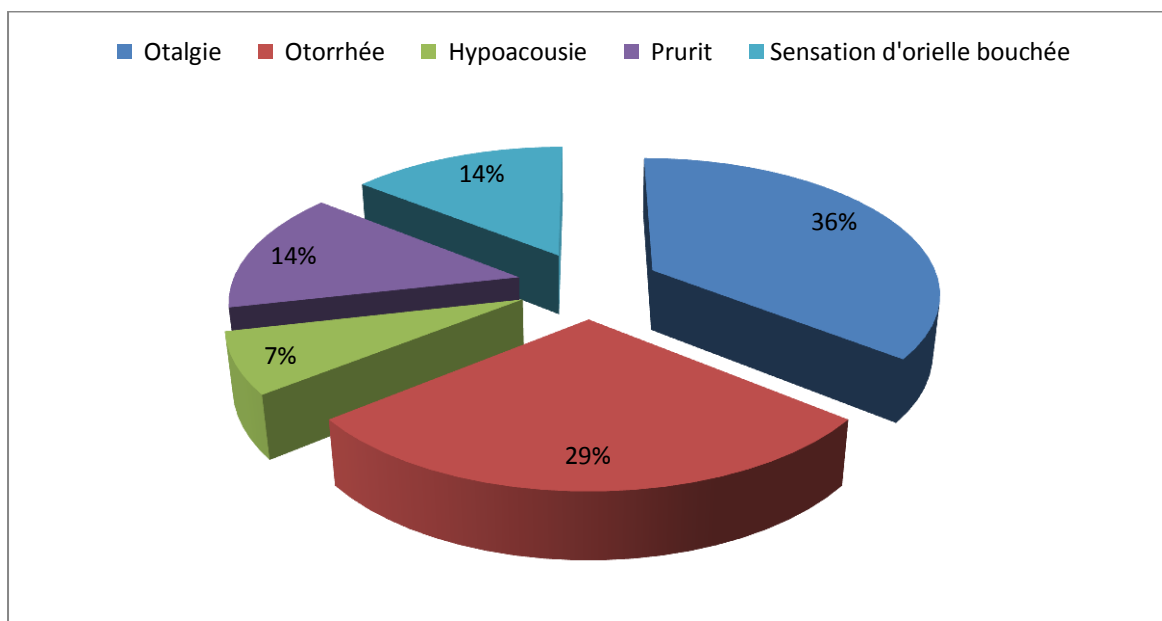


Figure 24 : Répartition des motifs de consultation chez les patients atteints d'otomycoses.

Résultats et discussion

Dans notre étude le symptôme le plus fréquent chez les patients diagnostiqués était otalgie (36%) suivie par l'otorrhée (29%), le prurit (14%) et sensation d'oreille bouchée (14%), l'hypoacousie (7%). Nos résultats sont différents à ceux rapportés en 2010 par Aboulmakarim avec (62%) d'otalgies, (70%) d'otorrhées, (62%) prurit et (34%) sensation d'oreille bouchée, (24%) hypoacousie.

1.4.2 Selon la localisation de l'otite fongique

L'infection fongique peut se développer au niveau de l'oreille externe pour donner une otite externe fongique comme elle peut se propager et atteindre l'oreille moyenne pour donner une otite moyenne fongique, (**Figure n°25**).

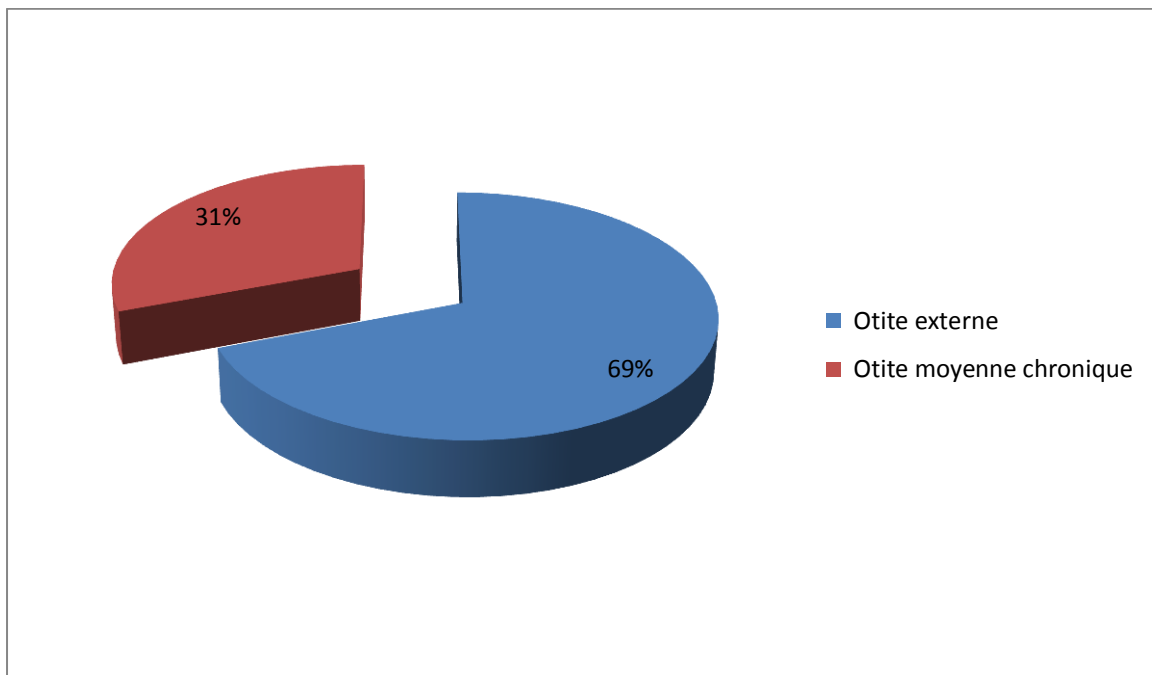


Figure 25 : Prévalence des otites fongiques selon la localisation de l'infection au niveau de l'oreille.

Il paraît à partir de ces résultats que ce genre d'infection fongique préfère comme localisation anatomique, l'oreille externe (otite externe fongique) avec 69%. Par contre, l'otite moyenne occupe seulement 31% des cas. En général, nos résultats sont similaires aux résultats obtenus par Cheriet N et al. (2017) où ils ont notés que 95% des cas sont des cas d'otomycoses externes. Par contre, l'étude d'Aboulmakarim et al. (2010), prouve que l'infection de l'oreille moyenne était le plus fréquente que l'oreille externe.

1.4.3 Répartition selon l'oreille gauche ou droite

Toutes les informations concernant la répartition des cas d'otomycose en fonction d'oreille gauche ou droite est collecté dans le (**Tableau n°11**) et la (**Figure n°26**).

Résultats et discussion

Tableau 11 : Répartition de nombre des cas selon la localisation de l'oreille

Oreille	Oreille droite	Oreille gauche
Nombre des cas	06/14	08/14

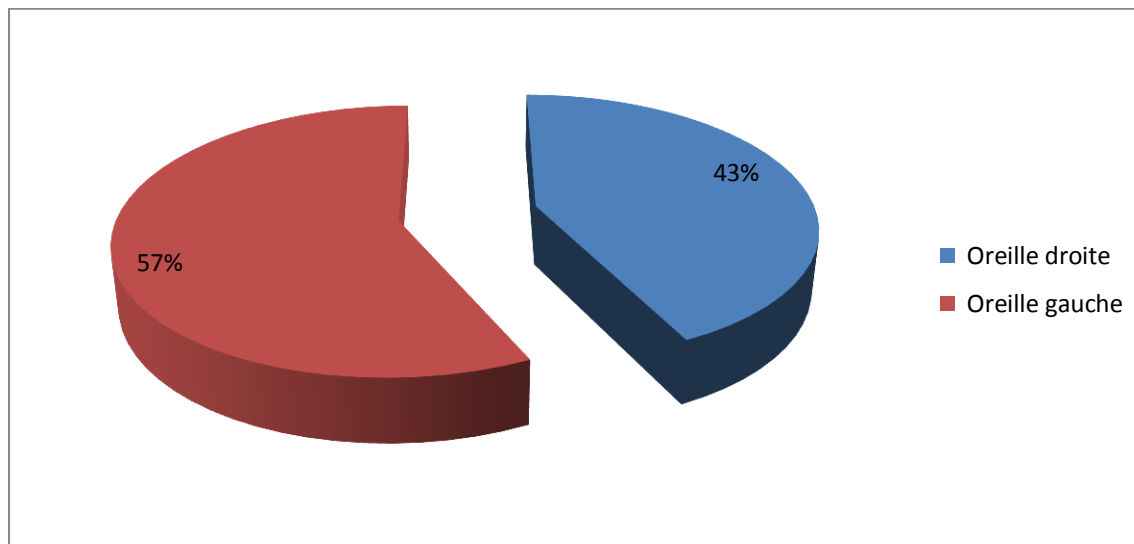


Figure 26 : Répartition de nombre des cas selon la localisation de l'oreille

Il est évident à partir des informations tirées des fiches de prélèvement que les oreilles gauches étaient plus incriminées sur la totalité des 14 cas positifs avec 57%, 08 cas ont été observés sur l'oreille gauche des patients. Tandis que, les oreilles droites étaient touchées dans 43%, 06 cas uniquement. En effet, lorsqu'on compare ces observations avec ceux de Lecanu et al. (2008), ils ont également enregistré que l'oreille gauche était impliquée dans 28 cas (53,8%), alors que l'oreille droite était touchée seulement dans 19 cas (36,6%). Donc nous avons remarqués que la fréquence de l'infection de l'oreille gauche est le plus élevé que l'oreille droite.

Résultats et discussion

1.5 Données mycologiques

1.5.1 Fréquence des différentes espèces isolées

Concernant les étiologies des otomycozes, nous avons retrouvé 8 cultures positives aux levures (57%) et 6 cas de moisissures (46%). Dans la figure, nous avons résumé tous les résultats d'isolement des levures et des moisissures, (**Figure n°27**).

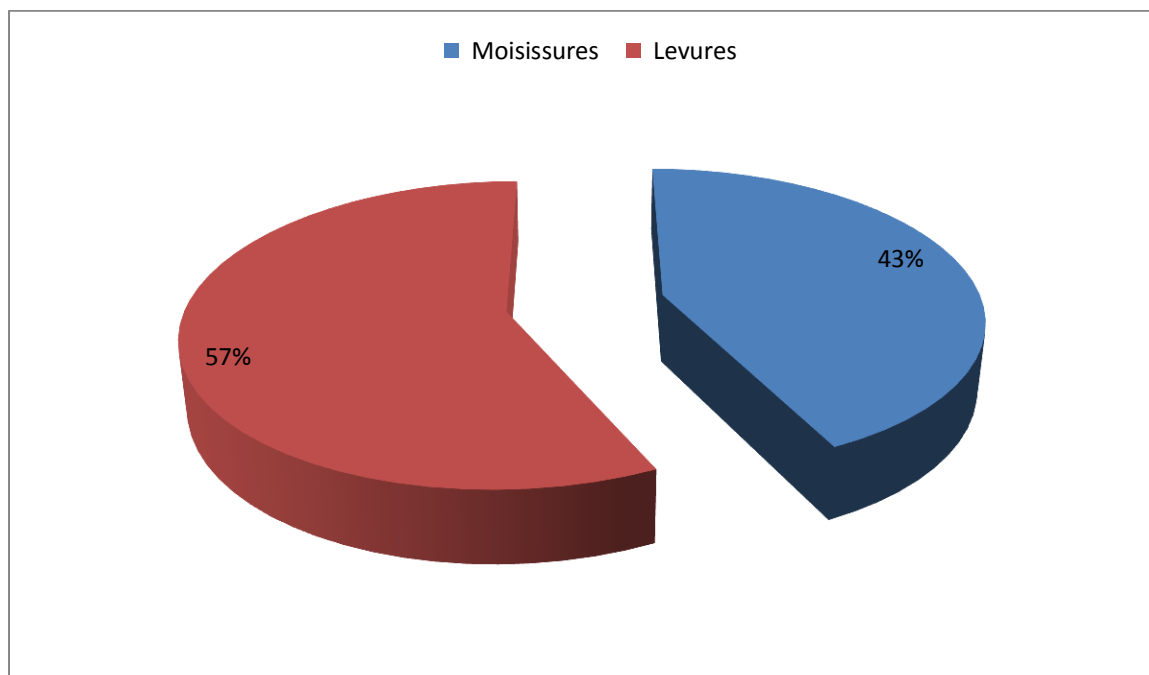


Figure 27 : Pourcentage d'isolement des levures et des moisissures sur les cas d'otomycoze

Nous avons remarqués une prédominance des espèces des levures avec une prévalence de (57%) suivie par les moisissures avec (43%).

Tableau 12 : Espèces fongiques isolées en culture

Genre	Espèce	Effective
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	6
Total		6
<i>Candida</i>	<i>Candida albicans</i>	3
	<i>Candida parapsilosis</i>	2
	<i>Candida dubliniensis</i>	2
	<i>Candida tropicalis</i>	1
Total		8
Totale des espèces		14

Résultats et discussion

Le (Tableau n°12) et la (Figure n°28) récapitulent tous les résultats des espèces fongiques qui ont été enregistrées dans notre étude.

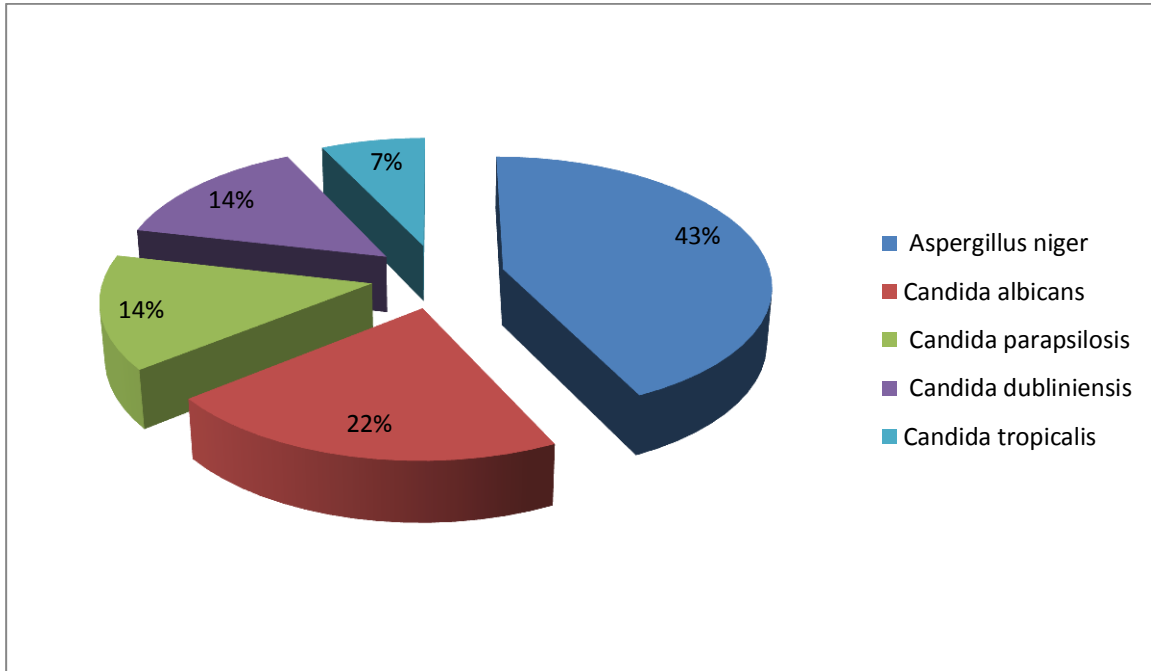


Figure 28 : Pourcentage d'espèces fongiques isolées en culture

Durant notre étude, les levures étaient isolées à des proportions supérieures à celles des moisissures.

Les champignons levuriformes sont représentés exclusivement par le genre *Candida* : *C. albicans* (22 % ; N=3), *C. parapsilosis* (14 % ; N=2), *C. dubliniensis* (14% ; N=2) et *C. tropicalis* (7 % ; N= 1). Dans les moisissures, l'espèce *Aspergillus niger* a été isolé dans (43% ; N=6).

L'espèce prédominante était *Aspergillus niger*, suivie de *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis* étaient isolés dans les mêmes proportions et *Candida tropicalis*. Notre résultat est totalement différent de celui de Djohan et al qui trouvent *C. albicans* comme espèce dominante (48,9%) suivie d'*Aspergillus niger* (21,4%), (Colombo et al.,2011).

En Turquie, *A .niger* est le pathogène le plus fréquent (44,8%), (Ozcan et al., 2003). En Pologne, les otomycoses sont causées le plus souvent par les champignons du genre *Candida* (60%) que par les champignons du genre *Aspergillus* (40%), (Kurnatowski et al., 2001)

Au Brésil, les levures prédominaient avec *Candida albicans* (30%), *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* (5%) et *Trichosporon asahii* (5%) sur les moisissures représentées par

Résultats et discussion

Aspergillus niger (20%), *Aspergillus flavus*(10%), *Aspergillus fumigatus*(5%),(Pontes et al.,2009).

Au Nigéria, les principaux agents des otomycoses sont *A.fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*, *Candida albicans* et *C. parapsilosis* (Fasunla et al., 2008).

Résultats et discussion

1. Illustrations macroscopiques et microscopiques des champignons isolés dans notre étude

Tableau 13 : les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'espèce d'*Aspergillus niger*


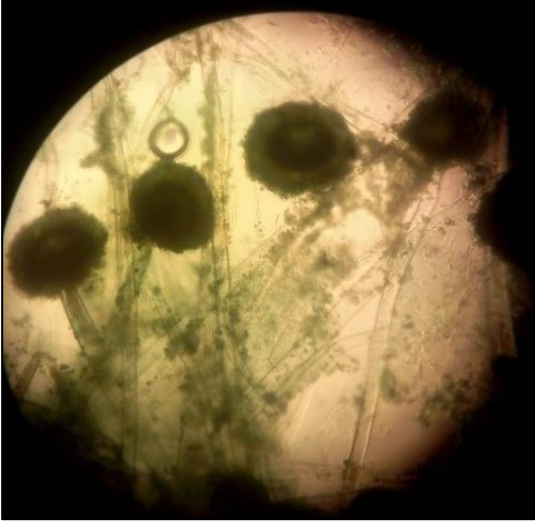




Espèce	Aspect macroscopique	Photo de la culture
<i>Aspergillus niger</i>	<p>Colonies d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires, leur croissance rapide (2 à 3 jours)</p> <p>-Leur Optimum thermique 25-30 C° (mais il peut pousser jusqu'à 42 C°)</p>	 <p>Aspect macroscopique sur gélose au Sabouraud [Photo développée dans le laboratoire de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire Cdt Abdelali B, Constantine].</p>
	<p>Aspect microscopique</p> <ul style="list-style-type: none"> -Conidiophore : Lisse, hyalin ou brunâtre dans sa moitié supérieure, très long (1.5 à 3 mm) - Vésicule : Globuleuse, 30 à 100 µm - Phialides : Insérées sur la vésicule par l'intermédiaire des métules disposées sur tout le pourtour de la vésicule - Conidies : Globuleuse (3.5 à 5 µm de diamètre) échinulées à très verruqueuses, souvent disposées en chaînes - Tête aspergillaire : Bisériée radiée, noire à maturité - Reproduction : Pas de reproduction sexuée connue 	<p>Photo d'aspect microscopique</p>  <p>Aspect microscopique : tête aspergillaire au Bleu Lactophénol, Obj. 40 [Photo développée dans le laboratoire de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire Cdt Abdelali B, Constantine].</p>

Tableau 14 : les caractéristiques culturelles des différentes espèces de *Candida*.

Résultats et discussion

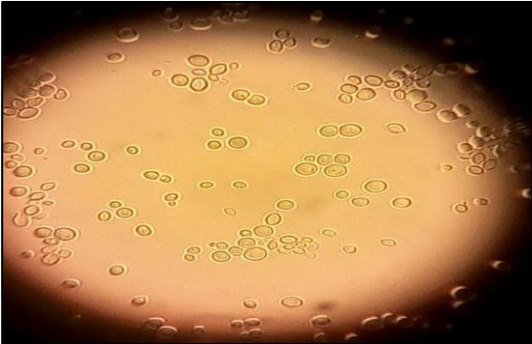
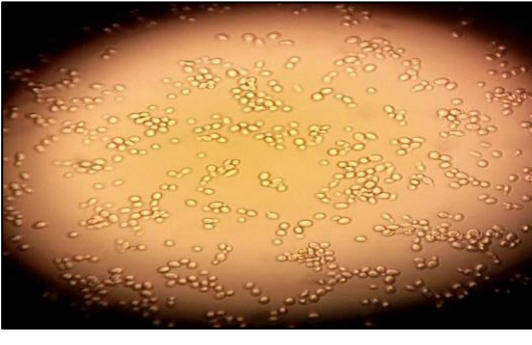
Espèce	Caractéristiques culturelles	Photo de la culture
<p><i>Candida albicans</i></p>	<p>Des colonies blanches, crémeuses, lisses et peuvent se plisser en vieillissant. qui poussent rapidement en 24 à 48 heures à 30°C ou 37°C.</p>	 <p>Culture de <i>Candida albicans</i> sur milieu gélose au Sabouraud [Photo développée dans le laboratoire de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire Cdt Abdelali B, Constantine].</p>
<p><i>Candida parapsilosis</i></p>	<p>Des colonies blanches, crémeuses, lisses ou finement plissées, La culture pousse rapidement à 37°C.</p>	 <p>Culture de <i>Candida parapsilosis</i> sur milieu gélose au Sabouraud [Photo développée dans le laboratoire de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire Cdt Abdelali B, Constantine].</p>
<p><i>Candida tropicalis</i></p>	<p>Les Colonies, de pousse rapide, sont crémeuses, blanches, lisses ou légèrement plissées.</p>	 <p>Culture de <i>Candida tropicalis</i> sur milieu gélose au Sabouraud [Photo développée dans le laboratoire de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire Cdt Abdelali B, Constantine].</p>

Résultats et discussion

<p><i>Candida dubliniensis</i></p>	<p>Colonies blanches, crémeuses, à bordure nette, lisses puis rugueuses qui se développent sur les deux milieux (SC) et (SCA). Présence des filaments qui s'enfoncent dans la gélose.</p>	
------------------------------------	---	--

Culture de *Candida dubliniensis* sur milieu gélose au Sabouraud [Photo développée dans le laboratoire de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire Cdt Abdelali B, Constantine].

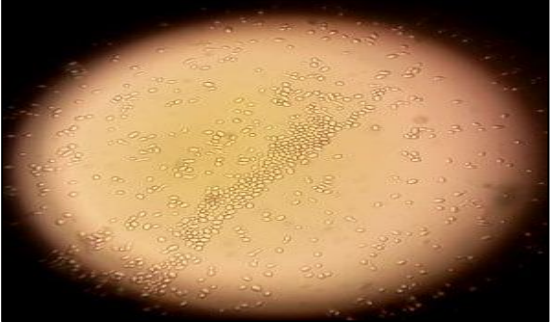
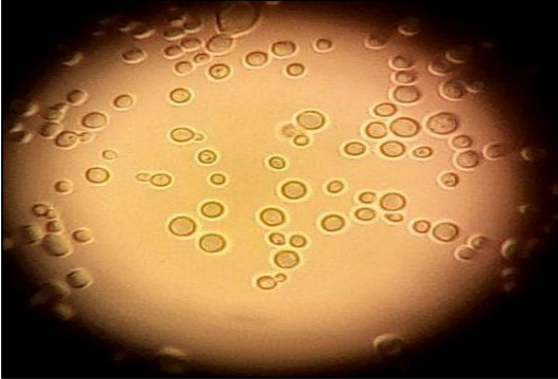
Tableau 15 : les caractéristiques microscopiques des 04 espèces de Candida.

Espèce	Caractéristiques microscopiques des différentes espèces de <i>Candida</i>	Photo d'aspect microscopique
<i>Candida albicans</i>	<p>l'examen microscopique révèle la présence :</p> <ul style="list-style-type: none"> -De Cellules bourgeonnantes sphériques (3-8 × 2-7 μm) -D'un pseudo-filament, avec des blastospores en grappes denses de chlamydospores, sphériques et foncées, principalement terminales, souvent attachées à une cellule légèrement enflée. -La formation des chlamydospores peut être absente chez certaines souches de <i>Candida albicans</i>. 	
<i>Candida parapsilosis</i>	<p>L'examen direct montre des levures polymorphes : rondes et ovales parfois cylindriques mesurant 4 à 8 μm sur 3 à 4 μm pouvant être associées à du pseudomycélium abondant et ramifié mais court, qui ressemble plus ou moins à un "arbre de Noël" à cause des chaînes de cellules de plus en plus courtes qui lui sont rattachées.</p>	

Candida albicans sur gélose au Sabouraud (MO. Obj. 40)

Candida parapsilosis sur gélose au Sabouraud (MO. Obj. 40)

Résultats et discussion

<p><i>Candida tropicalis</i></p>	<p>L'examen direct révèle la présence de grosses levures rondes bourgeonnantes ellipsoïdales, souvent associées à du pseudomycélium abondant, constitué de longues branches peu fourniees, souvent rétréci du côté de l'apex</p>	 <p><i>Candida tropicalis</i> sur gélose au Sabouraud (MO. Obj. 40)</p>
<p><i>Candida dubliniensis</i></p>	<p>Cellules ovoïdes, de petite taille et bourgeonnantes</p>	 <p><i>Candida dubliniensis</i> sur gélose au Sabouraud (MO. Obj. 40)</p>

2.1 Identification des souches

2.1.1 Test de Blastèse

D'après la (**figure n° 29**), les levures de *Candida albicans* / *C. dubliniensis* forment des tubes germinatifs

Résultats et discussion

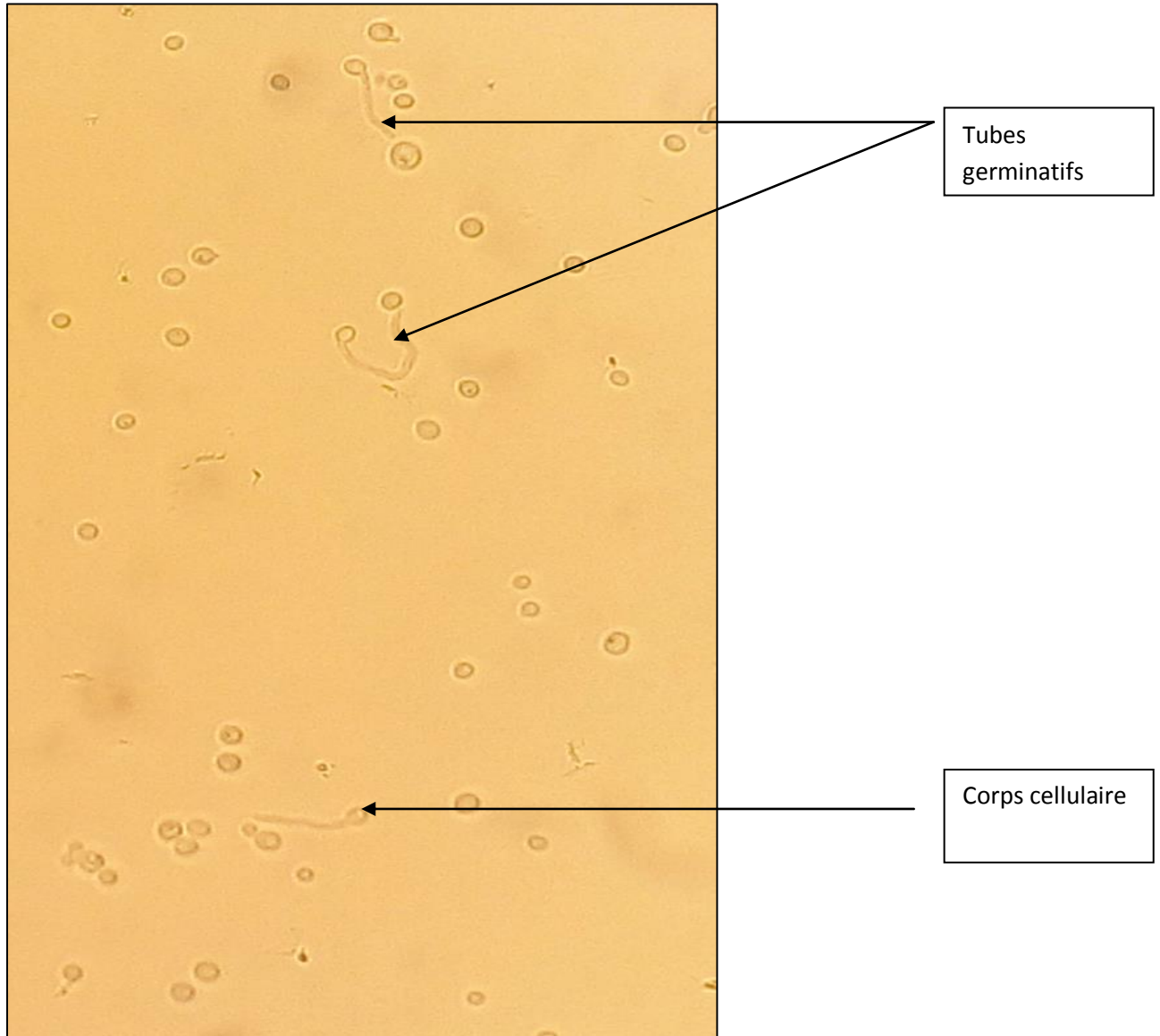


Figure 29 : Examen microscopique de *C. albicans* après le test de filamentation en sérum (Grossissement x40).

Résultats et discussion

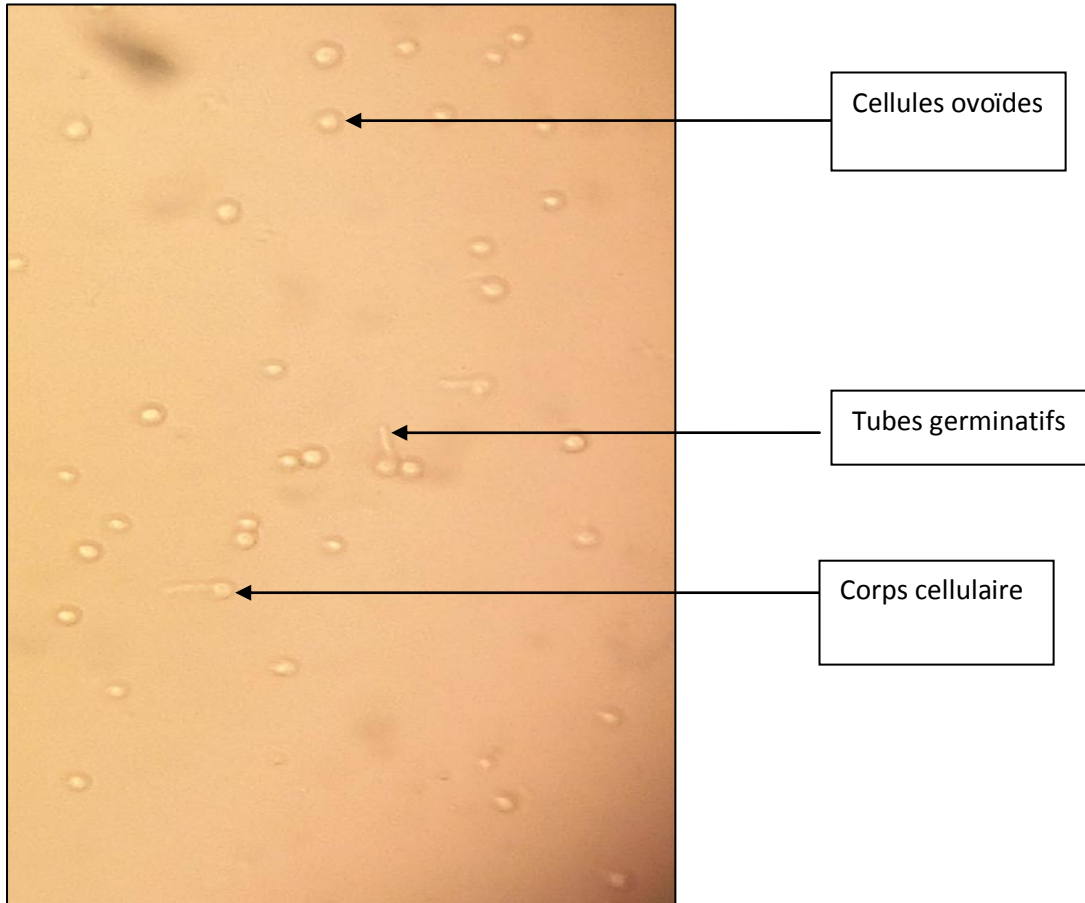


Figure 30 : Examen microscopique de *C. dubliniensis* après le test de filamentation en sérum (Grossissement x40).

Résultats et discussion

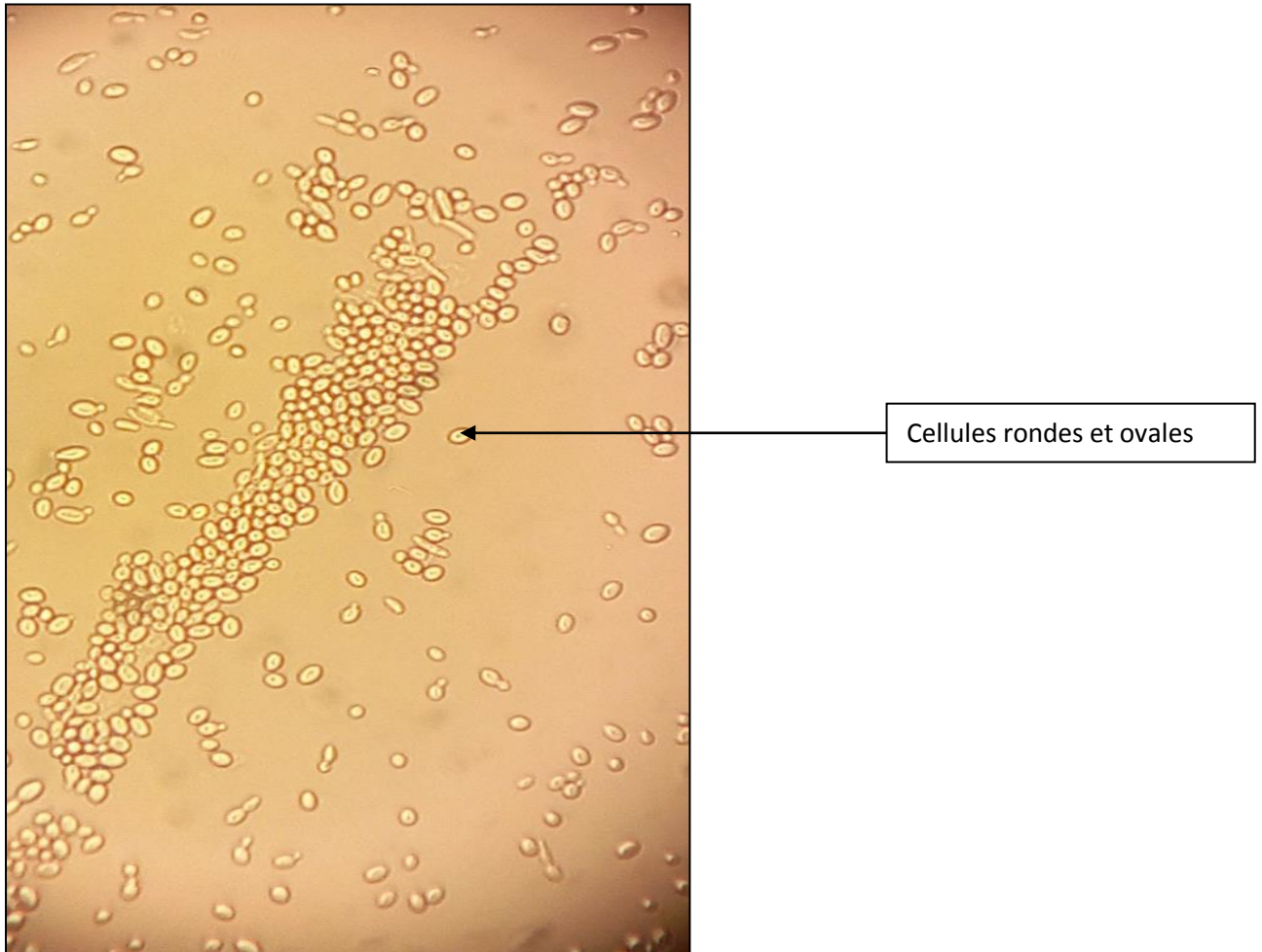


Figure 31 : Examen microscopique de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* après le test de filamentation en sérum (Grossissement x40).

C. albicans et *C. dubliniensis* ont formé des tubes germinatifs alors que *C. tropicalis* et *C. parapsilosis* se sont montrées sous forme de cellules ovoïdes.

Ce test, appelé aussi test de germination, est basé sur le fait que *C. albicans* et *C. dubliniensis* produisent en 3 heures à 37°C dans du sérum humain ou animal, un tube germinatif à partir des blastospores. Ce tube germinatif, fin et flexueux, ne présente pas de constriction à sa base (par différence avec du pseudomycélium de levure qui est formé par bourgeonnement, et présente une cloison à l'émergence de la cellule fille). Il est impératif de ne pas dépasser 3 h car d'autres espèces de levures pourraient alors produire des tubes germinatifs. Ce test peut aussi donner lieu à des faux négatifs et expose, par ailleurs, l'opérateur aux risques liés à l'utilisation de produits sanguins.

Résultats et discussion

2.1.2 Test de chlamydosporulation

L'apparition des chlamydospores ce qui indique que cette espèce soit *C. albicans* ou *C. dubliniensis*

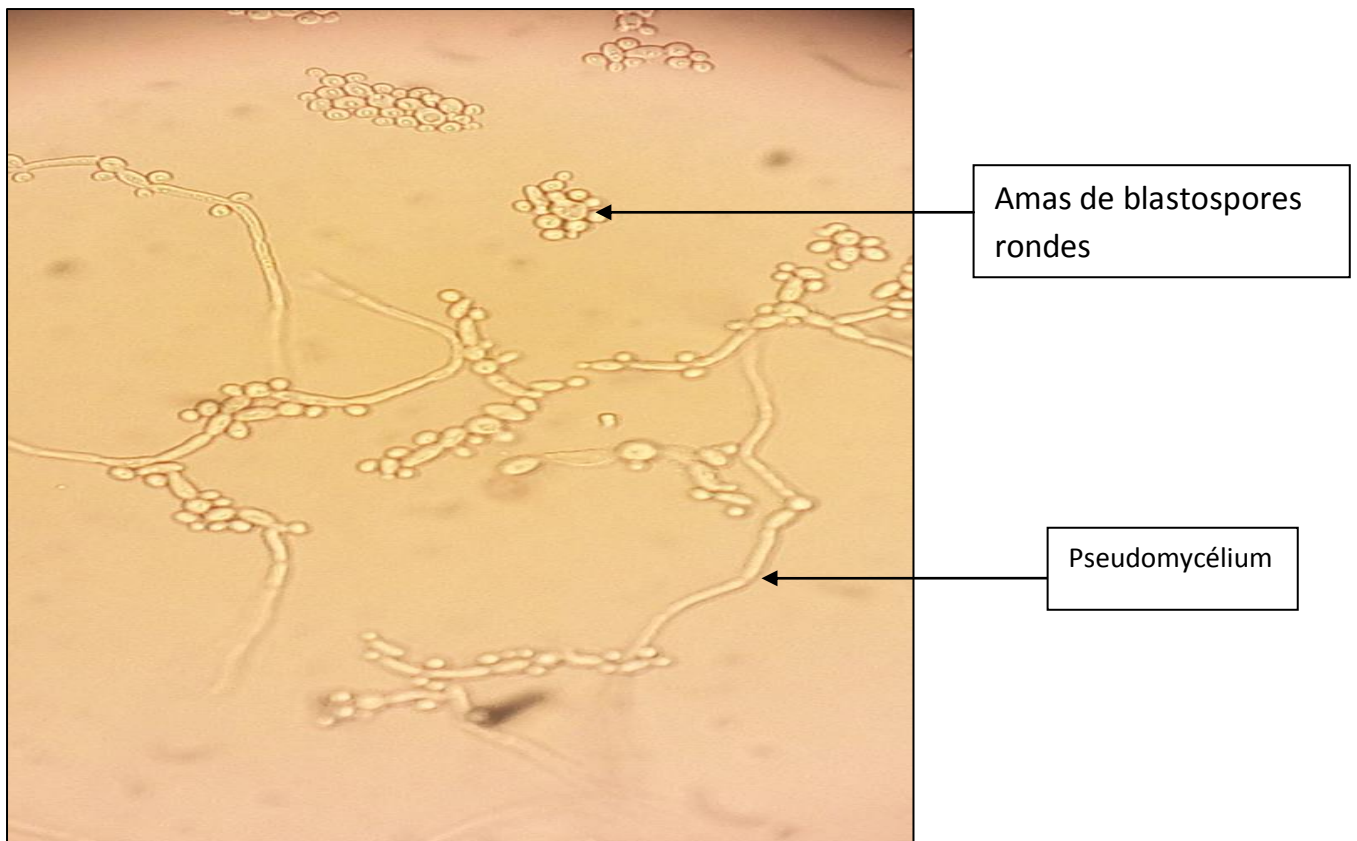


Figure 32 : Examen microscopique de *C. parapsilosis* et *C. tropicalis* après culture sur PCB (Grossissement x40).

Résultats et discussion

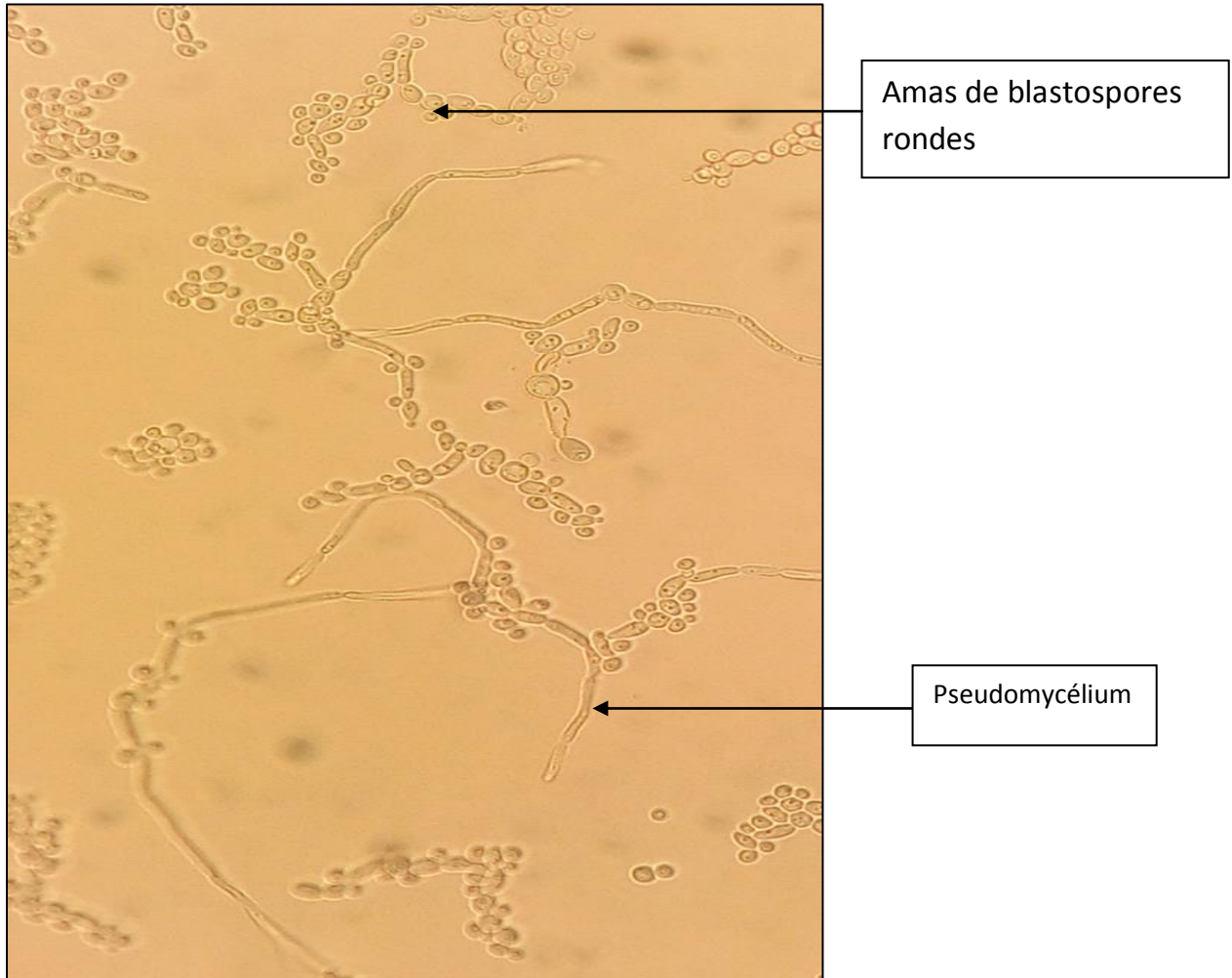


Figure 33 : Examen microscopique de *C. albicans* et *C. dubliniensis* après culture sur PCB

(Grossissement x40).

Résultats et discussion

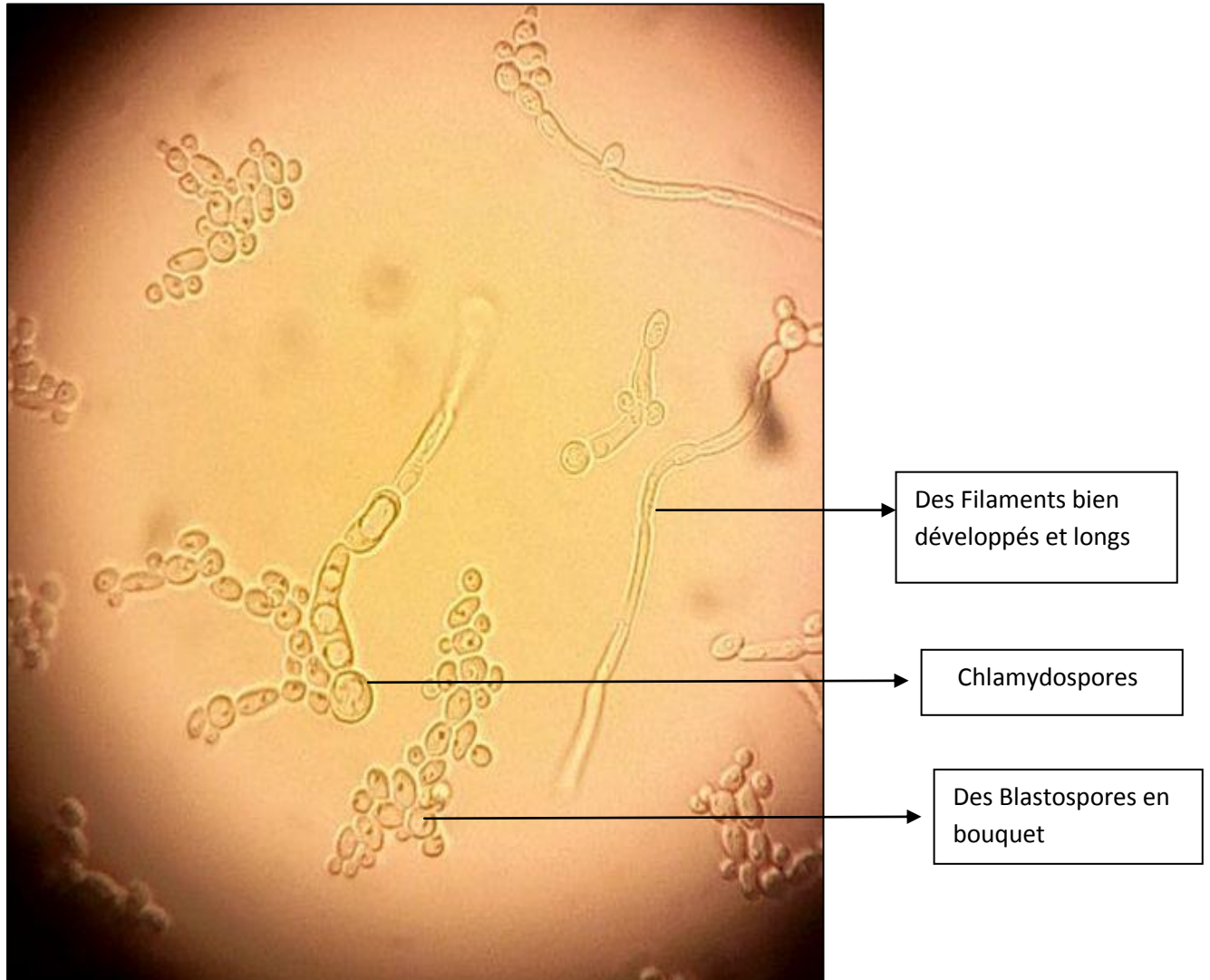


Figure 34 : Examen microscopique de *C. albicans* et *C. dubliniensis* après culture sur PCB (Grossissement x40).

Sur milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile) ou RAT (crème de riz, agar, Tween 80),

Les levures de *C. albicans* (24h à 48h à 20-25°C) forment des spores en position terminales ou intermédiaires des hyphes ce qu'on appelle des chlamydospores à l'extrémité de pseudofilaments (**figure n° 34**). Il faut cependant noter que *C. dubliniensis* produit lui aussi des chlamydospores sur ces milieux. Elles sont plus abondantes et disposées par paires ou par triplets.

Résultats et discussion

2.1.4 Test Bichro-latex®albicans (Fumouze Diagnostics)

Le résultat du Test Bichro-latex®albicans (Fumouze Diagnostics) est mentionné dans la (figure n°35).

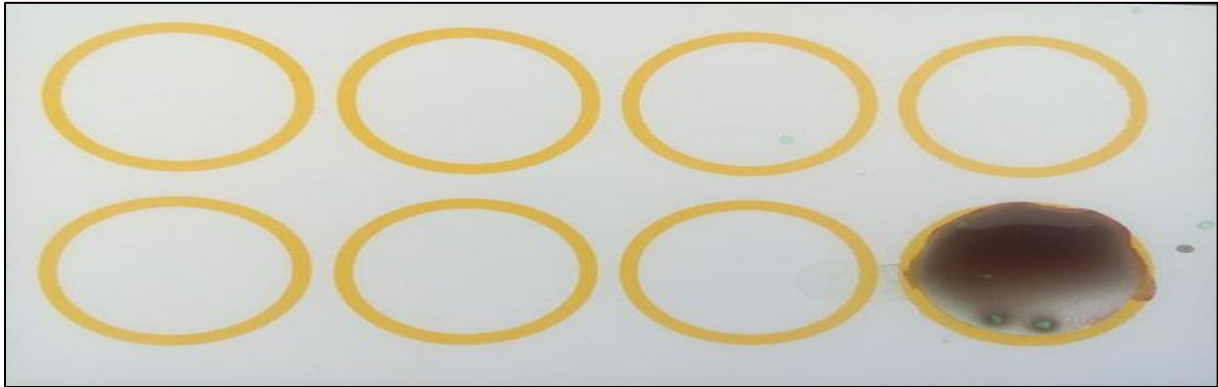


Figure 35 : Résultats du test Bichro-latex®albicans (Fumouze Diagnostics)

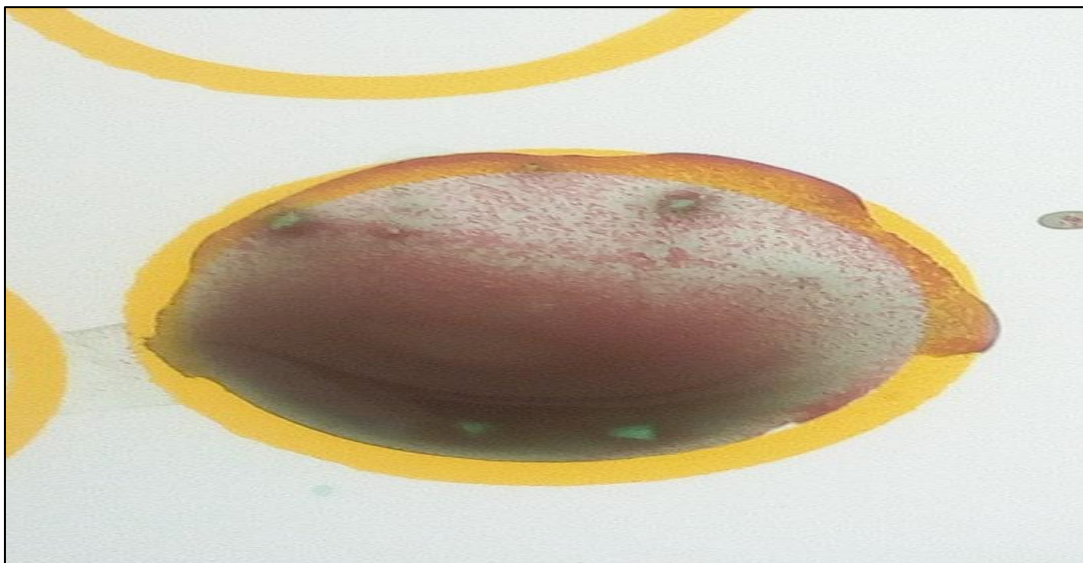


Figure 36 : Résultats du test Bichro-latex®albicans (Fumouze Diagnostics)

La figure montre :

- Une formation d'agglutinats rouges sur un fond vert plus ou moins intense, Donc La souche testée est identifiée comme *Candida albicans* ou *Candida dubliniensis* et La différenciation de ces deux espèces est possible avec le test BICHRO-DUBLI FUMOUEZ®

Résultats et discussion

2.1.5 L'Auxacolor

Les caractéristiques physiologiques des quatre espèces obtenues du genre *Candida* : *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*. déterminées par l'usage de la microplaque (Auxacolor) sont montrées dans les figures suivants

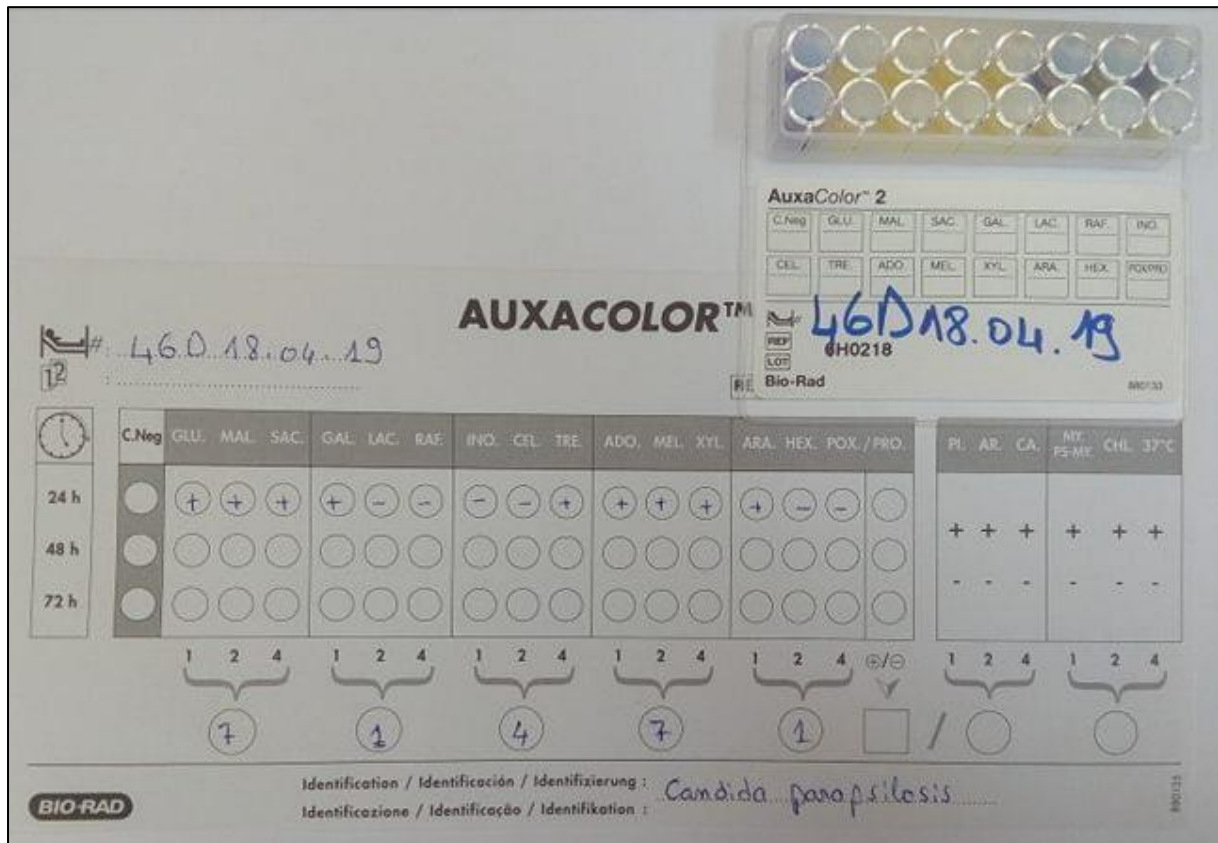


Figure 37 : Détermination des caractéristiques physiologiques de *Candida parapsilosis*

C. parapsilosis assimile 09 sucres seulement : le glucose et le maltose, le saccharose, le galactose, trehalose, adonitol, melezitose, xylose, arabinose. Son code d'identification est : 71471 (v) 05.

Résultats et discussion

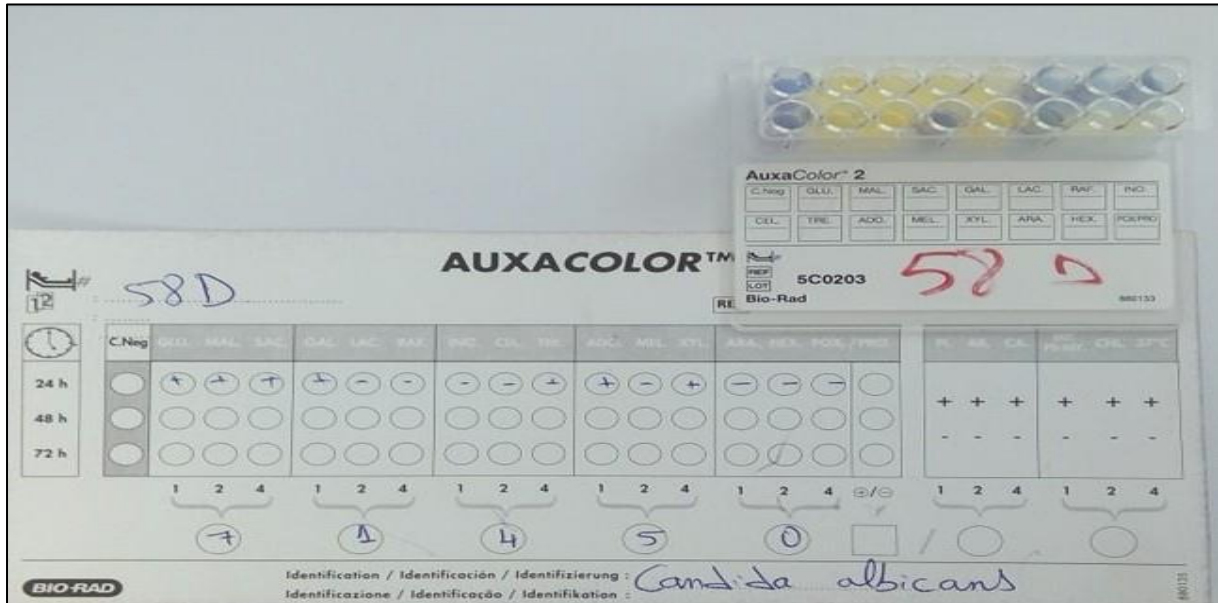


Figure 38 : Détermination des caractéristiques physiologiques de *Candida albicans*

C. albicans assimile 07 sucres seulement : le glucose et le maltose, saccharose, galactose, trehalose, adonitol, xylose. Son code d'identification est : 71450 (+) 07.

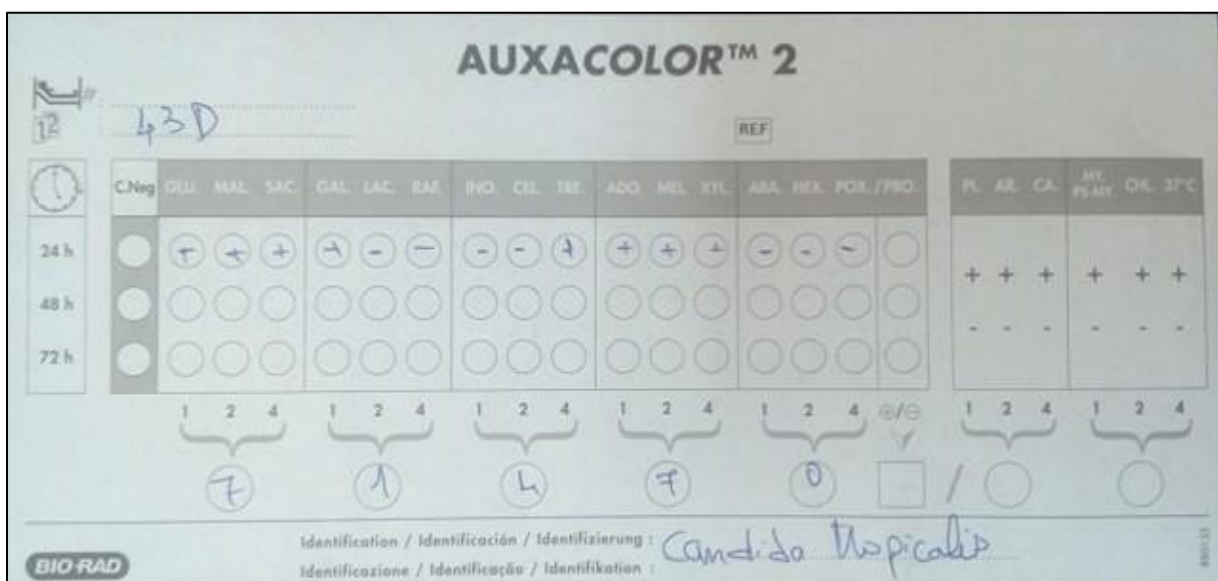
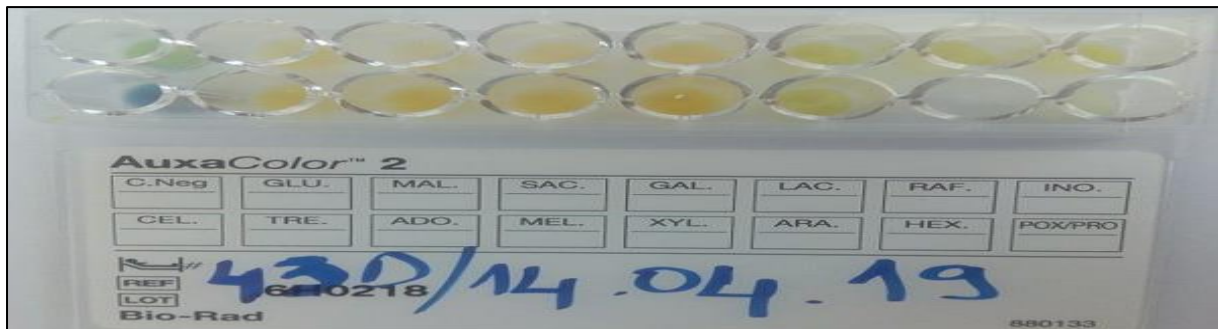


Figure 39 : Détermination des caractéristiques physiologiques de *Candida tropicalis*

Résultats et discussion

C. tropicalis assimile 08 sucres seulement : le glucose et le maltose, le saccharose, le galactose, trehalose, adonitol, melezitose, xylose. Son code d'identification est : 71470(±) 05.

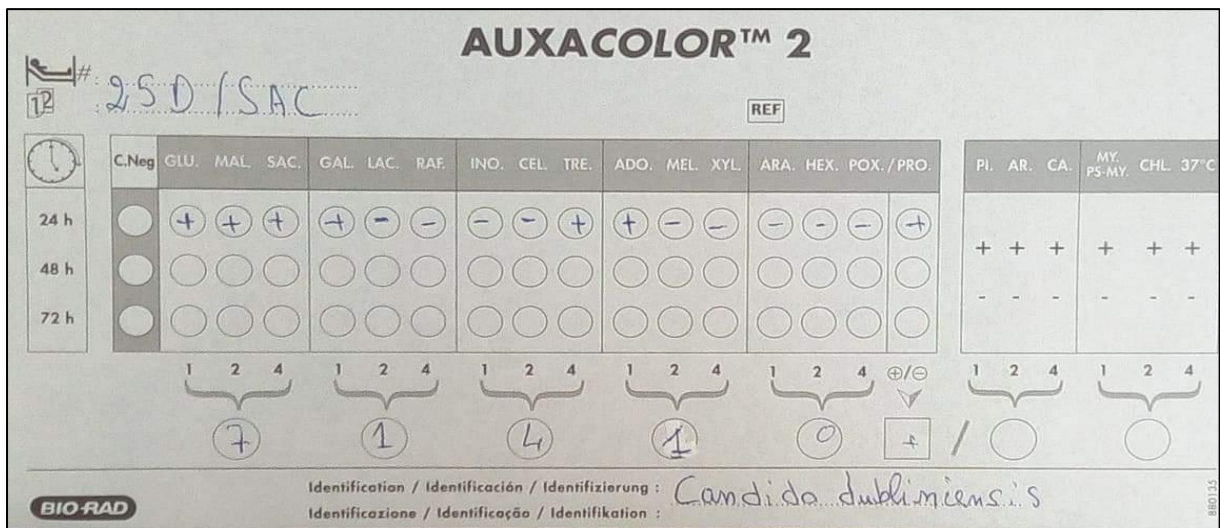
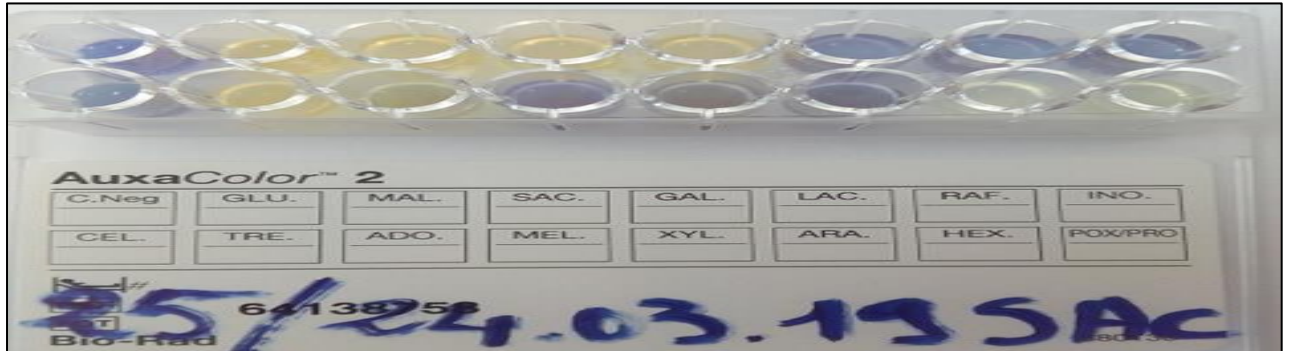


Figure 40 : Détermination des caractéristiques physiologiques de *Candida dubliniensis*

C. dubliniensis assimile 07 sucres seulement : le glucose et le maltose, le saccharose, le galactose, trehalose, adonitol, melezitose. Son code d'identification est : 71410(+) 07.

Résultats et discussion

2.1.6 Antifongigramme

Les résultats des diamètres des zones d'inhibitions des antifongiques vis-à-vis des souches de *Candida* sont illustrés dans le (Tableau n°16).

Tableau 16 : Diamètres en mm des zones d'inhibition des levures *Candida* isolées au Laboratoire de Parasitologie Mycologie, (Hôpital Militaire Universitaire Cdt Abdelali B, Constantine) par des antifongiques.

Prélèvement	MET	AFY	KTC	AMB	CLO	MCZ	GRS	ECO	NY	ITR
<i>C. dubliniensis</i>	R	R	36S	R	55S	34S	R	30S	R	16I
<i>C. albicans</i>	R	R	27S	13	38S	30S	R	35S	R	19I

C. dubliniensis et *C. albicans* sont résistantes au métronidazole, flucytosine, l'amphotéricine B et Griséofulvine ainsi qu'à la nystatine alors qu'elles sont sensibles à le kétoconazole, clotrimazole et miconazole, les mêmes souches sont sensibles à l'écoconazole.

D'après ces résultats, il en ressort que le kétoconazole, le clotrimazole, miconazole, l'écoconazole sont **les antifongiques de choix** pour traiter l'otomyose.

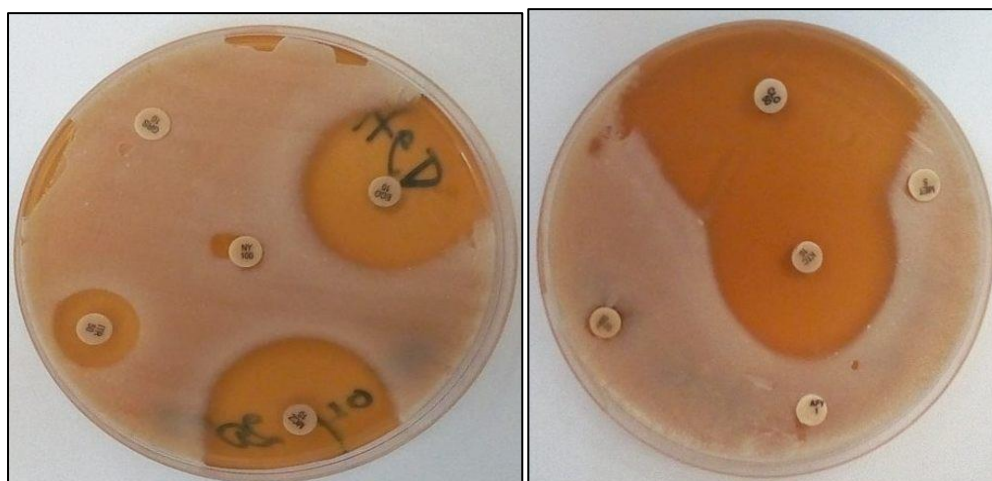


Figure 41 : Des disques d'antifongiques appliqués sur gélose de Sabouraud préalablement ensemencée.

Conclusion et Perspective

Conclusion et Perspectives

Notre étude, bien que réalisée sur un échantillonnage et sur une durée limitée, révèle que :

- ✓ Le taux de positivité des cas est de 59%.
- ✓ L'isolement des agents responsables d'otomycose nécessite des techniques de prélèvement rigoureusement réalisées puis un examen direct suivi d'une mise en culture.
- ✓ L'examen direct oriente le diagnostic et sa négativité n'exclue pas la présence d'une otomycose.
- ✓ L'identification des moisissures repose sur l'aspect macroscopique et microscopique des cultures (colonies).
- ✓ L'étude des caractères phénotypiques ; physiologiques et immunologiques est très importante pour identifier le genre *Candida*.

D'après l'étude statistique on constate que :

- ✓ L'incidence la plus élevée d'otite clinique a été enregistrée dans le groupe d'âge de 35-49 ans. par ailleurs, la valeur la plus basse a été notée dans le groupe d'âge de 65-80 ans.
- ✓ une prédominance du sexe masculin (79%) pour (21%) de sexe féminin, soit un sexe ratio F/H de 0.3.
- ✓ L'espèce prédominante était *Aspergillus niger* (43%). De plus, nous avons enregistré dans le présent travail, quatre espèces de genre *Candida* ont été trouvés *C. albicans* (22%), *C. parapsilosis* et *C. dubliniensis* avec un pourcentage d'isolement de (14%) suivie par *C. tropicalis* (7%).
- ✓ les otomycoses à levures sont les plus dominants (57%) par rapport aux otomycoses à champignons filamenteux (43%).
- ✓ La survenue des otomycoses était statistiquement plus fréquente chez les patients ayant pour habitude de se nettoyer quotidiennement les oreilles au coton tige (42.9%).
- ✓ les oreilles gauches étaient les plus incriminées avec 57% tandis que, les oreilles droites étaient touchées dans 43% cas uniquement.
- ✓ Concernant les signes cliniques , ceux qui consultent pour une otalgie sont les plus nombreux et représentent 35.7% de la population générale.
- ✓ L'évaluation de la sensibilité des souches fongiques aux divers antifongiques (antifongogramme) n'a que très peu d'intérêt (il n'est applicable qu'en cas de Mycoses profondes).
- ✓ La collaboration entre le clinicien et le mycologiste permettant une prise en charge plus efficace de ces infections.

Perspectives

- ✓ Apport et intérêt des techniques de la biologie moléculaire comme la PCR pour le diagnostic biologique de certitude des otomycoses.
- ✓ Une meilleure prise en charge thérapeutique surtout chez les sujets immunodéprimés.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Aboulmakarim, S., Tligui, H., El Mrini, M., Zakaria, I., Handour, N., & Agoumi, A. (2010). Otomycoses: étude clinique et mycologique de 70 cas. *Journal de Mycologie Médicale*, 20(1), 48-52.
- AFSSAPS. Recommandations 2002 :Utilisation des gouttes et poudres à usage auriculaire.2002.
- Association française des enseignants de parasitologie. (2007). *Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales*.
- Anane, S., & Khalfallah, F. (2007). Diagnostic biologique des candidoses systémiques: difficultés et perspectives. *Pathologie biologie*, 55(5), 262-272.

B

- Brook, I. T. Z. H. A. K., Coolbaugh, J. C., & Williscroft, R. G. (1982). Effect of diving and diving hoods on the bacterial flora of the external ear canal and skin. *Journal of clinical microbiology*, 15(5), 855-859.
- Bokowy, C., Cadot, M., & Lelièvre, G. (1995). Pathologie acquise de l'oreille externe. Encycl Méd Chir, Oto-rhino-laryngologie 20-070-A-10.
- Bordure, P. (1995). Ecologie microbienne du conduit auditif externe.«In» Rapport sur le conduit auditif externe. Paris: Société française d'oto-rhino-laryngologie et de pathologie cervico-faciale.
- Bambule G, Savary M, Grigoriu D, Delacretaz J. Otomycoses. Ann Otolaryngol Chir Cervicofac. 1982 ; 99 : 537-40. .
- Bayo, M., Agut, M., & Calvo, M. A. (1994). Infectious external otitis: etiology in the Terrassa region, culture methods, and considerations on otomycosis. *Microbiologia (Madrid, Spain)*, 10(3), 279-284.
- Barati, B., Okhovvat, S. A. R., Goljanian, A., & Omrani, M. R. (2011). Otomycosis in central Iran: a clinical and mycological study. *Iranian red crescent medical journal*, 13(12), 873.
- Besbes, M., Makni, F., Cheikh-Rouhou, F., Sellami, H., Kharrat, K., & Ayadi, A. (2002). Otomycosis due to *Scopulariopsis brevicaulis*. *Revue de laryngologie-otologie-rhinologie*, 123(2), 77-78.
- Bhally, H. S., Shields, C., Lin, S. Y., & Merz, W. G. (2004). Otitis caused by *Scedosporium apiospermum* in an immunocompetent child. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 68(7), 975-978.
- Beer R, Taine J. Otomycoses dans le territoire fédéral amazonien (Venezuela). Bull Soc Fr Mycol Méd. 1990 ; 19 (2) : 257-264.
- Brook, I. T. Z. H. A. K., Coolbaugh, J. C., & Williscroft, R. G. (1982). Effect of diving and diving hoods on the bacterial flora of the external ear canal and skin. *Journal of clinical microbiology*, 15(5), 855-859.

Références bibliographiques

- Docteur Alexandre BEREZIN. (1985), Manuel pratique D'O.R.L.

C

- Chander, J., Maini, S., Subrahmanyam, S., & Handa, A. (1996). Otomycosis—a clinico-mycological study and efficacy of mercurochrome in its treatment. *Mycopathologia*, 135(1), 9-12.
- Chabasse D , Classification des champignons d'intérêt médical. Encycl Med Cbir, (Paris Elsevier) , Maladies infectieuses 2001 ; 8-088-B-10, 15p.
- Chabasse D. Classification des champignons d'intérêt médical. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-088-B-10, 2008.
- Carrat X, Bordure P, Dutronc H, Malard O, Lacher G. Les otomycoses. Rev Laryngol Otol Rhinol. 2001; 122 (2): 137-44.
- Chabasse D, Bouchara J-P, de Gentile L, Brun S, Cimon B, Penn P. 2002 Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation biologie médicale N° 25 ; 160 p. Cité par Riah M. Prévalence et facteurs de risque des otomycoses à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V de Rabat. N° :01.2010.89P.
- Chai, F. C., Auret, K., Christiansen, K., Yuen, P. W., & Gardam, D. (2000). Malignant otitis externa caused by *Malassezia sympodialis*. *Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck*, 22(1), 87-89.
- Classification des champignons d'intérêt médical. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-088-B-10, 2008.
- Chabasse, D., Contet-Audonnoeu, N., Bouchara, J. P., & Basile, A. M. (2008). Moisissures dermatophytes levures du prélèvement au diagnostic. *Ed. bioMérieux, France*.

E

- Enweani, I. B., & Igumbor, H. (1997). Prevalence of otomycosis in malnourished children in Edo State, Nigeria. *Mycopathologia*, 140(2), 85-87.

F

- Faergemann J .Pityrosporum infections. J Am Acad Dermatol 1994 : 18-20.

Références bibliographiques

G

- Gray, R. F., Sharma, A., & Vowler, S. L. (2005). Relative humidity of the external auditory canal in normal and abnormal ears, and its pathogenic effect. *Clinical otolaryngology*, 30(2), 105-111.
- Gugnani, H. C., Okafor, B. C., Nzelibe, F., & Njoku-Obi, A. N. U. (1989). Etiological Agents of Otomycosis in Nigeria Das Erregerspektrum von Otomykosen in Nigeria. *Mycoses*, 32(5), 224-229.
- Goffin, F. B. (1963). pH as a factor in external otitis. *New England Journal of Medicine*, 268(6), 287-289.
- Gurr, P. A., Evans, K., Dewey, F. M., & Gurr, S. J. (1997). Otomycosis; the detection of fungi in ears by immunofluorescence microscopy. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*, 22(3), 275-283.
- Galès, A. (2009). *Rôle central des Monocytes/Macrophages dans la défense anti-infectieuse; implication de la polarisation M2 et des marqueurs associés Dectine-1, Récepteur Mannose et Interleukine-10* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

H

- Hyslop NE. Ear wax and host defence. *N Engl J Med*1971;284: 1099-100.
- Ho, T., Vrabec, J. T., Yoo, D., & Coker, N. J. (2006). Otomycosis: clinical features and treatment implications. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*, 135(5), 787-791.
- Haruna, S. I., Haruna, Y., Schachern, P. A., Morizono, T., & Paparella, M. M. (1994). Histopathology update: otomycosis. *American journal of otolaryngology*, 15(1), 74-78.
- Hennequin, C., Chouaki, T., Pichon, J. C., Strunski, V., & Raccurt, C. (2000). Otitis externa due to *Trichoderma longibrachiatum*. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 19(8), 641-642.
- Hennequin, C., El-Bez, M., Trotoux, J., & Simonet, M. (1994). Otomyose a *Scopulariopsis brevicaulis* apres tympanoplastie. In *Annales d'oto-laryngologie et de chirurgie cervico-faciale* (Vol. 111, No. 6, pp. 353-354). Elsevier Masson.
- Hurst, W. B. (2001). Outcome of 22 cases of perforated tympanic membrane caused by otomycosis. *The Journal of Laryngology & Otolaryngology*, 115(11), 879-880.
- Hueso, P. G., Jiménez, S. A., Gil-Carcedo, E. S., Gil-Carcedo, L. G., Ramos, C. S., & Vallejo, L. V. (2005). Presumption diagnosis: otomycosis. A 451 patients study. *Acta otorrinolaringologica española*, 56(5), 181-186.
- Hawke, M., Wong, J., & Kraiden, S. (1984). Clinical and microbiological features of otitis externa. *The Journal of otolaryngology*, 13(5), 289-295.

Références bibliographiques

J

- Jain, S. K., & Agrawal, S. C. (1994). Fungitoxic effect of some organic volatile substances against fungi causing otomycosis: Die fungitoxische Wirkung einiger flüchtiger Stoffe auf Otomykose-Erreger. *Mycoses*, 37(7-8), 299-304.

K

- Kurnatowski, P., & Filipiak, A. (2001). Otomycosis: prevalence, clinical symptoms, therapeutic procedure. *Mycoses*, 44(11-12), 472-479.
- Kaur, R., Mittal, N., Kakkar, M., Aggarwal, A. K., & Mathur, M. D. (2000). Otomycosis: a clinicomycologic study. *Ear, nose & throat journal*, 79(8), 606.
- Kim, E. J., Catten, M. D., & Lalwani, A. K. (2002). Detection of fungal DNA in effusion associated with acute and serous otitis media. *The Laryngoscope*, 112(11), 2037-2041.
- Klossek, J. M., & Serrano, E. (2003). *Les mycoses en ORL*. Société Française d'Oto-rhino-laryngologie et de chirurgie de la Face et du Cou.
- Kerkmann, M. L., Piontek, K., Mitze, H., & Haase, G. (1999). Isolation of *Exophiala* (*Wangiella*) dermatitidis in a case of otitis externa. *Clinical infectious diseases*, 29(4), 939-940.

L

- Low, W. S., Seid, A. B., Pransky, S. M., & Kearns, D. B. (1996). *Coccidioides immitis* subperiosteal abscess of the temporal bone in a child. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, 122(2), 189-192.
- Lohoue Petmy, J., Bengono Touré, G., & Founda Onana, A. (1996). Études des otomycoses à Yaoundé. *Rev Laryngol Otol Rhinol*, 117, 119-21.
- Lecanu J.-B., Erminy M., Faulcon P., Théoleyre B. 2008. Otomycose. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Oto-rhino-laryngologie, 20-080-A-10.
- Lacroix, C., Dubach, M., & Feuilhade, M. (2003). Les échinocandines: une nouvelle classe d'antifongiques. *Médecine et maladies infectieuses*, 33(4), 183-191.

M

- Munguia, R., & Daniel, S. J. (2008). Otological antifungals and otomycosis: a review. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 72(4), 453-459.
- Minchell TG. Overview of basic medical mycology. *Otolaryngol Clin North Am* 2000 ; 33 : 237-49.)

Références bibliographiques

- Mgbor, N., & Gughani, H. C. (2001). Otomycosis in Nigeria: treatment with mercurochrome. *Mycoses*, 44(9-10), 395-397.
- Molina, R. U., Lao, J. L., Perelló, E. S., Companyó, C. H., & Casamitjana, F. C. (1994). Otomycosis. Case reports of 18 months in the General University Hospital of the Valle de Hebron in Barcelona. In *Anales otorrinolaringologicos ibero-americanos* (Vol. 21, No. 3, pp. 255-263).
- Malard O, Bordure P, Toquet J, Legent F. Otomycoses. Encycl Méd Chir (Elsevier SAS, Paris), Oto-rhino-laryngologie, 20-080-A-10, 1999: 8p.
- Mugliston, T., & O'donoghue, G. (1985). Otomycosis—a continuing problem. *The Journal of Laryngology & Otology*, 99(4), 327-333.
- Martin, T. J., Kerschner, J. E., & Flanary, V. A. (2005). Fungal causes of otitis externa and tympanostomy tube otorrhea. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 69(11), 1503-1508.
- Malard O, Bordure P, Toquet J, Legent F. Otomycose. Encycl med. Chir (Elsevier, paris) Oto-rhino-laryngolgi 1999;20-080-A10,7p.

N

- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium species: an illustrated manual for identification*.

O

- Ozcan, K. M., Ozcan, M., Karaarslan, A., & Karaarslan, F. (2003). Otomycosis in Turkey: predisposing factors, aetiology and therapy. *The Journal of Laryngology & Otology*, 117(1), 39-42.

P

- Pigatto, P. D., Bigardi, A., Legori, A., Altomare, G., & Troiano, L. (1991). Allergic contact dermatitis prevalence in patients with otitis externa. *Acta dermato-venereologica*, 71(2), 162-165.
- Pradhan, B., Tuladhar, N. R., & Amatya, R. M. (2003). Prevalence of otomycosis in outpatient department of otolaryngology in Tribhuvan University Teaching Hospital, Kathmandu, Nepal. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, 112(4), 384-387.
- Pedarson RT, Smith LG. Penicillium infection in man. *J Med Soc N J* 1974 ; 71 : 133-4.

Références bibliographiques

- Paulose, K. O., Al Khalifa, S., Shenoy, P., & Sharma, R. K. (1989). Mycotic infection of the ear (otomycosis): a prospective study. *The Journal of Laryngology & Otology*, 103(1), 30-35.
- Petrakis NL, Doherty M, Lee RE, Smith SC, Page NL. Demonstration and implication of lysosomes and immunoglobulins in human ear wax. *Nature* 1971 ; 229:119-20.
- Pak, M. W., & Soo, G. (1997). Flourishing otomycosis. *ENT: Ear, Nose & Throat Journal*, 76(1), 10-10.

R

- Riah, M. (2010). *Prévalence et facteurs de risque des Otomycoses à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed v de Rabat* (Doctoral dissertation).

S

- Selesnick, S. H. (1994). Otitis externa: management of the recalcitrant case. *The American journal of otology*, 15(3), 408-412.
- Samuels, G. J., & Seifert, K. A. (1995). The impact of molecular characters on systematics of filamentous ascomycetes. *Annual Review of Phytopathology*, 33(1), 37-67.
- Stern, J. C., Lucente, F. E., & Shah, M. K. (1988). In vitro effectiveness of 13 agents in otomycosis and review of the literature. *The Laryngoscope*, 98(11), 1173-1177.
- Senturia, B. H., Marcus, M. D., & Lucente, F. E. (1980). *Diseases of the external ear: an otologic-dermatologic manual*. Saunders.
- Savalle Mathilde. Otomycose a *Aspergillus* : Etude rétrospective, expérimentation in vitro et proposition d'un protocole thérapeutique. Th. Med. Pharm Rouen : faculté mixte, 136p. 2015.

T

- Taylor, J. W. (1993). A contemporary view of the holomorph: nucleic acid sequences and computer databases are changing fungal classification. *The Fungal Holomorph: mitotic, meiotic and pleomorphic speciation in fungal systematics*, 3-15.
- Tisner, J., Millan, J., Rivas, P., Adiego, I., Castellote, A., & Valles, H. (1995). Otomycosis and topical application of thimerosal: study of 152 cases. *Acta otorrinolaringologica espanola*, 46(2), 85-89.

Références bibliographiques

V

- Vennewald, I., Schönlebe, J., & Klemm, E. (2003). Mycological and histological investigations in humans with middle ear infections. *Mycoses*, 46(1-2), 12-18.
- Van Asperen, I. A., De Rover, C. M., Schijven, J. F., Oetomo, S. B., Schellekens, J. F., Van Leeuwen, N. J., ... & Sprenger, M. W. (1995). Risk of otitis externa after swimming in recreational fresh water lakes containing *Pseudomonas aeruginosa*. *Bmj*, 311(7017), 1407-1410.

W

- Watanabe S. Dermatophytosis of the external auditory meatus. *J Med Vet Mycol* 1986 ; 24 :485-6.

Y

- Yao, M., & Messner, A. H. (2001). Fungal malignant otitis externa due to *Scedosporium apiospermum*. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*, 110(4), 377-380.
- Yavo, W., Kassi, R. R., Kiki-Barro, P. C., Bamba, A., Kplé, T., Menan, E. I., ... & Koné, M. (2004). Prévalence et facteurs favorisants des otomycoses traitées en milieu hospitalier à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Med Trop*, 64, 39-42.

Z

- Zagnoli, A., Chevalier, B., & Sassolas, B. (2005). Dermatophyties et dermatophytes. *EMC-Pédiatrie*, 2(1), 96-115.

Annexes

I) Milieux de cultures :

1) la gélose de Sabouraud

Peptone.....	10g
Glucose	20g
Agar-agar.....	15g
Eau distillé	1000ml
Vitamines et facteurs de croissance	

pH : 6.0

2) Sabouraud-Chloramphénicol-Actidione (SAC)

Chloramphénicol.....	0,5g
Actidione.....	0,5g

Dissoudre l'actidione dans 10ml d'acétone .Homogénéiser dans le Sabouraud encore liquide.

3) Pomme de terre -carotte-Bile (PCB)

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

II) Colorants

▪ Composition des éclaircissants

Lactophenol

Phénol cristallisé.....	10g
Acide lactique.....	10g

Glycérine.....20g

Eau distillée1000ml

▪ **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

Tableau de lecture et d'interprétation de l'antifongogramme

25/05/2017 Etude de la sensibilité des champignons aux antifongiques, antifongogramme par la méthode de diffusion en milieu

Diamètre de la zone d'inhibition en mm	CMI en µg/mL	Interprétation	
Pour les levures (<i>Candida albicans</i> et autres champignons levuriformes)			
5FC1	= 20	1,56	Sensible
	20-10	1,56-25	Intermédiaire
	= 10	25	Résistant
AB100	> 10	< 1	Sensible
	= 10	1	Intermédiaire ou résistant
NY100	>10	-	Sensible
	= 10	-	Résistant
EC50, CTR50, MCZ50, KET50 (imidazolés)	= 20	1,56	Sensible
	20-10	1,56 – 6,4	Intermédiaire
	=10	6,4	Résistant
Pour <i>Aspergillus fumigatus</i>			
5FC1	>10	-	Sensible
	=10	-	Intermédiaire ou résistant

Tableau de Résultat de la culture

La culture	Nombre de cas	Fréquence en %
Positif	14	41,2
Négatif	20	58,8
Total	34	100

Résumé

Résumé

Sur une période de deux mois ; allant du 10 mars au 30 avril 2019 ; trente-quatre (34) prélèvements auriculaires sont analysés au laboratoire de mycologie à l'Hôpital Militaire Universitaire Cdt Abdelali Benbaatouche, Constantine (HRMUC).

L'objectif de cette étude est de :

- ✓ Déterminer la prévalence des otomycoses chez les patients atteints d'otite externe ou moyenne.
- ✓ Décrire les aspects cliniques et épidémiologiques des otites fongiques.
- ✓ Déterminer les facteurs favorisant et identifier les agents étiologiques des otomycoses.

Dans notre étude; on a constaté que la démarche diagnostique au laboratoire comporte quatre (04) étapes consécutives: un prélèvement (stérilement réalisé) ; un examen direct (dont la négativité n'exclut pas la présence d'une otomycose); une mise en culture (dont le but est d'isoler pour pouvoir ensuite identifier la souche fongique responsable) puis une identification et enfin une interprétation par un antifongogramme.

Notre étude a révélé que :

-Le taux de positivité des cas est de 59%.

-L'incidence la plus élevée d'otite clinique a été enregistrée dans le groupe d'âge de 35-49 ans. Par ailleurs, la valeur la plus basse a été notée dans le groupe d'âge de 65-80 ans.

-une prédominance du sexe masculin (79%) pour (21%) de sexe féminin , soit un sexe ratio F/H de 0.3.

-L'espèce prédominante était *A. niger* (43%).De plus, nous avons enregistré dans le présent travail, quatre espèces de genre *Candida* ont été trouvés *C. albicans* (22%), *C. parapsilosis* et *C. dubliniensis* avec un pourcentage d'isolement de (14%) suivie par *C. tropicalis* (7%).

-les otomycoses à levures sont les plus dominantes (57%) par rapport aux otomycoses à champignons filamenteux (43%)

-La survenue des otomycoses était statistiquement plus fréquente chez les patients ayant pour habitude de se nettoyer quotidiennement les oreilles au coton tige (42.9%)

-les oreilles gauches étaient les plus incriminées avec 57% tandis que, les oreilles droites étaient touchées dans 43% cas uniquement.

-Concernant les signes cliniques , ceux qui consultent pour une otalgie sont les plus nombreux et représentent 35.7% de la population générale.

- ✓ L'antifongogramme n'a que peu d'intérêt dans le diagnostic mycologique car il n'est utilisé qu'en cas de mycoses profondes(otomycose de l'oreille moyenne et interne) .

Mots clés : otomycose ; antifongogramme ; champignons filamenteux ; champignons levuriformes , *Candida* , *Aspergillus* ; mycologie médicale ; otite fongique.

ملخص

على مدى شهرين من 10 مارس الى 30 ابريل 2019. تم تحليل اربعة و ثلاثين (34) عينة من الأذنين في مختبر الفطريات في المستشفى العسكري عبد العالي بن بعطوش ولاية قسنطينة.

الهدف من هذه الدراسة هو:

- تحديد مدى انتشار مرض تسمم الأذن لدى المرضى الذين يعانون من التهاب الأذن الوسطى أو الخارجية.

- وصف الجوانب الوبائية للعدوى الفطرية.

- التعرف على العوامل المساهمة وتحديد العوامل المسببة للفطريات الأذنية

في دراستنا لقد وجد أن الإجراء التشخيصي في المختبر يشمل على أربع (04) خطوات متتالية:

1 / أخذ العينات (يتم إجراء التعقيم)

2 / فحص مباشر (لا يستبعد وجود تسمم الأذن في حال سلبيته)

3 / الدراسة (الغرض منها هو عزل العينة لتحديد السلالة الفطرية المسؤولة)

4 / أخيراً تفسير عن طريق تدفق مضاد للفطريات

و قد كشفت دراستنا أن:

معدل الإيجابية للحالات 59%.

سجلت أعلى نسبة إصابة بالتهاب الأذن السريري في الفئة العمرية 35-49 ، و بالمقابل لوحظت أدنى نسبة في الفئة العمرية 65-80 سنة .

غلبة الذكور (79 %) للإناث (21 %) بنسبة 0.3 %

الأصناف السائدة هي 43 % *A. niger* ، وفي العمل الحالي ، تم العثور على أربعة أنواع من جنس المبيضات هي *C. albicans* (22%) ، *C. parapsilosis* و *C. dubliniensis* مع نسبة العزلة (14 %) تليها *C. tropicalis* بنسبة (7%)

الفطريات الخميرية هي الأكثر انتشارًا بنسبة (57%) مقارنة بالفطريات الخيطية بنسبة (43%)

كان حدوث فطريات الأذن أكثر شيوعًا إحصائيًا في المرضى الذين يعانون من التنظيف اليومي للأذان بواسطة براعم القطن بنسبة (42.9%)

الأذن اليسرى هي الأكثر عرضة بنسبة 57% ، بينما تأثرت الأذن اليمنى بنسبة 43% فقط من مجموع الحالات و من خلال هذه الدراسة فقد تبين ان الأشخاص الذين يعانون من هذا المرض هم من يعانون من الام الأذن و يمثلون نسبة 35.7% من مجموع السكان

مضاد الانتفونجيمان ليس له أهمية كبيرة في تشخيص الفطريات لأنه يستخدم فقط في حالات الفطريات العميقة (التهاب الأذن الوسطى والأذن الداخلية)

كلمات مفتاحية : فطار ادني ،قابلية المضادة للفطريات ، الفطريات الخيطية ، الفطريات الخميرة ، المبيضات ، الرشاشيات ،

الفطريات الطبية، التهاب الأذن الفطرية.

Abstract

In a period of two months; from March 10 to April 30, 2019; thirty-four (34) aural samples are analyzed in mycology laboratory at the Military Hospital Cdt Abdelali Benbaatouche, Constantine.

The objective of this study is:

- Determine the prevalence of otomycosis in patients with otitis external or middle.
- Describe the clinical and epidemiological aspects of fungal infections.
- Determine the contributing factors and identify the etiological agents of otomycosis.

In our study; it has been found that the diagnostic procedure in the laboratory comprises four (04) consecutive steps: a sampling (sterilely performed); a direct examination (whose negativity does not exclude the presence of an otomycosis); a culture (whose purpose is to isolate in order to then identify the fungal strain responsible) then an identification and finally an interpretation by antifungal flow.

Our study revealed that:

-The positivity rate of the cases is 59%.

-The highest incidence of clinical otitis was recorded in the 35-49 age group. Moreover, the lowest value was noted in the age group of 65-80 years.

- Male predominance (79%) for (21%) female, a sex F / H ratio of 0.3.

-The predominant species was *A. niger* (43%), and in the present work four *Candida* genus species were found *C. albicans* (22%), *C. parapsilosis* and *C. dubliniensis* with isolation percentage of (14%) followed by *C. tropicalis* (7%).

-yeast otomycoses are the most dominant (57%) compared to filamentous fungi (43%).

-The occurrence of otomycosis was statistically more common in patients with daily cleaning of cotton bud ears (42.9%).

-the left ears were the most incriminated with 57% while, the right ears were affected in only 43% cases.

- Regarding the clinical signs, those who consult for an earache are the most numerous and represent 35.7% of the general population.

Antifungal is of little interest in mycological diagnosis because it is used only in cases of deep mycosis (otomycosis of the middle and inner ear).

Keywords: otomycosis; antifungal ; filamentous fungi; yeast fungi, *Candida*, *Aspergillus*; medical mycology; fungal otitis.

Thème: Les otomycozes en Algérie

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en mycologie

Sur une période de deux mois ; allant du 10 mars au 30 avril 2019 ; trente-quatre (34) prélèvements auriculaires sont analysés au laboratoire de mycologie à l'Hôpital Militaire Universitaire Cdt Abdelali Benbaatouche, Constantine.

L'objectif de cette étude est de :

- ✓ Déterminer la prévalence des otomycozes chez les patients atteints d'otite externe ou moyenne.
- ✓ Décrire les aspects cliniques et épidémiologiques des otites fongiques.
- ✓ Déterminer les facteurs favorisants et identifier les agents étiologiques des otomycozes.

Dans notre étude; on a constaté que la démarche diagnostique au laboratoire comporte quatre (04) étapes consécutives: un prélèvement (stérilement réalisé) ; un examen direct (dont la négativité n'exclut pas la présence d'une otomycoze); une mise en culture (dont le but est d'isoler pour pouvoir ensuite identifier la souche fongique responsable) puis une identification et enfin une interprétation par un antifongogramme.

Notre étude a révélé que :

- Le taux de positivité des cas est de 59%.
- L'incidence la plus élevée d'otite clinique a été enregistrée dans le groupe d'âge de 35-49 ans. Par ailleurs, la valeur la plus basse a été notée dans le groupe d'âge de 65-80 ans.
- Une prédominance du sexe masculin (79%) pour (21%) de sexe féminin , soit un sexe ratio F/H de 0.3.
- L'espèce prédominante était *A. niger* (43%). De plus, nous avons enregistrés dans le présent travail, quatre espèces de genre *Candida* ont été trouvés *C. albicans* (22%), *C. parapsilosis* et *C. dubliniensis* avec un pourcentage d'isolement de (14%) suivie par *C. tropicalis* (7%).
- Les otomycozes à levures sont les plus dominant (57%) par rapport aux otomycozes à champignons filamenteux (43%)
- La survenue des otomycozes était statistiquement plus fréquente chez les patients ayant pour habitude de se nettoyer quotidiennement les oreilles au coton tige (42.9%)
- Les oreilles gauches étaient les plus incriminées avec 57% tandis que, les oreilles droites étaient touchées dans 43% cas uniquement.
- Concernant les signes cliniques , ceux qui consultent pour une otalgie sont les plus nombreux et représentent 35.7% de la population générale.
- ✓ L'antifongogramme n'a que peu d'intérêt dans le diagnostic mycologique car il n'est utilisé qu'en cas de mycozes profondes (otomycoze de l'oreille moyenne et interne).

Mots clés : otomycoze ; antifongogramme ; champignons filamenteux ; champignons levuriformes , *Candida* , *Aspergillus* ; mycologie médicale ; otite fongique.

Laboratoire de recherche : le laboratoire de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire Cdt Abdelali Benbaatouche , Constantine(HMRUC)

Jury d'évaluation :

Président du jury : MERGOUD Lilya (Maitre assistante B - UFM Constantine),
Rapporteur : REHAMNIA Yacine (Assistant en mycologie- UFM Constantine),
Examineur : ABDLAZIZ Ouided (Maitre assistante A- UFM Constantine).

Date de soutenance : 16/07/2019