



HAL
open science

Étude de la colonisation fongique chez les patients adultes atteints de mucoviscidose au CHU de Rouen entre 2005 et 2010

Marine Gallo

► **To cite this version:**

Marine Gallo. Étude de la colonisation fongique chez les patients adultes atteints de mucoviscidose au CHU de Rouen entre 2005 et 2010. Sciences pharmaceutiques. 2012. dumas-00704396

HAL Id: dumas-00704396

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00704396>

Submitted on 5 Jun 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

U.F.R. DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE ROUEN

2012

N°

**THESE POUR LE
DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE**

GALLO Marine

Née le 7 Avril 1987 à Vitry sur Seine

Présentée et soutenue publiquement le 18 Avril 2012

**ETUDE DE LA COLONISATION FONGIQUE CHEZ LES PATIENTS
ADULTES ATTEINTS DE MUCOVISCIDOSE AU CHU DE ROUEN ENTRE
2005 ET 2010**

Président du jury : M. FAVENNEC Loïc, PU-PH

Membres du jury : M. GARGALA Gilles, MCU-PH

M. DOMINIQUE Stéphane, PH, Dr en médecine

M. LEMEE Ludovic, PH, Dr en pharmacie

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le Professeur Loïc Favennec, chef du département de Parasitologie-Mycologie du CHU de Rouen, pour m'avoir proposé ce sujet d'actualité si intéressant situé au cœur de la recherche mycologique dans le cadre de la mucoviscidose. Je le remercie d'avoir dirigé cette thèse avec tant d'intérêt, pour le temps qu'il m'a consacré ainsi que pour ses précieux conseils. Merci pour sa relecture et ses corrections.

Je remercie également le Docteur Stéphane Dominique, pneumologue au CHU de Rouen, de m'avoir reçue et guidée dans mes recherches ainsi que pour ses corrections. Merci d'avoir accepté d'être présent en tant que membre du jury.

Je remercie le Docteur Gilles Gargala, mycologue au CHU de Rouen, d'avoir accepté de juger mon travail.

Je remercie le Docteur Ludovic Lemée, bactériologiste au CHU de Rouen, pour sa relecture et pour sa présence en tant que membre du jury.

Merci à toute l'équipe du laboratoire de Parasitologie-Mycologie pour son accueil lors de mon stage hospitalo-universitaire de 5^{ème} année et pour son aide concernant l'acquisition des données nécessaires à mon travail.

Merci aux infirmières du CRCM de Rouen pour leur accueil et leur disponibilité.

Enfin je remercie ma famille, mes amis et Alexis de m'avoir accompagnée et soutenue durant mes années d'études.

ANNEE UNIVERSITAIRE 2011 - 2012
U.F.R. DE MEDECINE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : Professeur Pierre FREGER

ASSESEURS : Professeur Michel GUERBET
Professeur Benoit VEBER
Professeur Pascal JOLY
Professeur Bernard PROUST

DOYENS HONORAIRES : Professeurs J. BORDE - Ph. LAURET - H. FIGUET - C. THUILLEZ

PROFESSEURS HONORAIRES : MM. M-P AUGUSTIN - J.ANDRIEU-GUITRANCOURT - M.BENOZIO - J.BORDE - Ph. BRASSEUR - R. COLIN - E. COMOY - J. DALION -, DESHAYES C. FESSARD - J.P FILLASTRE - P.FRIGOT -J. GARNIER - J. HEMET - B. HILLEMAND - G. HUMBERT - J.M. JOUANY - R. LAUMONIER - Ph. LAURET - M. LE FUR - J.P. LEMERCIER - J.P LEMOINE - Mle MAGARD - MM. B. MAITROT - M. MAISONNET - F. MATRAY - P.MITROFANOFF - Mme A. M. ORECCHIONI - P. PASQUIS - H.PIGUET - M.SAMSON - Mme SAMSON-DOLLFUS - J.C. SCHRUB - R.SOYER - B.TARDIF -.TESTART - J.M. THOMINE - C. THUILLEZ - P.TRON - C.WINCKLER - L.M.WOLF

I - MEDECINE

PROFESSEURS

M. Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
M. Bruno BACHY	HCN	Chirurgie pédiatrique
M. Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. Jacques BENICHOU médicale	HCN	Biostatistiques et informatique
M. Eric BERCOFF	HB	Médecine interne (gériatrie)
M. Jean-Paul BESSOU vasculaire	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-
Mme Françoise BEURET-BLANQUART	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Guy BONMARCHAND	HCN	Réanimation médicale
M. Olivier BOYER	UFR	Immunologie
M. Jean-François CAILLARD	HCN	Médecine et santé au Travail
M. François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Philippe CHASSAGNE	HB	Médecine interne (Gériatrie)
M. Alain CRIBIER (Surnombre)	HCN	Cardiologie
M. Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie

M. Pierre CZERNICHOW	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean - Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et Imagerie Médicale
M. Stéfan DARMONI	HCN	Informatique Médicale/Techniques de communication
M. Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mme Danièle DEHESDIN	HCN	Oto-Rhino-Laryngologie
M. Philippe DENIS (Surnombre)	HCN	Physiologie
M. Jean DOUCET	HB	Thérapeutique/Médecine - Interne - Gériatrie.
M. Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
M. Philippe DUCROTTE	HCN	Hépatologie - Gastro - Entérologie
M. Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie Orthopédique - Traumatologique
M. Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M. Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mle Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
M. Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
M. Pierre FREGER	HCN	Anatomie/Neurochirurgie
M. Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et Santé au Travail
M. Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie Médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Michel GODIN	HB	Néphrologie
M. Philippe GRISE	HCN	Urologie
M. Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
M. Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
M. Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
M. Pascal JOLY	HCN	Dermato - vénéréologie
M. Jean-Marc KUHN	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie cytologie pathologiques
M. Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
M. Alain LAVOINNE	UFR	Biochimie et biologie moléculaire
M. Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
M. Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
M. Xavier LE LOET	HB	Rhumatologie
M. Eric LEREBOURS	HCN	Nutrition
Mle Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
M. Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile

M. Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. Eric MALLET (Surnombre)	HCN	Pédiatrie
M. Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mle Isabelle MARIE	HB	Médecine Interne
M. Jean-Paul MARIE	HCN	ORL
M. Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - obstétrique
M. Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
M. Pierre MICHEL	HCN	Hépatologie - Gastro - Entérologie
M. Francis MICHOT	HCN	Chirurgie digestive
M. Bruno MIHOUT	HCN	Neurologie
M. Pierre-Yves MILLIEZ	HCN	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
M. Jean-François MUIR	HB	Pneumologie
M. Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
M. Philippe MUsETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
M. Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
M. Jean-Marc PERON	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
M. Christian PFISTER	HCN	Urologie
M. Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
M. Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
M. Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
M. François PROUST	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie et méd. du dévelop. et de la reprod.
M. Jean-Christophe RICHARD (Mise en dispo)	HCN	Réanimation Médicale, Médecine d'urgence
M. Horace ROMAN	HCN	Gynécologie Obstétrique
M. Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
M. Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatologie - Gastro
M. Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mle Florence THIBAUT	HCN	Psychiatrie d'adultes
M. Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
M. Christian THUILLEZ	HB	Pharmacologie
M. Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
M. François TRON (Surnombre)	UFR	Immunologie
M. Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
M. Jean-Pierre VANNIER	HCN	Pédiatrie génétique

M. Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie Réanimation chirurgicale
M. Pierre VERA	C.B	Biophysique et traitement de l'image
M. Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
M. Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
M. Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie - Virologie
M. Jeremy BELLIEN	HCN	Pharmacologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
M. Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Physiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
M. Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
M. Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mme Catherine HAAS-HUBSCHER	HCN	Anesthésie - Réanimation chirurgicale
M. Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
M. Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie Cellulaire
Mme Lucie MARECHAL-GUYANT	HCN	Neurologie
M. Jean-François MENARD	HCN	Biophysique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et Biologie moléculaire
M. Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
M. Francis ROUSSEL	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
M. Eric VERIN	HCN	Physiologie

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

M. Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
M. Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire

PROFESSEUR AGREGÉ OU CERTIFIÉ

Mme Dominique LANIEZ

UFR

Anglais

Mme Michèle GUIGOT

UFR

Sciences humaines - Techniques d'expression

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

M. Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
M. Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
M. Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
M. Jean COSTENTIN (PU-PH)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
M. Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
M. Michel GUERBET	Toxicologie
M. Olivier LAFONT	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX	Physiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
M. Marc VASSE (PU-PH)	Hématologie
M Jean-Marie VAUGEOIS (Délégation CNRS)	Pharmacologie
M. Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mle Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique BOUCHER	Pharmacologie
M. Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
M. Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
M. Jean CHASTANG	Biomathématiques
Mme Marie Catherine CONCE- CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mle Cécile CORBIERE	Biochimie
M. Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mle Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Roseline DUCLOS	Pharmacie Galénique
M. Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
M. François ESTOUR	Chimie Organique

M. Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla GHARBI	Chimie analytique
Mle Marie-Laure GROULT	Botanique
M. Hervé HUE	Biophysique et Mathématiques
Mme Hong LU	Biologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
M. Paul MULDER	Sciences du médicament
M. Mohamed SKIBA	Pharmacie Galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie Galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
M. Rémi VARIN (MCU-PH)	Pharmacie Hospitalière
M. Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEUR ASSOCIE

M. Jean-Pierre GOULLE	Toxicologie
-----------------------	-------------

MAITRE DE CONFERENCE ASSOCIE

Mme Sandrine PANCHOU	Pharmacie Officinale
----------------------	----------------------

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mme Anne-Marie ANZELLOTTI	Anglais
---------------------------	---------

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

M. Bérénice COQUEREL	Chimie Analytique
M. Johann PELTIER	Microbiologie

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre HENRI BECQUEREL

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

III - MEDECINE GENERALE

PROFESSEURS

M. Jean-Loup HERMIL	UFR	Médecine générale
---------------------	-----	-------------------

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS :

M. Pierre FAINCILBER	UFR	Médecine générale
----------------------	-----	-------------------

M. Alain MERCIER	UFR	Médecine générale
------------------	-----	-------------------

M. Philippe NGUYEN THANH	UFR	Médecine générale
--------------------------	-----	-------------------

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS :

M Emmanuel LEFEBVRE	UFR	Médecine générale
---------------------	-----	-------------------

Mme Elisabeth MAUVIARD	UFR	Médecine générale
------------------------	-----	-------------------

Mme Marie Thérèse THUEUX	UFR	Médecine générale
--------------------------	-----	-------------------

LISTE DES RESPONSABLES DE DISCIPLINE

Melle Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
M. Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
M. Roland CAPRON	Biophysique
M Jean CHASTANG	Mathématiques
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation, Economie de la Santé
Mle Elisabeth CHOSSON	Botanique
M. Jean COSTENTIN	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
M. Loïc FAVENNEC	Parasitologie
M. Michel GUERBET	Toxicologie
M. Olivier LAFONT	Chimie organique
M. Jean-Louis PONS	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
M. Mohamed SKIBA	Pharmacie Galénique
M. Marc VASSE	Hématologie
M. Philippe VERITE	Chimie analytique

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

MAITRES DE CONFERENCES

M. Sahil ADRIOUCH Biochimie et biologie moléculaire
(Unité Inserm 905)

Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE Biochimie et biologie moléculaire
(Unité Inserm 614)

M. Antoine OUVRARD-PASCAUD Physiologie (Unité Inserm 644)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

M. Mario TOSI Biochimie et biologie moléculaire
(Unité Inserm 614)

M. Serguei FETISSOV Physiologie (Groupe ADEN)

Mme Su RUAN

Par délibération en date du 03 Mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

TABLE DES MATIERES

1 INTRODUCTION.....	20
2 GENERALITES.....	21
2.1 La mucoviscidose	21
2.1.1 Epidémiologie.....	21
2.1.2 Physiopathologie	22
2.1.2.1 La protéine CFTR	22
2.1.2.2 Conséquences de la mutation à l'origine de la mucoviscidose	25
2.1.2.3 Corrélation entre la mutation du gène et la fonction de la protéine CFTR.....	25
2.1.2.4 Relations génotype/phénotype.....	26
2.1.3 Diagnostic.....	28
2.1.3.1 Le Diagnostic Néonatal de la Mucoviscidose ou DNM	28
2.1.3.2 La recherche des mutations du gène CFTR	29
2.1.3.3 Test à la sueur (TS)	30
2.1.4 Clinique.....	30
2.1.4.1 Atteintes respiratoires.....	30
2.1.4.1.1 Manifestation clinique chez le petit enfant	31
2.1.4.1.2 Evolution des manifestations respiratoires.....	31
2.1.4.2 Atteintes digestives	32
2.1.4.2.1 Insuffisance pancréatique	32
2.1.4.2.2 Atteinte hépato-biliaire.....	32
2.1.4.2.3 Manifestations gastro-intestinales.....	33
2.1.4.3 Autres manifestations cliniques	33
2.1.4.3.1 Glandes sudoripares.....	33
2.1.4.3.2 Atteinte de l'appareil génital.....	34
2.1.4.3.3 Atteintes cardiaques	34
2.1.4.3.4 Atteintes ostéoarticulaires	34
2.1.4.3.5 Atteintes ORL	34
2.1.5 Prise en charge thérapeutique	34

2.1.5.1	Prise en charge des manifestations pulmonaires.....	35
2.1.5.2	Prise en charge des manifestations digestives.....	36
2.1.5.3	Autres traitements	37
2.1.5.4	Nouvelles thérapeutiques	37
2.1.6	Evolution et pronostic	38
2.2	Importance des populations fongiques et bactériennes dans la mucoviscidose	40
2.2.1	Description et rôle pathogène de la colonisation fongique chez le patient atteint de mucoviscidose	40
2.2.1.1	Les champignons filamenteux.....	41
2.2.1.1.1	<i>Aspergillus</i> sp.	41
2.2.1.1.2	<i>Scedosporium</i> sp.	47
2.2.1.1.3	Autres champignons filamenteux	49
2.2.1.2	Les levures.....	51
2.2.1.2.1	<i>Candida</i> sp.....	51
2.2.1.2.2	Autres levures	52
2.2.2	Description et rôle pathogène des bactéries chez le patient atteint de mucoviscidose	52
2.2.2.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
2.2.2.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	56
2.2.2.3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	57
2.2.2.4	Le complexe <i>Burkholderia cepacia</i>	58
2.2.2.5	Les mycobactéries	60
3	CONTEXTE ET OBJECTIFS.....	62
4	PATIENTS ET METHODES	63
4.1	Description des populations étudiées	64
4.1.1	Espèces fongiques	64
4.1.2	Espèces bactériennes	69
4.2	Description des autres paramètres.....	70

4.2.1	Diabète	70
4.2.2	Etat pancréatique	70
4.2.3	Indice de Masse Corporelle : IMC.....	71
4.2.4	Sexe	72
4.2.5	Mutations	72
4.2.6	Age.....	72
4.2.7	Nombre de cures d'antibiotiques intraveineuses par an	73
4.2.8	Prise au long court d'azithromycine	74
4.2.9	Traitements antibiotiques inhalés	75
4.2.10	Traitements antifongiques	76
4.2.11	VEMS	77
5	RESULTATS	79
5.1	Données cliniques et colonisation fongique	79
5.1.1	Diabète	79
5.1.2	Etat pancréatique	79
5.1.3	Indice de Masse Corporelle	80
5.1.4	Sexe	80
5.1.5	Mutations	80
5.1.6	Age.....	80
5.1.7	Traitements antifongiques	81
5.1.8	Traitements antibiotiques inhalés.....	81
5.1.9	Azithromycine au long court	82
5.1.10	Cures d'antibiotiques intraveineuses	82
5.1.11	VEMS	82
5.2	Recherche d'associations entre les espèces fongiques et bactériennes	82
5.2.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>	82
5.2.2	<i>Scedosporium apiospermum</i>	83
5.2.3	<i>Cladosporium</i> sp.	83
5.2.4	<i>Geosmithia argillacea</i>	83

6 DISCUSSION	84
6.1 Epidémiologie fongique	84
6.2 Associations des espèces fongiques avec les paramètres cliniques	87
6.3 Associations entre les espèces fongiques et bactériennes	90
6.3.1 <i>Aspergillus fumigatus</i>	90
6.3.1.1 <i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Scedosporium apiospermum</i>	90
6.3.1.2 <i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	91
6.3.1.3 <i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	91
6.3.1.4 <i>Aspergillus fumigatus</i> et mycobactéries	92
6.3.2 <i>Scedosporium apiospermum</i>	92
6.3.2.1 <i>Scedosporium apiospermum</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	92
6.3.2.2 <i>Scedosporium</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> méti-R	93
6.3.3 <i>Geosmithia argillacea</i>	93
6.4 Intérêts, limites de l'étude et perspectives de recherche.....	94
7 CONCLUSION	96
8 BIBLIOGRAPHIE	98
9 ANNEXES.....	103

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Evolution du nombre de patients atteints de mucoviscidose et du pourcentage d'adultes (18 ans et plus) depuis 1992 (RFM, 2009)	22
Figure 2 : Structure de la protéine CFTR (issue de Chinet <i>et Coll</i> , 2003).....	23
Figure 3 : Fonctionnement du canal chlorure CFTR (issue de Chinet <i>et Coll</i> , 2003)	23
Figure 4: Régulation des flux ioniques	24
Figure 5 : Classification des mutations du gène CFTR, d'après Welsh & Smith, 1993	26
Figure 6: Manifestations cliniques liées à l'activité de CFTR.....	27
Figure 7 : Algorithme du dépistage néonatal de la mucoviscidose (issue de Roussey <i>et Coll</i> , 2010).....	29
Figure 8 : Evolution de l'âge médian de survie des patients mucoviscidosiques aux Etats-Unis entre 1986 et 2010	38
Figure 9: Evolution du nombre de patients transplantés depuis 1992.....	39
Figure 10 : Champignons filamenteux associés à la mucoviscidose classés selon leur fréquence et leur capacité à coloniser chroniquement les voies respiratoires (Pihet <i>et Coll</i> , 2009).....	41
Figure 11 : Différentes formes cliniques des aspergilloses bronchopulmonaires (Germaud <i>et Coll</i> , 2005).....	43
Figure 12 : Classification des stades d'ABPA (Le Bourgeois <i>et Coll</i> , 2011).	44
Figure 13 : Bactéries cliniquement importantes dans la mucoviscidose selon l'âge en 2009	53
Figure 14 : Population de bactéries isolées en 2009 comparée à celles isolées en 1999	54
Figure 15 : Composition du complexe <i>B. cepacia</i> (Lipuma, 2010)	59
Figure 16 : Distribution des espèces de <i>Burkholderia</i> aux Etats-Unis (Lipuma, 2010).....	60
Figure 17 : Description de la colonisation fongique chez les patients atteints de mucoviscidose au CHU de Rouen	65
Figure 18 : Nombre de patients au CHU de Rouen colonisés par des espèces aspergillaires.	66
Figure 19 : Classification des espèces fongiques selon leur fréquence de colonisation	68
Figure 20 : Les différents types de colonisation fongique chez les patients du CHU de Rouen	69

Figure 21 : Description de la colonisation bactérienne chez les patients du CHU de Rouen..	70
Figure 22 : Description de la population étudiée selon l'IMC.....	71
Figure 23 : Répartition de la population étudiée selon l'âge.....	73
Figure 24 : Représentation de l'effectif ayant reçu des cures d'antibiotiques par voie intraveineuse	74
Figure 25 : Représentation de l'effectif ayant reçu des cures d'azithromycine.....	75
Figure 26 : Représentation de l'effectif ayant reçu des cures d'antibiotiques inhalés	76
Figure 27 : Représentation de l'effectif ayant reçu des traitements antifongiques	77
Figure 28 : Répartition de la population en fonction du VEMS	78

1 INTRODUCTION

La mucoviscidose, également appelée fibrose kystique du pancréas, est une maladie génétique qui compte près de 6000 patients en France. Elle reste une maladie grave même si l'espérance de vie a considérablement augmenté grâce aux progrès thérapeutiques. Elle met en jeu progressivement le pronostic vital en raison de ses complications respiratoires. En effet, la formation de mucus visqueux entraîne l'obstruction des voies respiratoires ainsi qu'une réaction inflammatoire qui favorisent la contamination par des espèces bactériennes et fongiques. Les conséquences vont en être une accélération du déclin de la fonction respiratoire. C'est généralement au bacille pyocyanique que l'on attribue un rôle central dans cette évolution. Parmi les autres espèces microbiennes, les champignons microscopiques sont classiquement représentés par *Aspergillus fumigatus* dont le pouvoir pathogène s'exprime essentiellement sous forme d'une aspergillose bronchopulmonaire allergique (ABPA). Cependant, l'allongement de la survie et l'intensification de la surveillance et des traitements ont amenés à discuter d'autres conséquences de la présence d'*Aspergillus fumigatus* et de la présence d'autres espèces comme *Candida albicans*, *Scedosporium apiospermum* ou *Aspergillus terreus*. Parmi celles-ci, certaines sont considérées comme des pathogènes émergents alors que le rôle pathologique et l'impact de la colonisation fongique sur l'évolution de la maladie reste inconnu.

Le but de notre étude a été dans un premier temps de déterminer les espèces fongiques présentes dans les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose suivis au CHU de Rouen et de comparer nos données à celles publiées par d'autres centres. Dans un second temps, nous avons recherché s'il existait des associations entre certaines espèces fongiques et d'autres espèces fongiques ou bactériennes. Différents paramètres cliniques et les traitements utilisés ont été individualisés pour rechercher des associations avec les champignons que nous avons isolés.

2 GENERALITES

2.1 La mucoviscidose

2.1.1 Epidémiologie

La mucoviscidose est une maladie autosomique récessive comptant parmi les maladies génétiques les plus fréquentes en Europe. Actuellement, sa fréquence s'élève à 1/4500 naissances (Langeard *et Coll*, 2010). On estime à environ une personne sur 30 le nombre de porteur d'un allèle muté (Chinet *et Coll*, 2003).

En 2009, 5650 patients atteints ont été enregistrés au Registre Français de la Mucoviscidose (RFM). On estime ce chiffre équivalent à 90% de la totalité de la population atteinte en France.

De plus, on constate que l'effectif de patients enregistré chaque année au Registre est en augmentation depuis 1992¹ comme le montre le graphique suivant :

¹ Bilan des données 2009, Registre Français de la Mucoviscidose
http://www.vaincrelamuco.org/e_upload/pdf/rapport_registre_2009.pdf

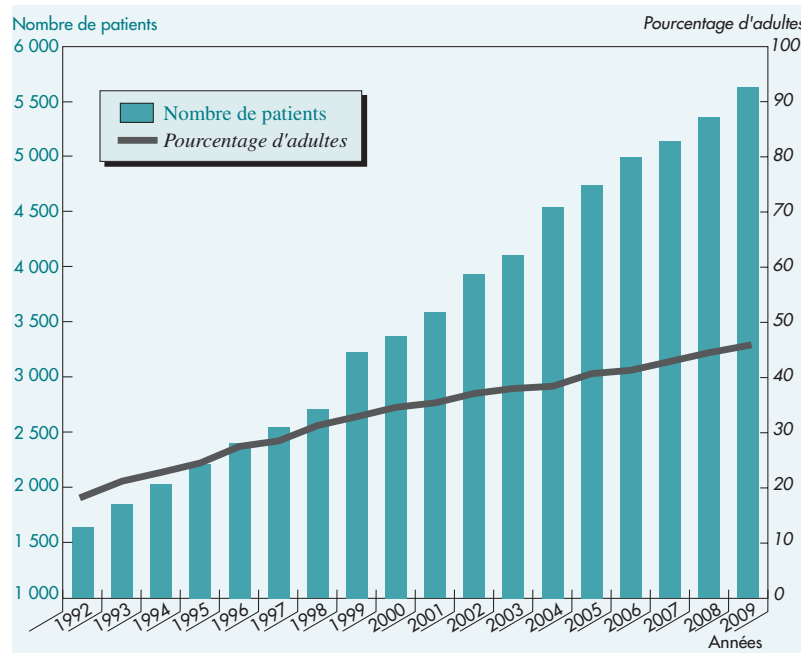


Figure 1 : Evolution du nombre de patients atteints de mucoviscidose et du pourcentage d'adultes (18 ans et plus) depuis 1992 (RFM, 2009)

Cette pathologie est due à une mutation du gène situé sur le bras long du chromosome 7 (7q31) codant pour une protéine nommée CFTR (*Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*).

2.1.2 Physiopathologie

2.1.2.1 La protéine CFTR

La protéine CFTR est située au niveau du pôle apical des cellules épithéliales. Elle est composée de deux domaines transmembranaires (TM1 et TM2) chacun comportant six régions transmembranaires, de deux sites de fixation des nucléotides (SFN1 et SFN2) et d'un domaine régulateur (R).

La protéine CFTR exerce de nombreuses fonctions dont celui de canal chlore activé par l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC). Elle agit également comme régulateur d'autres canaux ioniques, notamment chlore, sodium et potassium (Chinet *et Coll*, 2003).

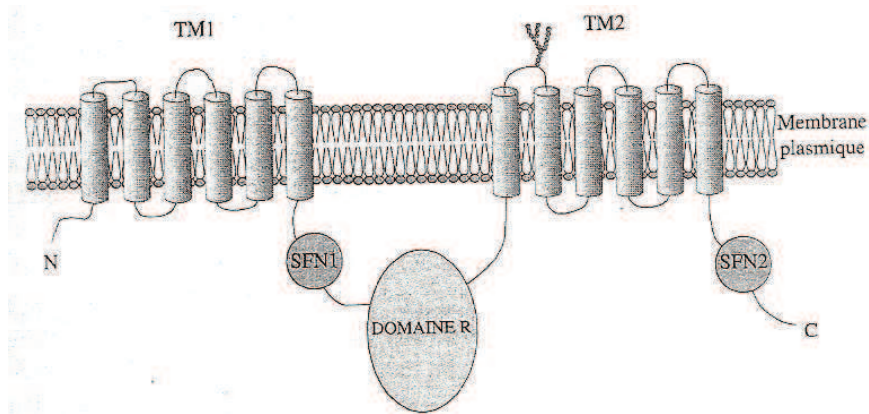


Figure 2 : Structure de la protéine CFTR (issue de Chinet et Coll, 2003)

L'APMc permet la phosphorylation du domaine régulateur R par la protéine kinase PKA. Cette interaction engendre la fixation de l'ATP sur SFN1. L'hydrolyse de l'ATP (Adénosine Triphosphate) en ADP (Adénosine Diphosphate) conduit à l'ouverture du canal chlore. Par gradient électrochimique, les ions chlorures sortent à l'extérieur de la cellule. Puis l'opération inverse se produit : il y a déphosphorylation et interaction entre l'ATP et SFN2 ce qui se traduit par une fermeture du canal (Chinet et Coll, 2003).

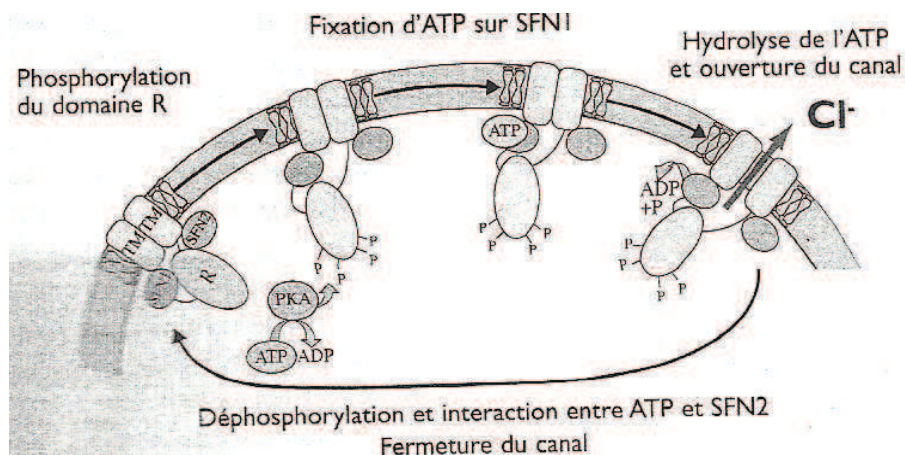


Figure 3 : Fonctionnement du canal chlorure CFTR (issue de Chinet et Coll, 2003)

La protéine CFTR intervient donc dans la régulation des transports ioniques qui génèrent des gradients osmotiques. En effet, chaque cellule de l'épithélium bronchique est

composée de canaux sécrétant du chlore (CFTR et ORCC ou *Outwardly Rectifying Chloride Channel*) et de canaux sodiques ENaC (*Epithelial Sodium Channel*) absorbant le sodium. La protéine CFTR inhibe les canaux ENaC limitant l'entrée de sodium dans la cellule et active les canaux ORCC permettant la sortie de chlore hors de la cellule.

Ces deux mouvements vont moduler les transferts de liquide entre la région sous-épithéliale et la surface des voies aériennes. Ils participent donc à la régulation de l'hydratation du liquide de surface bronchique qui recouvre l'épithélium de surface des voies aériennes (Chinet *et Coll*, 2003). Cette régulation est fondamentale pour assurer la clairance du mucus bronchique grâce à l'action des cils.

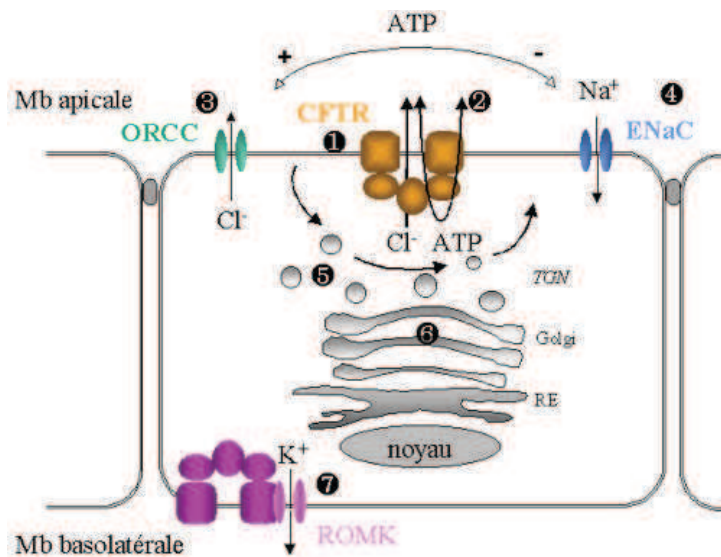


Figure 4: Régulation des flux ioniques²

² La mucoviscidose et le gène CFTR

http://chronos.activeweb.fr/QuickPlace/accesmad/PageLibrary85256EA100360389.nsf/h_Index/854A3E6C1F9C317C8525714700566016/

2.1.2.2 Conséquences de la mutation à l'origine de la mucoviscidose

Chez un patient atteint de mucoviscidose, la fonction de la protéine CFTR est altérée et la régulation des flux ioniques est mauvaise. On observe une sécrétion insuffisante de chlore et une hyperabsorption de sodium dans les cellules, qui entraîne une déshydratation du liquide de surface bronchique et un trouble de l'action des cils de l'épithélium bronchique. L'accumulation du mucus favorise les infections bronchopulmonaires et la réaction inflammatoire locale chez les patients atteints de mucoviscidose (Chinet *et Coll*, 2003).

2.1.2.3 Corrélation entre la mutation du gène et la fonction de la protéine CFTR

Le patient atteint de mucoviscidose peut être homozygote c'est à dire porteur de la même mutation sur les deux allèles du gène CFTR, ou bien hétérozygote. Dans ce cas, il sera porteur de deux mutations différentes.

Aujourd'hui, les chercheurs ont pu mettre en évidence plus de 1600 mutations différentes du gène de la mucoviscidose. La plus fréquente, présente chez 80% des patients, est la mutation DF508 qui se traduit par la délétion de la phénylalanine en position 508³.

Les conséquences de ces mutations sur la fonction de la protéine CFTR peuvent être classées en six catégories différentes (Chinet *et Coll*, 2003 ; Cruyppenninck, 2010) :

- **Classe I** : Absence de production de la protéine ou synthèse d'une protéine aberrante, tronquée. C'est le cas de 7% des patients atteints de mucoviscidose.
- **Classe II** : Destruction de la protéine malformée au cours de sa maturation dans le système réticulo endoplasmique-appareil de Golgi. C'est le cas de la mutation DF508 qui touche 80% des patients.

³ Registre Français de la Mucoviscidose. Bilan des données 2009.
http://www.vaincrelamuco.org/e_upload/pdf/rapport_registre_2009.pdf

- **Classe III** : Affectation de la régulation du canal chlore/CFTR notamment au niveau des interactions entre l'ATP et les sites de fixation des nucléotides : 3% des malades en sont victimes.
- **Classe IV** : Diminution de la perméabilité au chlore du canal Chlore/CFTR, qui se traduit par une anomalie de conduction transmembranaire du chlore.
- **Classe V** : Individualisée plus récemment, les mutations de cette classe entraînent une diminution de la quantité de l'expression membranaire de la protéine ou de sa stabilité.

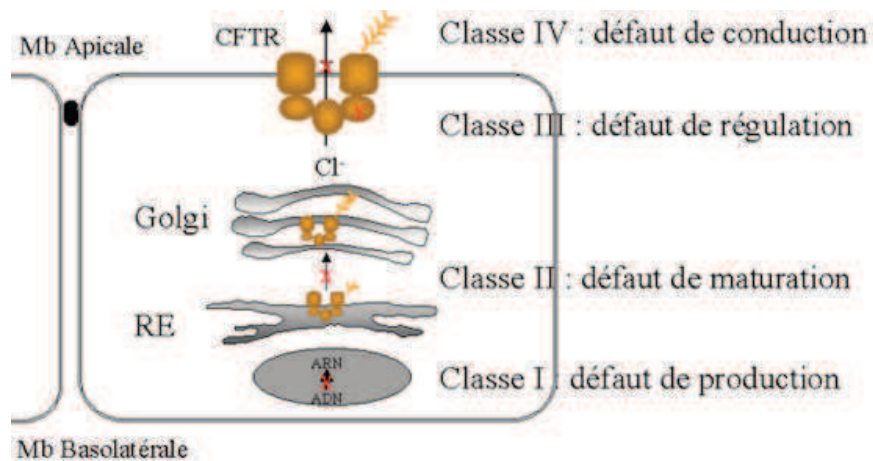


Figure 5 : Classification des mutations du gène CFTR, d'après Welsh & Smith, 1993⁴

2.1.2.4 Relations génotype/phénotype

Il existe des formes plus ou moins sévères de la maladie en fonction de la nature des mutations du gène CFTR. En effet, les mutations de classe I, II et III auraient des conséquences phénotypiques plus sévères que celles des classes IV et V.

⁴ La mucoviscidose et le gène CFTR

http://chronos.activeweb.fr/QuickPlace/accesmad/PageLibrary85256EA100360389.nsf/h_Index/854A3E6C1F9C317C8525714700566016/

De plus, la gravité de l'expression de la maladie dépend du fonctionnement qualitatif et quantitatif de la protéine CFTR : plus son niveau d'activité est bas, plus le phénotype est sévère (Chinet *et Coll*, 2003).

Ceci est illustré par le graphique suivant :

Fonction de la protéine CFTR

(pourcentage de la valeur normale)

Conséquences cliniques

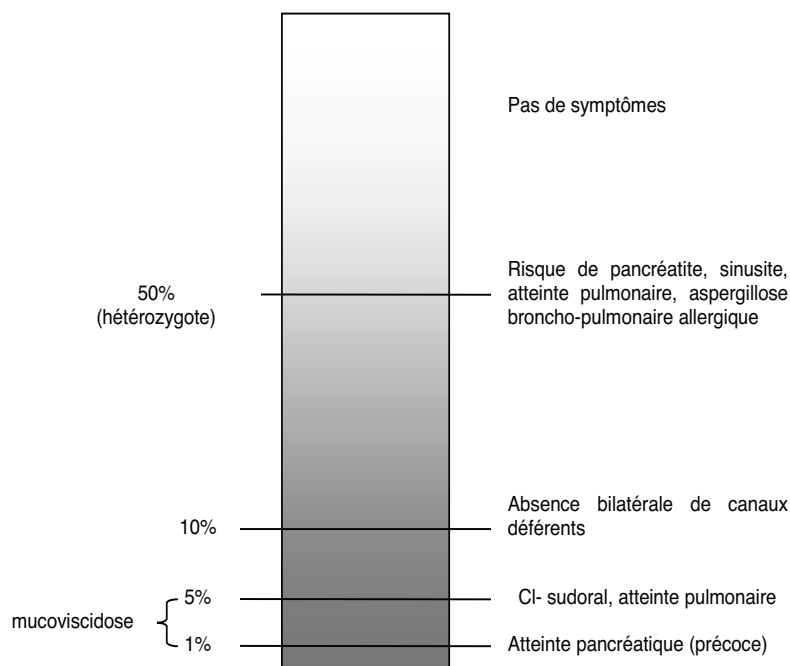


Figure 6: Manifestations cliniques liées à l'activité de CFTR⁵

Une relation génotype/phénotype a été mise en évidence sur la fonction pancréatique. Par conséquent, les formes avec insuffisance pancréatique sont le plus souvent associées à des mutations de classe I, II et III. Le phénotype est jugé sévère (HAS, 2009).

⁵ HAS, 2009 : Le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose en France : état des lieux et perspectives après 5 ans de fonctionnement http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-04/rapport_depistage_neonatal_systematique_de_la_mucoviscidose_en_france.pdf

La relation entre le génotype et le phénotype au niveau de la fonction pulmonaire est moins linéaire. Cela laisse penser que l'expression clinique de la maladie serait influencée par d'autres facteurs sans que les mécanismes en soient bien connus : gènes modificateurs, traitements, environnement (Chinet *et Coll*, 2003).

2.1.3 Diagnostic

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose (DNM) a été généralisé en France à partir de 2002 et concerne quasiment la totalité de la population. Il n'est cependant pas obligatoire. On estime une soixantaine de parents par an sur 800 000 qui refusent le DNM (Roussey *et Coll*, 2010).

La justification du DNM se traduit par une prise en charge rapide par une équipe spécialisée organisée en CRCM pour débiter une surveillance et un traitement précoce.

2.1.3.1 Le Diagnostic Néonatal de la Mucoviscidose ou DNM

Le DNM est réalisé grâce au dosage de la trypsine immunoréactive (TIR). C'est une enzyme sécrétée par le pancréas. Sa présence dans le sang résulte d'une obstruction des canaux pancréatiques par un amas de protéine « in utero » qui engendre un relargage enzymatique. On procède à partir d'un échantillon de sang séché du nourrisson prélevé du bord externe du talon au troisième jour après la naissance (HAS, 2009).

Si le taux de TIR est supérieur au seuil de 0,5 µg/L, on continue le programme de dépistage avec le test de biologie moléculaire (Roussey *et Coll*, 2010).

Le schéma suivant est appliqué dans le cadre du DNM :

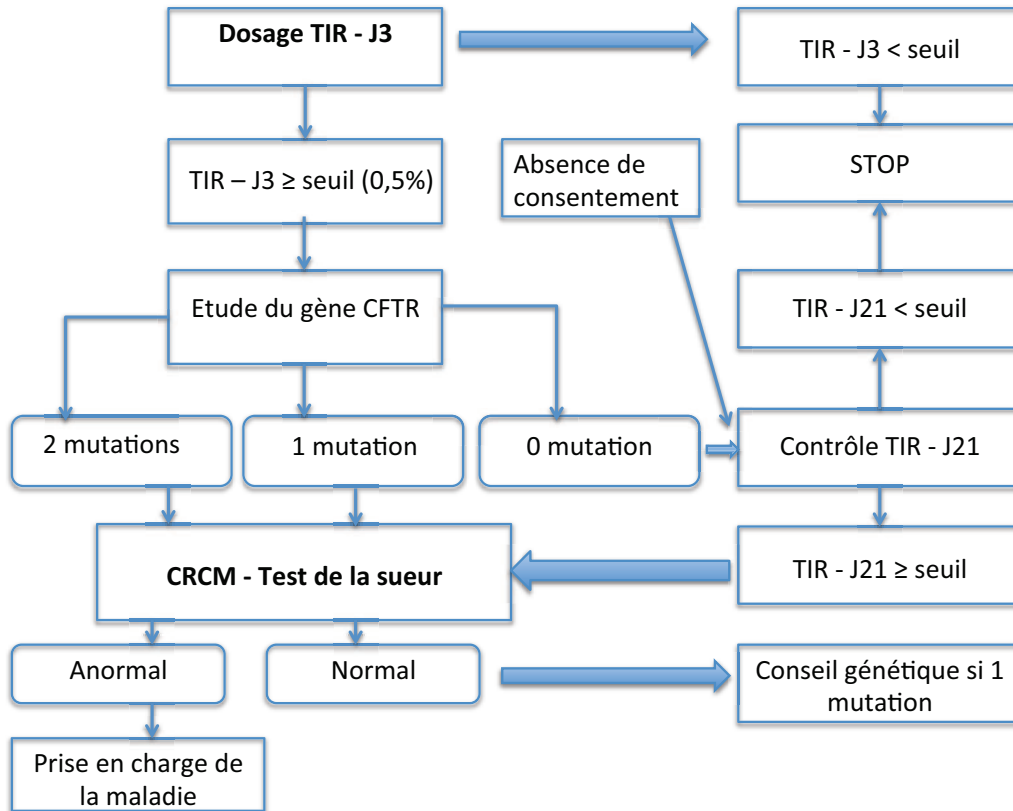


Figure 7 : Algorithme du dépistage néonatal de la mucoviscidose (issue de Roussey *et Coll*, 2010)

2.1.3.2 La recherche des mutations du gène CFTR

On réalise cette recherche grâce à des techniques de biologie moléculaire. Il n'est pas possible de faire une étude complète du gène étant donné le nombre de mutations décrites. Cependant en utilisant des kits de 20, 30 voire 50 mutations, on couvre plus de 90% des mutations les plus fréquentes (Roussey *et Coll*, 2010).

Si on détecte une ou deux mutations, la famille est envoyée directement au CRCM afin de procéder au test de la sueur. En revanche, l'absence de mutation conduit à un nouveau dosage de la TIR vers le 21^e jours après la naissance.

2.1.3.3 Test à la sueur (TS)

Après stimulation de la sudation, la sueur est recueillie et la concentration de chlorure est mesurée. Si le taux est inférieur à 40 mmol/L, ce test est considéré comme normal. En revanche, si la valeur est supérieure ou égale à 60 mmol/L, il est positif. Il faut cependant que deux dosages soient réalisés pour retenir le diagnostic positif (HAS, 2009).

Si le taux mesuré se trouve entre 40 et 60 mmol/L, le diagnostic ne peut pas être écarté. Il faut dans ce cas répéter le test à la sueur.

2.1.4 Clinique

Le gène de la mucoviscidose est exprimé par de nombreuses cellules de l'organisme, notamment au niveau des muqueuses bronchiques, intestinales, des canaux pancréatiques, épидидymaires, mais également au niveau des glandes sudoripares et de la vésicule biliaire, ce qui explique la grande diversité clinique de cette pathologie.

2.1.4.1 Atteintes respiratoires

L'atteinte respiratoire est constituée de trois composantes étroitement liées : obstruction, inflammation et infection. Elle a une expression clinique précoce et conditionne le pronostic vital (Derelle *et Coll*, 2003).

C'est un cercle vicieux qui se met en place. En effet, l'hyperviscosité du mucus engendre une inflammation ainsi que des infections virales et bactériennes, qui conduisent à une hyperplasie des cellules glandulaires de l'épithélium respiratoire, produisant un excès de mucus. A long terme, l'inflammation chronique aboutit à des modifications profondes de la structure bronchique (Deneuille *et Coll*, 2007).

2.1.4.1.1 **Manifestation clinique chez le petit enfant**

La grande fréquence des infections virales chez les petits rend difficile l'attribution de symptômes à la mucoviscidose. Seul le caractère récidivant ou sévère de bronchites et de bronchiolites peuvent attirer l'attention.

Les symptômes à cet âge sont une toux rebelle, une respiration sifflante associée à des signes d'hyperréactivité bronchique, un encombrement bronchique. Ces manifestations se retrouvent chez une grande majorité de nourrissons dépistés dès l'âge de 12 mois (Deneuille *et Coll*, 2007).

2.1.4.1.2 **Evolution des manifestations respiratoires**

Les symptômes respiratoires vont évoluer par poussées au cours des années (Deneuille *et Coll*, 2007). Ces poussées appelées exacerbations sont la conséquence de colonisations bactériennes ou fongiques favorisées par le mucus bronchique visqueux (HAS, 2009). Les germes et champignons les plus fréquents sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aspergillus fumigatus*... Ces exacerbations se traduisent par une augmentation de la toux et d'expectorations. Les sécrétions bronchiques sont épaisses et purulentes. On observe parfois une diminution de la tolérance à l'effort, une dyspnée, une asthénie, une perte de poids. A chaque poussée, la fonction respiratoire se trouve dégradée, parfois de façon non réversible (Deneuille *et Coll*, 2007).

La répétition des poussées infectieuses et l'inflammation chronique au niveau des bronches conduisent à une insuffisance respiratoire à long terme, qui est responsable de 90% des décès.

2.1.4.2 Atteintes digestives

2.1.4.2.1 *Insuffisance pancréatique*

Rencontrée chez 85% des patients, l'insuffisance pancréatique est responsable chez l'enfant du retard staturo-pondéral et chez l'adulte du déficit pondéral ainsi que de malnutrition (HAS, 2009). Elle est la conséquence de l'obstruction des canaux excréteurs. Les sécrétions pancréatiques sont visqueuses, pauvres en eau, en bicarbonates et en enzymes pancréatiques. Il en résulte un syndrome de malabsorption des graisses se manifestant par une diarrhée grasseuse, une carence en vitamines liposolubles A, D, E, K ainsi qu'une carence en acides gras essentiels (HAS, 2009).

Le diagnostic est mis en évidence par le dosage de l'élastase fécale dans les selles (la normale étant supérieur à 200 µg/g de selles) (Turk *et Coll*, 2003).

L'atteinte du pancréas engendre également un diabète par destruction des îlots de Langerhans ou par dégénérescence grasseuse, se compliquant notamment de rétinopathies et de néphropathies (HAS, 2009).

2.1.4.2.2 *Atteinte hépato-biliaire*

La protéine CFTR étant présente dans les cellules épithéliales biliaires, sa dysfonction peut provoquer une augmentation de la viscosité de la bile et une obstruction des canaux biliaires. Les patients peuvent être atteints d'une hépatomégalie cirrhogène.

Le dosage des transaminases, de la gamma-glutamyl-transférase (γ-GT) et des échographies sont recommandés pour le diagnostic précoce (Turk *et Coll*, 2003).

Les complications de la cirrhose, hypertension portale ou insuffisance hépatocellulaire, seraient responsables de 3 à 8% des décès (HAS, 2009).

2.1.4.2.3 ***Manifestations gastro-intestinales***

La mauvaise régulation des flux ioniques causée par la mutation de la protéine CFTR entraîne également des conséquences au niveau intestinal : un mucus épais et déshydraté privé de ses propriétés lubrifiantes contribuant au syndrome de malabsorption et responsable d'une obstruction intestinale. Cliniquement, cela se traduit par un *iléus* meconial, c'est à dire une obstruction intestinale néonatale basse due à l'absence de progression du méconium anormalement visqueux au niveau du grêle (Turk *et Coll*, 2003), un syndrome d'obstruction intestinale distale, ou une constipation (HAS, 2009).

Chez 3 nouveau-nés sur 4, un reflux gastro-oesophagien est diagnostiqué et contribue à la diminution des prises alimentaires, à la dégradation de l'état nutritionnel et à la majoration de la symptomatologie respiratoire (Turk *et Coll*, 2003).

2.1.4.3 **Autres manifestations cliniques**

Du fait de la grande répartition cellulaire de la protéine CFTR, d'autres organes peuvent être touchés lors de la mucoviscidose.

2.1.4.3.1 ***Glandes sudoripares***

Le dysfonctionnement de la protéine CFTR entraîne le maintien d'une sécrétion de sueur riche en chlorure de sodium et en eau. En effet, le gradient électrochimique au niveau de ces cellules est inversé par rapport aux cellules bronchiques, ce qui rend possible la réalisation du test à la sueur. Il faut être très vigilant en cas de fortes chaleurs, car cette perte de sel peut entraîner une déshydratation aiguë pouvant avoir de graves conséquences (HAS, 2009).

2.1.4.3.2 *Atteinte de l'appareil génital*

98% des hommes atteints de mucoviscidose sont stériles du fait d'une absence bilatérale de canaux déférents. Les femmes peuvent être également atteintes de stérilité à cause d'un épaissement de la glaire cervicale (HAS, 2009).

2.1.4.3.3 *Atteintes cardiaques*

La protéine CFTR étant présente sur les myocytes, l'atteinte cardiaque peut se traduire par des myopathies. Le plus fréquemment, il s'agit d'une hypertension artérielle pulmonaire secondaire à l'insuffisance respiratoire (HAS, 2009).

2.1.4.3.4 *Atteintes ostéoarticulaires*

Une ostéoporose, due à une minéralisation osseuse insuffisante et des arthropathies sont observées chez ces patients, notamment chez les adolescents et les adultes (HAS, 2009).

2.1.4.3.5 *Atteintes ORL*

Une sinusite maxillaire est souvent observée, ainsi qu'une polypose nasale fréquente : 20% des enfants de plus de 5 ans (HAS, 2009).

2.1.5 Prise en charge thérapeutique

La prise en charge thérapeutique de la mucoviscidose est complexe étant donnée la grande diversité de l'atteinte clinique. Il n'y a malheureusement à ce jour aucun traitement curatif établi. On ne peut que retarder l'évolution de la maladie et améliorer la qualité de vie du patient.

2.1.5.1 Prise en charge des manifestations pulmonaires

La kinésithérapie respiratoire est un traitement essentiel de la mucoviscidose. Elle est instaurée très tôt dans le processus de prise en charge du patient. En effet, elle permet de relayer le système mucociliaire et de désencombrer les poumons des sécrétions visqueuses qui s'y accumulent. Le rythme des séances de kinésithérapie dépend de l'âge et de l'état clinique du patient : elle varie de deux fois par semaine à une à trois séances quotidiennes (HAS, 2009).

La rh-DNase recombinante humaine (ou Pulmozyme®) est un fluidifiant spécifique du traitement de la mucoviscidose. En effet, elle diminue la viscosité des sécrétions et réduit l'encombrement bronchique. Elle est réservée aux patients de plus de 5 ans (HAS, 2009). Son utilisation se fait par nébulisation de façon quotidienne.

Les antibiotiques sont très souvent utilisés lors de poussées infectieuses bronchiques. Trois germes sont généralement responsables : *Pseudomonas aeruginosa* non mucoïde ou mucoïde, *Staphylococcus aureus* Méti-R ou Méti-S et *Haemophilus influenzae*.

Le choix de l'antibiothérapie et sa voie d'administration dépend du germe et de l'antibiogramme mais aussi du stade de la maladie et du stade de l'infection (primoinfection, surinfection, colonisation). En effet, pour *Staphylococcus aureus* et *Haemophilus influenzae*, une monothérapie par voie orale suffit généralement. On peut utiliser la voie parentérale dans les formes sévères d'exacerbation. Les infections par *Pseudomonas aeruginosa* sont traitées plutôt par voie intraveineuse et/ou inhalée avec pour objectif d'obtenir de fortes concentrations (Hubert *et Coll*, 2003 ; HAS, 2009).

Les bronchodilatateurs inhalés de courte ou longue durée d'action sont également sollicités. Ce sont généralement des bêta-2-mimétiques.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les corticoïdes par voie orale ou inhalés et l'azithromycine ont tous les trois une action anti-inflammatoire qui peut être recherchée dans certains cas (HAS, 2009).

En cas d'insuffisance respiratoire chronique, l'oxygénothérapie et la ventilation non invasive sont nécessaires (Hubert *et Coll*, 2003).

La transplantation pulmonaire est le seul recours en cas d'atteinte respiratoire terminale. Elle se discute lorsque le Volume Expiré Maximal par Seconde (VEMS) est inférieur à 30% de la valeur théorique et en présence d'autres signes comme une hypoxie avec hypercapnie, une antibiodépendance, une antibiorésistance croissante (HAS, 2009).

2.1.5.2 Prise en charge des manifestations digestives

La prise en charge nutritionnelle est indispensable chez les patients atteints de mucoviscidose. En effet, ils doivent être soumis à un régime hypercalorique, hyperprotidique et normolipidique (Hubert *et Coll*, 2003). Des compléments en vitamines liposolubles A, D, E, K et en oligo-éléments comme le fer, zinc, sélénium, magnésium peuvent être administrés si les taux biologiques sont faibles. Il est également important de conserver une bonne hydratation à base de sodium et d'eau, surtout en été ou lors d'un effort physique (HAS, 2009).

Le traitement de l'insuffisance pancréatique exocrine repose sur la prescription d'extraits pancréatiques gastro-résistants (Créon®, Eurobiol®). Ils permettent d'augmenter l'apport en graisses et nutriments, et donc en calories et de mieux couvrir les besoins énergétiques (Turck *et Coll*, 2003 ; HAS, 2009). Le diabète doit être traité par insulinothérapie.

En cas d'atteinte hépatique, l'acide ursodésoxycholique (Delursan®, Ursolvan®) semble ralentir l'évolution vers la cirrhose (Hubert *et Coll*, 2003).

En cas de dégradation des paramètres nutritionnels, des compléments alimentaires oraux sont utilisés en première intention suivis par une nutrition entérale par sonde nasogastrique ou par gastrostomie en cas d'aggravation (HAS, 2009).

2.1.5.3 Autres traitements

La mucoviscidose nécessite une prise en charge multidisciplinaire qui a été facilitée par la création de centres de soin spécifiques dédiés à cette maladie.

2.1.5.4 Nouvelles thérapeutiques

Les recherches pharmaceutiques sont nombreuses dans le but d'améliorer la prise en charge de la mucoviscidose.

Un nouvel agent muco-régulateur à base de mannitol est en phase d'étude. Il permet l'augmentation de l'hydratation du mucus et améliore ainsi la clairance mucociliaire. Sa formulation en microsphères creuses lui permet de pénétrer dans les petites voies aériennes plus facilement que les médicaments nébulisés. Les études de phase II ont montré une amélioration significative de 7,5 % de la fonction respiratoire en trois mois de traitement (Sermet-Gaudelus *et Coll*, 2011).

Des études menées sur des molécules influençant l'activité des transporteurs ioniques au niveau de la membrane apicale des cellules bronchiques donnent des résultats encourageants. Le Duramycin®, un peptide polycyclique, majore le transport d'ions chlorure. Les études de phase II ont fait la preuve de son efficacité sur la fonction respiratoire dès quatre semaines de traitement (Sermet-Gaudelus *et Coll*, 2011).

D'autres études visent à diminuer l'absorption excessive de sodium par les cellules au niveau respiratoire qui a un rôle délétère dans la maladie. L'amiloride en est le prototype mais n'a qu'une efficacité transitoire. P-680, développé par Parion Sciences-Gilead, semble être plus prometteur et est actuellement en phase I (Sermet-Gaudelus *et Coll*, 2011).

La thérapie protéique agissant sur l'origine moléculaire de la maladie est une voie thérapeutique en cours d'étude.

2.1.6 Evolution et pronostic

Grâce à la meilleure compréhension de la maladie et aux améliorations du diagnostic et du dépistage, la survie des patients s'est considérablement améliorée depuis les années 60. En effet, alors que la majorité des patients mouraient avant 5 ans en 1960, la vie médiane actuelle dépasse 35 ans et l'espérance de vie 40 ans⁶.

La Cystic Fibrosis Foundation aux Etats-Unis a établi l'évolution à travers les années de la survie des patients atteints de mucoviscidose.

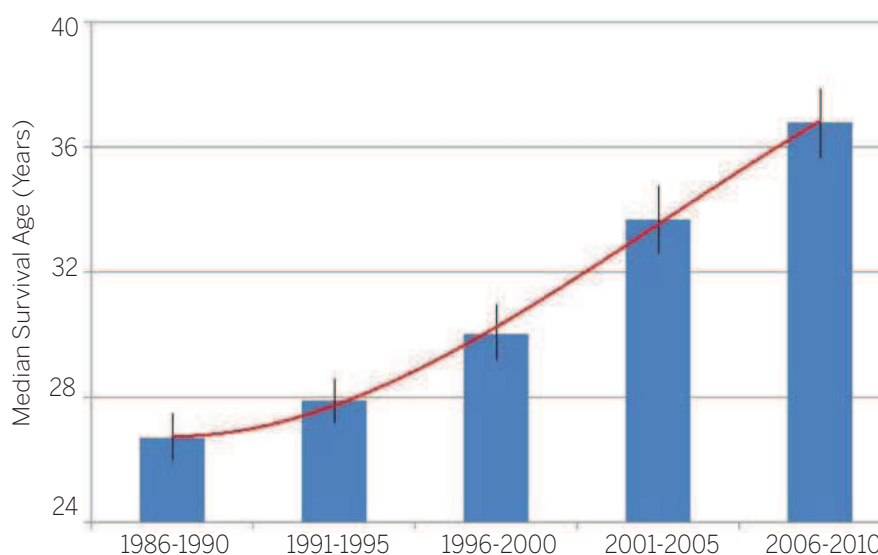


Figure 8 : Evolution de l'âge médian de survie des patients mucoviscidosiques aux Etats-Unis entre 1986 et 2010⁷

Le pronostic vital est lié aux complications associées à la mucoviscidose : diabète, cirrhose, infections respiratoires bactériennes, fongiques et insuffisance respiratoire.

⁶ Site Orphanet : www.orpha.net/static/FR/mucoviscidose.html (article de Gabriel Bellon).

⁷ Site de la Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry : <http://www.cff.org/UploadedFiles/LivingWithCF/CareCenterNetwork/PatientRegistry/2010-Patient-Registry-Report.pdf>

De plus, le nombre de patients transplantés augmente depuis 1998⁸, donnant ainsi un espoir pour le devenir du malade.

Le Registre Français de la Mucoviscidose a fait le bilan de cette évolution :

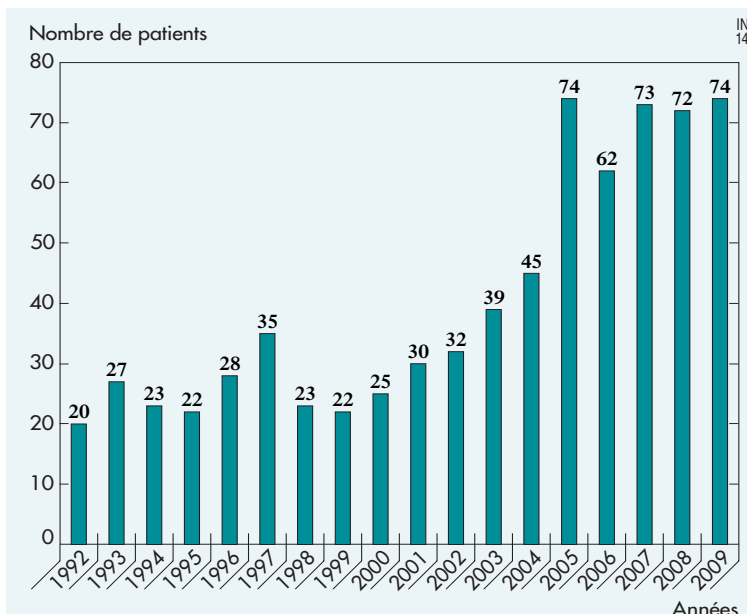


Figure 9: Evolution du nombre de patients transplantés depuis 1992⁹

Malgré tout, la mucoviscidose reste une maladie incurable grave qui suscite encore beaucoup d'interrogations et fait l'objet de nombreuses recherches. Les champignons et les bactéries tiennent une place importante au cœur de cette maladie et influent sur son évolution. C'est pourquoi nos connaissances les concernant sont régulièrement actualisées.

⁸ Bilan des données 2009, Registre Français de la Mucoviscidose
http://www.vaincrelamuco.org/e_upload/pdf/rapport_registre_2009.pdf

⁹ Bilan des données 2009, Registre Français de la Mucoviscidose
http://www.vaincrelamuco.org/e_upload/pdf/rapport_registre_2009.pdf

2.2 Importance des populations fongiques et bactériennes dans la mucoviscidose

2.2.1 Description et rôle pathogène de la colonisation fongique chez le patient atteint de mucoviscidose

Les infections respiratoires conditionnent la qualité de vie et le pronostic vital des patients atteints de mucoviscidose. On distingue deux types de colonisation différente : les champignons qui colonisent les bronches sans effet pathogène apparent pour le patient, et ceux qui exercent un pouvoir pathogène se traduisant par des manifestations cliniques, menant à des complications qui dégradent la fonction pulmonaire (**figure 9**). L'espèce dominante de la colonisation fongique est *Aspergillus fumigatus* redoutée pour ses complications cliniques. D'autres espèces fongiques ont également un rôle pathogène croissant comme *Scedosporium apiospermum*, *Exophiala dermatitidis*, *Aspergillus terreus* (Lipuma, 2010 ; Cimon *et Coll*, 2007) qui, comme *Aspergillus fumigatus*, sont des champignons filamenteux.

Candida albicans, la levure la plus fréquente dans les expectorations des patients atteints de mucoviscidose, ne s'accompagne pas de manifestations cliniques chez les patients non greffés (Cimon *et Coll*, 2007).

Certaines espèces fongiques ont été identifiées comme colonisant les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose, mais leur rôle pathogène n'est pas clairement identifié. C'est pourquoi de nombreuses recherches tentent d'élucider leurs conséquences sur la dégradation de la fonction respiratoire.

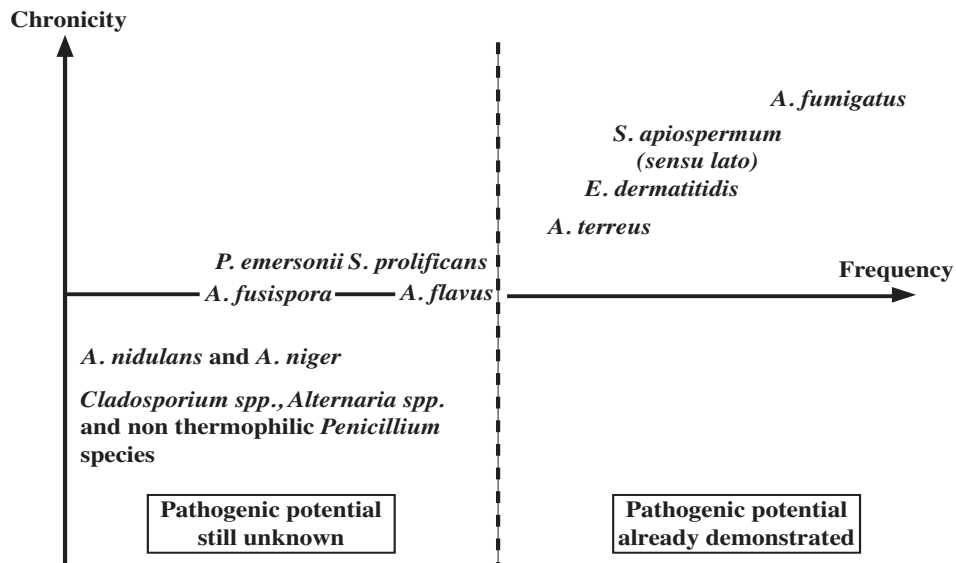


Figure 10 : Champignons filamenteux associés à la mucoviscidose classés selon leur fréquence et leur capacité à coloniser chroniquement les voies respiratoires (Pihet *et Coll*, 2009)

2.2.1.1 Les champignons filamenteux

2.2.1.1.1 *Aspergillus* sp.

➤ Habitat et caractéristiques

Parmi les 185 espèces d'*Aspergillus* répertoriées, seulement une vingtaine d'entre elles sont pathogènes pour l'Homme (Krishnan *et Coll*, 2009). Les plus souvent isolées sont *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus* du fait de leur virulence, de leur thermorésistance et de la dimension de leurs spores (Germaud *et Coll*, 2005).

Les *Aspergillus* sont des champignons filamenteux ubiquistes présents aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain, à l'intérieur ou à l'extérieur des habitations. On les retrouve également dans l'eau, le sol, les endroits humides, les déjections aviaires. Ils se comportent comme des pathogènes opportunistes de l'Homme.

En France, *Aspergillus* est la première étiologie des mycoses respiratoires (Germaud et Coll, 2005). Il est le plus fréquent des champignons filamenteux colonisant les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose. 46% des patients présentent à un moment donné une colonisation bronchique par *A. fumigatus* (Cimon et Coll, 2007). L'infection par ce champignon touche rarement les jeunes enfants et sa prévalence augmente avec l'âge. En effet, l'âge moyen d'apparition d'*A. fumigatus* se situe entre 12,3 ans et 14,1 ans (Cimon et Coll, 2007 ; Lipuma, 2010).

Sa forte capacité de sporulation explique la concentration très élevée de spores, ou conidies, dans l'environnement. En outre ces spores résistent à des températures de 15°C à 53°C (Le Bourgeois et Coll, 2011) ce qui permet leur acheminement jusqu'aux alvéoles pulmonaires (Cruyppenninck, 2010).

➤ Contamination

Les conidies par leur petite taille (2 à 3,5 µm de diamètre) sont constamment inhalées provoquant des conséquences graves chez les immunodéprimés (Latgé et Coll, 2001 ; Le Bourgeois et Coll, 2011). En effet, la contamination par *Aspergillus* se fait principalement par voie aérienne, plus rarement digestive : thé, poivre, fruits, ou cutanée par dépôt de spores sur la peau lésée via des pansements adhésifs souillés par exemple (Germaud et Coll, 2005 ; Poirier, 2008). Des altérations tissulaires préalables, notamment des lésions épithéliales, ainsi que des infections bactériennes sont nécessaires à l'implantation des champignons dans le tractus respiratoire.

➤ Pouvoir pathogène

A. fumigatus est responsable en grande majorité de la pathologie aspergillaire rencontrée dans la mucoviscidose (Cimon et Coll, 2007). L'inhalation des spores provoque de nombreuses conséquences sur les voies respiratoires du patient atteint de mucoviscidose, comme des réactions d'hypersensibilité de type I immédiate régie par la production d'immunoglobulines E, III semi-retardée ou IV retardée. Normalement, les spores inhalées

sont éliminées par l'action du tapis mucociliaire, ainsi que par les macrophages, les polynucléaires neutrophiles et les monocytes. Cependant, à cause de facteurs locaux bronchopulmonaires favorisant ou d'un déficit immunitaire, les spores peuvent se développer dans l'appareil respiratoire sous forme filamenteuse (Germaud *et Coll*, 2005).

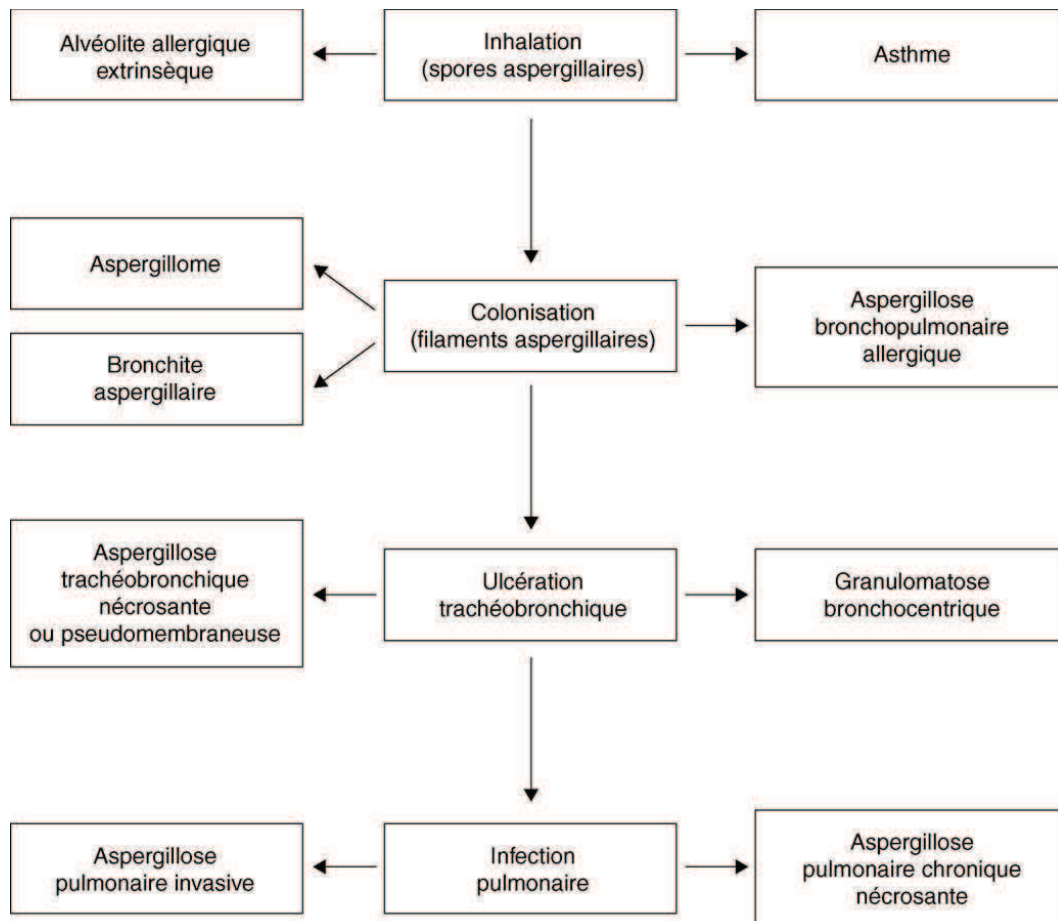


Figure 11 : Différentes formes cliniques des aspergilloses bronchopulmonaires (Germaud *et Coll*, 2005).

Les *Aspergillus* sont responsables de quatre grandes pathologies :

- *Aspergillose bronchopulmonaire allergique : ABPA*

C'est la pathologie fongique la plus commune et la plus anciennement connue dans la mucoviscidose (Cimon *et Coll*, 2007). Elle touche 2 à 25% des patients et sa prévalence s'élève à 7,8% en France. Etant donné que l'ABPA touche essentiellement les asthmatiques

et les mucoviscidosiques, le rôle de facteurs génétiques n'est pas à exclure (Le Bourgeois et Coll, 2011). *A. fumigatus* est l'espèce la plus fréquemment mise en cause pour cette pathologie (Couturaud et Coll, 2004).

L'ABPA est due à une colonisation bronchique par *Aspergillus*, favorisée par les anomalies de la clairance mucociliaire. Elle provoque par la suite des réactions d'hypersensibilité de type I immédiate induisant la libération d'IgE, puis III semi-retardée avec libération d'anticorps précipitants anti-aspergillaire : IgG (Poirier, 2008). Elle s'accompagne également d'un syndrome inflammatoire responsable de séquelles comme des bronchectasies (dilatation des bronches) ou une fibrose (Germaud et Coll, 2005).

L'ABPA se traduit principalement par des exacerbations récurrentes d'asthme corticorésistant, de la toux, des douleurs thoraciques, des crachats purulents, des hémoptysies. Il peut y avoir également présence de fièvre, anorexie, céphalées, malaise (Cruyppenninck, 2010).

L'évolution se fait par poussées d'exacerbation (Germaud et Coll, 2005). Son aggravation est codifiée en cinq stades :

	Biologie	Rx
I Aigu	Ig E totales très augmentées ± éosinophilie sanguine	Infiltrats pulmonaires (LS et LM)
II Rémission	Ig E totales normales ou augmentées	Pas d'infiltrats sans corticoïdes oraux depuis > 6 mois
III Exacerbation	Ig E totales très augmentées ± éosinophilie sanguine	Infiltrats pulmonaires (LS et LM)
IV Asthme corticodépendant	Ig E totales normales ou augmentées	Avec ou sans infiltrats
V Fibrose	Ig E totales normales	Fibrose, bronchectasies,

Figure 12 : Classification des stades d'ABPA (Le Bourgeois et Coll, 2011).

Le diagnostic repose sur le test cutané immédiat, des IgE à *Aspergillus* positives, des IgE totales et des précipitines anti-aspergillaires augmentées. D'autres paramètres inconstants peuvent être mis en évidence lors d'une exacerbation : une présence d'IgG anti-aspergillaires détectée par ELISA, une hyperéosinophilie sanguine, l'isolement d'*Aspergillus* dans l'expectoration (Germaud *et Coll*, 2005).

Le meilleur traitement reste la corticothérapie par voie orale associée à un traitement antifongique : itraconazole (Sporanox®), voriconazole (Vfend®) ou posaconazole (Noxafil®) en cas de résistance, qui permettrait un sevrage plus rapide et diminuerait les rechutes à l'arrêt du traitement (Cimon *et Coll*, 2007 ; Le Bourgeois *et Coll*, 2011).

- *Aspergillose pulmonaire chronique nécrosante*

Egalement appelée aspergillose pulmonaire semi-invasive, elle évolue insidieusement sur plusieurs mois. Les filaments fongiques envahissent le parenchyme et provoquent des plages de nécrose et une inflammation chronique. Il apparaît cliniquement une toux productive, de la fièvre et une altération de l'état général.

Le diagnostic se révèle positif sur examen d'une biopsie pulmonaire ou mise en évidence de la présence d'*Aspergillus* dans l'expectoration ou dans le lavage bronchoalvéolaire. La sérologie aspergillaire est souvent positive (Germaud *et Coll*, 2005 ; Couturaud *et Coll*, 2004).

- *Bronchite aspergillaire*

La bronchite aspergillaire n'est pas fréquente. Elle associe un tableau de surinfection bronchique à des sibilances, une hyperthermie, une dyspnée, des douleurs thoraciques, des hémoptysies, des expectorations. Elle peut être asthmatiforme dans certains cas.

La sérologie, le dosage des IgE et le taux d'éosinophiles sanguins sont normaux (Germaud *et Coll*, 2005 ; Couturaud *et Coll*, 2004).

- Aspergillose pulmonaire invasive : API

C'est une complication infectieuse majeure de l'immunodéprimé, responsable d'une mortalité supérieure à 50% (Germaud *et Coll*, 2005). Elle est redoutée particulièrement chez les patients neutropéniques, les patients greffés à cause des traitements immunosuppresseurs, les patients porteurs du VIH. Les spores aspergillaires inhalées se développent au niveau bronchique sous forme filamenteuse. Ces filaments sont responsables d'une nécrose bronchique et de l'envahissement du parenchyme de l'artère pulmonaire. Ils vont entraîner une thrombose artérielle et un infarctus pulmonaire puis ils se propagent vers d'autres organes tels que la peau, les os, le cerveau, le cœur (Germaud *et Coll*, 2005).

La sémiologie clinique se traduit par des douleurs thoraciques, une fièvre résistante aux antibiotiques, une dyspnée et des hémoptysies.

La biopsie pulmonaire permet un diagnostic de certitude mais n'est réalisée que rarement chez ces patients à hauts risques. Le diagnostic porte donc sur la tomodensitométrie qui met en évidence le « signe du halo » précoce, et le signe du « croissant gazeux » quinze jours plus tard (Germaud *et Coll*, 2005). Au niveau biologique, la détection d'une antigénémie aspergillaire est un argument diagnostique important.

Bien que moins fréquemment impliqué, *A. terreus* semble cependant être un pathogène important dans le cadre de la mucoviscidose. En effet, il est souvent responsable d'une colonisation chronique chez ces patients (Pihet *et Coll*, 2009). Sa fréquence est estimée à 6,2% par Cimon *et Coll* (Cimon *et Coll*, 2007). Il serait impliqué dans les ABPA¹⁰ ainsi que dans des cas d'aspergillose pulmonaire invasive (Poirier, 2008 ; Pihet *et Coll*, 2009).

¹⁰ isolé conjointement avec *A. fumigatus*

A. flavus, très présent également dans la nature, s'avère être un redoutable pathogène chez les immunodéprimés. En effet, cette espèce filamenteuse serait à l'origine de 10% des infections bronchopulmonaires, notamment dans les aspergilloses pulmonaires invasives (Krishnan *et Coll*, 2009).

2.2.1.1.2 *Scedosporium sp.*

➤ Habitat et caractéristiques

Cinq espèces constituent le genre *Scedosporium* : *S. apiospermum*, *Pseudoallescheria boydii*, *S. prolificans*, *S. aurantiacum*, *S. dehoogii*. Seuls *S. apiospermum*/*P. boydii* et *S. prolificans* ont été décrits comme pathogènes opportunistes des hôtes immunodéprimés et chez les patients atteints de mucoviscidose. Cependant, dans une étude australienne récente, *S. aurantiacum* a été identifié comme un pathogène important, ayant une fréquence élevée parmi les patients dans ce pays (Blyth *et Coll*, 2010b).

S. apiospermum est identifié comme le champignon filamenteux le plus fréquent chez les mucoviscidosiques après *A. fumigatus* (Lipuma, 2010) auquel il est lié. En effet, *S. apiospermum* est isolé dans les sécrétions respiratoires en même temps que *A. fumigatus*, ou après la colonisation par celui-ci (Pihet *et Coll*, 2009). Sa prévalence serait estimée entre 8 et 10% (Cimon *et Coll*, 2007). En outre, *S. apiospermum* ne touche pas les jeunes enfants. D'après une étude menée par Cimon *et Coll* en 2000, l'âge moyen de l'isolement de ce champignon est de 14,5 ans.

Ce sont des champignons filamenteux saprophytes se développant dans la nature, notamment les sols, l'eau, les fumiers. Les plantes en pot sont également prisées par ce champignon. Elles constituent par conséquent un facteur de risque important pour les patients atteints de mucoviscidose (Pihet *et Coll*, 2009).

➤ Contamination

La contamination par *Scedosporium* se fait par inhalation respiratoire de spores ou suite à une effraction cutanée. L'agranulocytose et la corticothérapie au long cours constituent des facteurs de risque principaux (Poirier, 2008). De plus, il semblerait que l'existence d'altérations préalables du tractus respiratoire chez le patient facilite la colonisation par *S. apiospermum* (Cimon et Coll, 2000).

➤ Pouvoir pathogène

Les espèces du genre *Scedosporium* sont résistantes à de nombreux antifongiques, ce qui entraîne une contre-indication relative à la transplantation s'il y a colonisation par ce champignon (Blyth et Coll, 2010a). *S. apiospermum* contribue sans aucun doute à la réaction inflammatoire et à la dégradation progressive de la fonction pulmonaire (Pihet et Coll, 2009). *S. apiospermum*, notamment impliqué dans des cas de mycétome (tumeur inflammatoire) en dehors de la mucoviscidose, a toutefois été impliqué dans quelques cas de mycoses broncho-pulmonaires allergiques. Le tableau clinique est semblable à celui de l'ABPA, à la différence suivante : *S. apiospermum* est l'agent fongique isolé dans les sécrétions bronchiques et la sérologie est fortement positive avec mise en évidence de précipitines sériques anti-*S. apiospermum* (Cimon et Coll, 2007). De plus, il a été évoqué que les patients colonisés par ce champignon auraient un risque significativement plus élevé d'être victime d'une ABPA (Paugam et Coll, 2010).

S. apiospermum peut être responsable de mycoses cérébrales ou disséminées chez les patients immunodéprimés (Pihet et Coll, 2009).

Des cas de scédosporioses systémiques souvent mortelles, avec atteintes pulmonaires et neurologiques ont été rapportées chez les patients greffés. La colonisation par les *Scedosporium* semble être un facteur de risque aux pathologies invasives après transplantation, provoquant une forte mortalité (Blyth et Coll, 2010a). Il a été proposé par conséquent d'instaurer avant transplantation un traitement antifongique afin de prévenir la survenue d'une scédosporiose invasive après greffe (Cimon et Coll, 2007).

S. prolificans peut être également responsable d'infections profondes dans la période post-greffe. En dehors de ce contexte, il est responsable dans la mucoviscidose de la colonisation des voies respiratoires, généralement transitoire et asymptomatique (Cimon *et Coll*, 2007).

2.2.1.1.3 **Autres champignons filamenteux**

➤ *Exophilia dermatitidis*

Ce champignon filamenteux saprophyte, présent dans la nature, peut survivre des mois dans un environnement chaud et humide, par exemple les saunas, les salles de bain, ce qui explique sa forte présence en Suède par exemple (Lipuma, 2010 ; Lebecque *et Coll*, 2010, Kondori *et Coll*, 2011).

Son taux d'isolement varie de 1,8 à 15,7% selon les études dans le cadre de la mucoviscidose (Poirier, 2008).

Ce champignon est à l'origine de mycoses sous-cutanées post-traumatiques et de quelques cas d'atteintes viscérales, pulmonaires et neurologiques (Cimon *et Coll*, 2007). Dans le cadre de la mucoviscidose, il est capable de coloniser les voies respiratoires et d'induire une réponse sérologique spécifique (Lebecque *et Coll*, 2010). Cette colonisation est transitoire ou chronique et peut provoquer des infections respiratoires ou des infections fongiques invasives (Pihet *et Coll*, 2009 ; Bouchara *et Coll*, 2009).

La colonisation par *A. fumigatus* et le génotype dF508/dF508 semblent être des facteurs de prédisposition (Lebecque *et Coll*, 2010). D'après leur étude parue en 2011, Kondori *et Coll* démontrent que *E. dermatitidis* est significativement associé à l'insuffisance pancréatique ($p=0,01$) et confirment son association avec *A. fumigatus*.

➤ *Acrophialophora fusipora*

C'est un champignon thermorésistant, présent dans le sol. Seulement huit cas ont été reportés : trois cas de kératites, trois cas d'infections pulmonaires, un cas d'abcès cérébral, un cas unique chez un patient espagnol atteint de mucoviscidose. La colonisation chez celui-ci était transitoire. Cependant ces dernières années, quelques cas ont été décrits en France. La détection de ce champignon dans les sécrétions respiratoires a suivi la colonisation par *A. fumigatus*. Mais durant cette colonisation, aucun signe clinique d'infection bronchopulmonaire ne fut relevé.

La prévalence de ce champignon est donc très faible. Néanmoins elle est peut être sous estimée compte tenu du manque de connaissance (Pihet *et Coll*, 2009).

➤ *Penicillium sp.*

Les *Penicillium* sont des champignons saprophytes à l'origine de la dégradation des denrées alimentaires. Ils sont présents en abondance dans le sol et l'air, aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur (Poirier, 2008). Dans le cadre de la mucoviscidose, *Penicillium emersonii*/*Geosmithia argillacea* serait susceptible de pouvoir coloniser de façon chronique les voies respiratoires des patients. Il a été décrit pour la première fois en 1999 par Cimon *et Coll*.

➤ *Geosmithia argillacea*

G. argillacea est parfois considéré comme un pathogène émergent de la mucoviscidose. Il a été confondu dans beaucoup d'études avec *Penicillium emersonii* auquel il ressemble très fortement. La colonisation chronique par ce champignon succéderait à des infections par diverses bactéries comme *Staphylococcus aureus*. En effet, des lésions épithéliales bronchiques dues à la colonisation chronique par les bactéries seraient nécessaires à l'implantation de ce champignon filamenteux dans les voies respiratoires. Il est thermophile, ce qui explique son habilité à s'installer facilement dans les bronches (Giraud *et Coll*, 2010).

Depuis 1999, 17 cas de colonisation par *G. argillacea* ont été rapportés. Actuellement, il ne semble pas que la colonisation fongique par cette espèce soit associée à une exacerbation de la maladie. Cependant, étant donné les propriétés thermophiles de ce champignon, il pourrait être candidat pour provoquer des pathologies invasives chez les immunodéprimés notamment après transplantation pulmonaire, comme précédemment rapporté pour *S. apiospermum* (Giraud et Coll, 2010).

2.2.1.2 Les levures

2.2.1.2.1 *Candida* sp.

Le genre *Candida* regroupe de nombreuses espèces. Les plus communes sont *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* et *C. tropicalis*.

Les *Candida* sont des espèces fongiques saprophytes de la peau et des muqueuses chez l'Homme, mais également du sol et des végétaux. *C. albicans* est une levure commensale des cavités naturelles. Dans la mucoviscidose, la colonisation de l'arbre bronchique se fait par voie endogène lors de conditions locales favorisantes (Poirier, 2008).

C. albicans est isolé à des fréquences variant de 56 à 75% selon les études et représente l'espèce majoritaire dans les expectorations des patients atteints de mucoviscidose (Cimon et Coll, 2007). Malgré cette forte colonisation, on observe très rarement des infections candidosiques chez ces patients. Cela s'expliquerait par l'activité antifongique de certaines bactéries colonisant les voies respiratoires (Chotirmall et Coll, 2010). Ces infections sont dues le plus souvent à *C. albicans* et se développent sous forme d'infections systémiques sévères, particulièrement en période post-greffe (Cimon et Coll, 2007). Certains chercheurs émettent l'hypothèse que la présence de *C. albicans* dans l'expectoration est associée à une gravité globale plus importante, même si les différences observées en terme d'atteinte respiratoire restent non significatives (Grunderbeeck et Coll, 2010).

De plus, le risque d'une colonisation par *Candida* augmente à cause de l'usage des corticoïdes inhalés, d'antibiotiques au long cours et d'un diabète (Chotirmall et Coll, 2010 ;

Cimon *et Coll*, 2007). *Pseudomonas aeruginosa* serait également associé à la présence de *C. albicans* (Chotirmall *et Coll*, 2010 ; Whittaker Leclair *et Coll*, 2010).

Candida dubliniensis, dont la prévalence chez les patients mucoviscidosiques peut atteindre 11,1% a également été décrit comme responsable d'infection profonde fatale chez un patient après greffe bipulmonaire (Cimon *et Coll*, 2007).

2.2.1.2.2 **Autres levures**

Certaines levures du genre *Trichoderma* ou *Saccharomyces cerevisiae* sont également présentes dans les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose. Leur pouvoir pathogène dans cette maladie n'a pas été démontré à ce jour.

2.2.2 Description et rôle pathogène des bactéries chez le patient atteint de mucoviscidose

La colonisation des voies aériennes par les bactéries occupe une place importante dans cette pathologie et contribue à la dégradation de la fonction pulmonaire. Les deux germes les plus fréquemment isolés sont *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ce dernier signe une aggravation de la maladie. Cependant, d'autres bactéries ont également un rôle dans cette colonisation comme *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia* ou plus rarement *Burkholderia cepacia*.

Le Registre Français de la Mucoviscidose a établi un graphique permettant de corréler l'âge et la colonisation bactérienne :

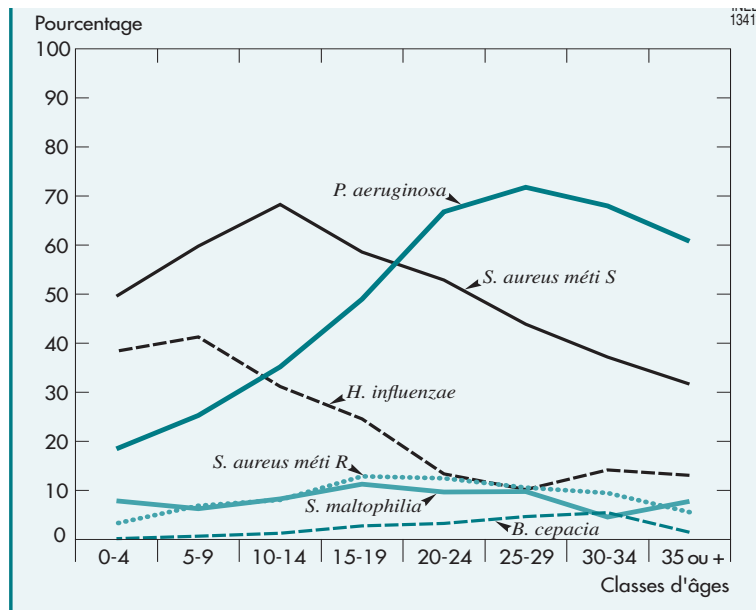


Figure 13 : Bactéries cliniquement importantes dans la mucoviscidose selon l'âge en 2009¹¹

On remarque que *H. influenzae* touche principalement les enfants en bas âge jusqu'à 9-10 ans, mais que son impact sur les tranches d'âges supérieures diminue. 49,6% des petits enfants sont colonisés par *S. aureus* sensible à la méthicilline. D'après le RFM, la population de ces deux germes en 2005 était respectivement de 50,5% et 57,7%. Les pics de fréquence de ces deux germes sont isolés chez les enfants, alors qu'on observe une diminution de la colonisation bactérienne par ceux-ci chez les adultes. *P. aeruginosa* présent chez 18,5% des patients âgés de 0 à 4 ans, atteint son pic de fréquence chez les malades entre 25 et 29 ans : 71,8%. Enfin on peut noter que la proportion de *S. aureus* résistant à la méthicilline présent chez 3,3% des enfants de 0 à 4 ans atteint 12,9% chez les 15-19 ans, puis diminue légèrement par la suite.

En outre, le RFM a mis en évidence l'évolution de la colonisation bactérienne entre 1999 et 2009 en comparant la présence des germes à ces deux époques.

¹¹ Bilan des données 2009, Registre Français de la Mucoviscidose
http://www.vaincrelamuco.org/e_upload/pdf/rapport_registre_2009.pdf

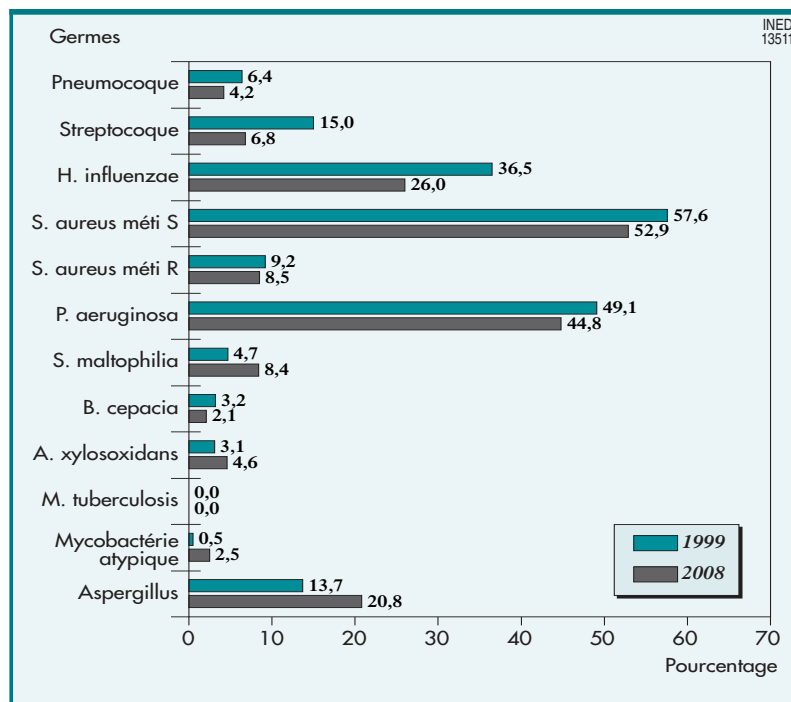


Figure 14 : Population de bactéries isolées en 2009 comparée à celles isolées en 1999¹²

On remarque une baisse importante des *Streptocoques* et de *H. influenzae*. Quelques autres espèces sont également en baisse comme *S. aureus méti-R* et *méti-S*, *P. aeruginosa*, *B. cepacia*. Au contraire, on distingue une hausse des pathogènes tels que *S. maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* et les mycobactéries atypiques. On peut expliquer cette augmentation par le fait que les bactéries sont plus recherchées aujourd'hui qu'il y'a dix ans.

2.2.2.1 Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa est la bactérie la plus fréquente impliquée dans les infections des voies respiratoires dans la mucoviscidose. La diversité phénotypique des souches de *P. aeruginosa* est très importante et mal connue à ce jour. Par contre, l'impact délétère de la colonisation chronique par cette bactérie sur la fonction pulmonaire est reconnue. C'est en effet un tournant dans la maladie en accélérant la dégradation des poumons. Sa progression est pratiquement inéluctable puisque plus de 95% des patients en phase terminale sont

¹² Bilan des données 2009, Registre Français de la Mucoviscidose
http://www.vaincrelamuco.org/e_upload/pdf/rapport_registre_2009.pdf

contaminés par *P.aeruginosa* (Munck *et Coll*, 2003). On notera cependant, comme le montre le graphique précédent, que la prévalence des infections à *P. aeruginosa* semble diminuer au cours des années.

Cette bactérie se développe sous forme de microcolonies entourées d'exopolysaccharides, également appelés alginates, ce qui forme une matrice unissant les bactéries entre elles et aux autres structures. Certaines souches produisent assez d'alginates pour être dites « mucoïdes » (Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003). La primo-infection se fait principalement par voie aérienne à partir de l'environnement des patients, particulièrement les surfaces humides. Ce sont des souches non mucoïdes généralement sensibles aux antibiotiques. Pendant cette période, il est encore possible de parvenir à une éradication plus ou moins transitoire, se comptant en mois ou en années. Le traitement intensif précoce par les antibiotiques semble retarder la survenue d'une infection chronique (Munck *et Coll*, 2003).

L'existence de trois examens cytobactériologiques des crachats successifs à un mois d'intervalle isolant *P. aeruginosa* définit le passage à la chronicité. Ce sont alors des souches mucoïdes qui colonisent les voies aériennes (Munck *et Coll*, 2003). Leur incidence augmente avec l'âge et l'évolutivité de la maladie (Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003). Elles sont associées à une dégradation de l'état clinique et de la fonction pulmonaire, ainsi qu'à un risque plus important de mortalité. L'infection par les souches mucoïdes est également associée à une augmentation de la réponse immunitaire chez l'hôte (Pedersen *et Coll*, 1992).

La production d'alginate peut alors atteindre trois fois la taille de la bactérie, contribuant ainsi à la viscosité des sécrétions bronchiques. De plus, l'alginate a un effet anti-phagocytaire sur les polynucléaires neutrophiles (Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003) et réalise un véritable écran à la réponse immunitaire et à la pénétration des antibiotiques (Cruyppenninck, 2010). La présence d'anticorps anti-pyocyaniques dans le serum authentifie le stade d'infection chronique qui se traduit par une dilatation des bronches aboutissant progressivement à l'insuffisance respiratoire (Lenoir *et Coll*, 2007). Les cures d'antibiotiques sont alors récurrentes : trois à quatre fois par an.

Pedersen *et Coll* ont mené une étude en 1992 afin de comparer les souches non mucoïdes et les souches mucoïdes. Ils suggèrent que les anticorps dirigés contre *P. aeruginosa* contribuent à la dégradation de la fonction pulmonaire. La réponse immunitaire causerait une inflammation qui serait à l'origine du dommage des tissus. Chez les patients atteints par les souches mucoïdes, la réponse immunitaire était plus importante, le VEMS et l'état nutritionnel plus diminués que chez les patients infectés par les souches non mucoïdes. Cette intense réponse immunitaire provoquée par l'infection mucoïde pourrait être due à la grande quantité d'alginate sécrétée par ces germes. De plus, tous les patients décédés étaient contaminés par *P. aeruginosa* mucoïde (Pedersen *et Coll*, 1992).

Malheureusement la bactérie développe une résistance, et avec le temps, réapparaît inéluctablement dans les sécrétions bronchiques (Munck *et Coll*, 2003). En effet, grâce à la faible perméabilité de sa membrane externe, à la production de bêta-lactamase et à sa capacité de mutation, ce germe peut devenir multirésistant (Lenoir *et Coll*, 2007). L'éradication de l'infection pulmonaire après ce stade est généralement impossible (Lipuma, 2010).

2.2.2.2 *Staphylococcus aureus*

Avec *P. aeruginosa*, *S. aureus* est la bactérie la plus répandue chez les patients atteints de mucoviscidose. Ces dernières années, la prévalence des *S. aureus méti-R* a augmenté. En 2001, d'après le Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry aux Etats-Unis, 7,3% des patients avaient des souches *S. aureus méti-R*. En 2008, le nombre de patients porteurs de ces souches s'est élevé à 22,6%. Cette prévalence touche tous les âges, particulièrement les adolescents de 11 à 17 ans (Lipuma, 2010).

Cette bactérie colonise fréquemment l'intérieur des narines. Environ 37% des enfants de 1 à 19 ans sont concernés. Elle est souvent sans conséquences pour l'hôte, mais constitue un réservoir important pour l'acquisition par les autres personnes (Lipuma, 2010). En revanche, il peut avoir des conséquences chez les patients subissant une lourde prise en charge et chez les immunodéprimés (Lipuma, 2010). Il adhère à l'épithélium respiratoire

grâce à certains constituants de sa paroi (acide teichoïque) et échappe aux défenses de l'organisme (Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003). Il participe à la dégradation pulmonaire et favorise l'adhésion de *P. aeruginosa* en démasquant des récepteurs épithéliaux (Munck *et Coll*, 2003). On observe souvent de ce fait une colonisation à *P. aeruginosa* postérieure à celle par *S. aureus*. Cependant, beaucoup de patients sont colonisés par les deux en même temps (Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003).

On dissocie les souches méti-R et les souches méti-S. En effet, *S. aureus* méti-R a un pouvoir pathogène plus important que *S. aureus* méti-S. Cela s'expliquerait par la production spécifique de toxines et de facteurs de virulence par la souche méti-R, qui aurait pour conséquence une augmentation de l'inflammation des voies respiratoires (Ren *et Coll*, 2007). Dans une étude américaine en 2007, les patients étant colonisés par des souches méti-R avaient un VEMS significativement diminué par rapport aux patients affectés par les souches méti-S (Ren *et Coll*, 2007).

Les souches de *S. aureus* sont habituellement sensibles à de nombreux antibiotiques comme les céphalosporines, cotrimoxazole, acide fusidique... (Lenoir *et Coll*, 2007). Cependant, la présence de *S. aureus* méti-R est associée à un usage plus important des antibiotiques (Ren *et Coll*, 2007). Dans les formes sévères et pour les souches résistantes à la méthycilline, on utilise des bithérapies orales (triméthoprime-macrolides, fucidine-rifampicine par exemple) ou par voie parentérale. Le traitement prophylactique avant la colonisation à *S. aureus* ne semble pas apporter de bénéfice clinique et favoriserait l'induction de résistances et la colonisation par *P. aeruginosa* (Lenoir *et Coll*, 2007).

2.2.2.3 Stenotrophomonas maltophilia

S. maltophilia faisait initialement partie du genre *Pseudomonas*. Puis il a été classé dans le genre *Xanthomonas*, et en 1993 dans celui des *Stenotrophomonas* (Lipuma, 2010). Ce dernier genre est constitué de quatre espèces mais seule *S. maltophilia* est connue pour engendrer des infections chez les humains. Elle est considérée comme émergent opportuniste dans la mucoviscidose. En effet, dans le cadre de cette pathologie, elle a été

isolée avec une fréquence croissante dans les voies respiratoires des patients ces dernières années. Les patients plus âgés seraient d'avantage colonisés par cette bactérie que les patients jeunes (Lenoir *et Coll*, 2007).

Ce germe vit dans l'environnement. On le retrouve dans particulièrement dans l'eau mais également dans les sols et les plantes. La contamination des patients serait essentiellement nosocomiale. Plusieurs facteurs de risque ont été identifiés : un état de santé précaire, un traitement médical incluant des catheters intra-vasculaires et des dispositifs de ventilation, de longs séjours hospitaliers, l'exposition à des antibiotiques à large spectre qui favorisent en plus l'émergence de bactéries multirésistantes. En outre, le risque augmente avec la durée de l'administration et le nombre d'antibiotiques donnés (Looney *et Coll*, 2009). Les corticoïdes par voie orale, l'utilisation de plusieurs antibiotiques et l'isolation d'*A. fumigatus* sont associés à l'isolation de *S. maltophilia* (Lipuma, 2010). *S. maltophilia* est capable de former un biofilm autour d'elle même ou avec d'autres espèces pathogènes, ce qui augmente sa résistance vis à vis des phagocytes et des antibiotiques (Looney *et Coll*, 2009).

Etant donné sa grande résistance face aux antibiotiques, il est difficile de traiter ce germe. Le cotrimoxazole, seul ou en association, reste le traitement de choix. En seconde intention, il est possible d'utiliser l'association acide clavulanique-ticarcilline (Looney *et Coll*, 2009). En revanche, la bactérie est résistante vis à vis des pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, quinolones, aminoglycosides, tétracycline (Looney *et Coll*, 2009) et résiste à des fortes concentrations de tobramycine (Lenoir *et Coll*, 2007).

2.2.2.4 Le complexe *Burkholderia cepacia*

B. cepacia fait également partie des pathogènes émergents de la mucoviscidose. La sévérité des infections provoquée par ce germe est variable selon les patients et les souches, allant du portage chronique à l'infection grave évoluant jusqu'au décès en quelques semaines ou mois (Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003). L'incidence actuellement semble inférieure à 2,5% de la population des patients en France (Lenoir *et Coll*, 2007).

On distingue dans le complexe *B. cepacia* neuf génomovars et 17 espèces. Ce terme désigne des souches phénotypiquement similaires mais génétiquement hétérogènes. C'est une notion importante car il permet de différencier le potentiel pathogène de chaque génomovar (Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003). Par exemple une colonisation par le génomovar III est associée à une détérioration rapide de la fonction pulmonaire (Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003).

B. gladioli a été mis en évidence dans une importante proportion d'infections au sein de la mucoviscidose. Cette espèce n'appartient pas au complexe *B. cepacia*.

B. multivorans et *B. cenocepacia* sont également largement impliqués dans les infections puisqu'ils représentent presque 70% d'entre elles (Lipuma, 2010).

Species	Former genomovar designation	Yr identified and/or named
<i>B. cepacia</i>	I	1950, 1997
<i>B. multivorans</i>	II	1997
<i>B. cenocepacia</i>	III	1997, 2003
<i>B. stabilis</i>	IV	1997, 2000
<i>B. vietnamiensis</i>	V	1995, 1997
<i>B. dolosa</i>	VI	2001, 2004
<i>B. ambifaria</i>	VII	2001
<i>B. anthina</i>	VIII	2002
<i>B. pyrrocinia</i>	IX	2002
<i>B. ubonensis</i>		2000, 2008
<i>B. latens</i>		2008
<i>B. diffusa</i>		2008
<i>B. arboris</i>		2008
<i>B. seminalis</i>		2008
<i>B. metallica</i>		2008
<i>B. contaminans</i>		2009
<i>B. lata</i>		2009

Figure 15 : Composition du complexe *B. cepacia* (Lipuma, 2010)

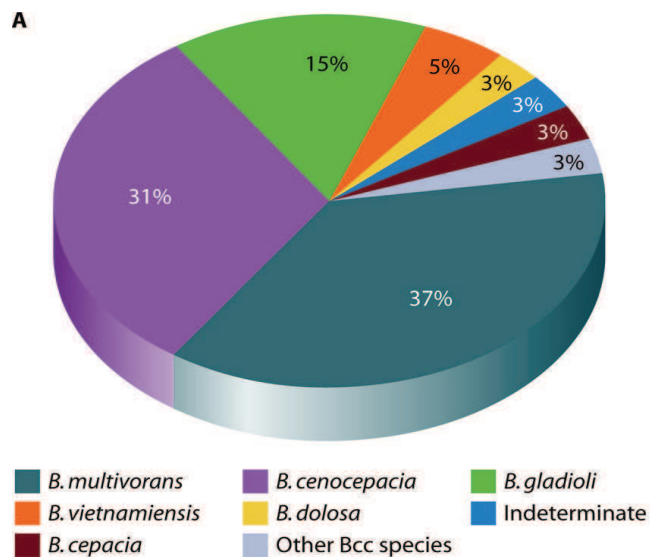


Figure 16 : Distribution des espèces de *Burkholderia* aux Etats-Unis (Lipuma, 2010)

Les espèces de ce complexe entraînent une détérioration rapide de la fonction respiratoire en passant par une pneumonie nécrosante, une bactériémie et une septicémie (Lipuma, 2010).

B. cepacia est résistant à de nombreux antibiotiques, tels que les aminosides, les carboxylpénicillines, la colistine (Colimycine®). La tazocilline, la ceftazidime, la ciprofloxacine sont actifs mais non bactéricides. Les associations d'antibiotiques sont donc intéressantes pour traiter ce germe du type méropénème-rifampicine-ciprofloxacine (Lenoir *et Coll*, 2007 ; Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003). La doxycycline peut être utilisée seule en relais (Lenoir *et Coll*, 2007). Malheureusement, *B. cepacia* acquiert malgré tout des mécanismes de résistance multiple le rendant résistant à l'ensemble de l'arsenal thérapeutique disponible (Mariani-Kurkdjian *et Coll*, 2003).

2.2.2.5 Les mycobactéries

Elles regroupent environ 175 espèces différentes, dont la plupart sont non pathogènes pour l'Homme. La majorité d'entre elles se retrouvent dans l'environnement, l'eau et les sols (Lipuma, 2010).

Mycobacterium tuberculosis, agent de la tuberculose et première cause de décès par infection bactérienne dans le monde, et *M. leprae*, agent de la lèpre, comptent parmi les espèces les plus virulentes (Roux *et Coll*, 2010). Dans la mucoviscidose, ce sont les mycobactéries atypiques ou non tuberculeuses (MNT) qui sont impliquées. Leur prévalence varie de 5 à 15% selon les centres. En France, *M. abscessus* est l'espèce pathogène majoritaire alors qu'en Amérique du nord, *M. avium* et *M. intracellulare* sont dominantes (Le Bourgeois *et Coll*, 2005). Les patients jeunes seraient plus souvent touchés (Roux *et Coll*, 2010).

Ces MNT se manifestent le plus fréquemment par une infection pulmonaire chronique. Elles peuvent provoquer des infections dissimulées, rapidement mortelles après transplantation pulmonaire (Le Bourgeois *et Coll*, 2005 ; Roux *et Coll*, 2010). Les espèces les plus souvent impliquées sont *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii* et *M. abscessus* (Roux *et Coll*, 2010). *M. abscessus* a une forte capacité à infecter le système pulmonaire, mais peut également avoir des répercussions extra-pulmonaires comme des infections cutanées, des kératites, des endocardites et des ostéomyélites. *M. abscessus* intervient surtout dans la période post-greffe. C'est la seule espèce significativement liée à une évolution péjorative après transplantation, avec des défaillances mortelles du greffon (Roux *et Coll*, 2010).

Malheureusement, *M. abscessus* est très fortement résistante aux antibiotiques, ce qui rend difficile sa prise en charge thérapeutique. Seuls l'imipénème, la céfoxitine, l'amikacine et la clarithromycine ont fait la preuve de leur efficacité (Roux *et Coll*, 2010).

3 CONTEXTE ET OBJECTIFS

Malgré les énormes progrès de ces dernières années dans la prise en charge de la mucoviscidose, l'infection broncho-pulmonaire reste un problème majeur pour la survie des patients atteints. En effet, une large population d'espèces fongiques et bactériennes colonise leurs voies aériennes et influent sur l'évolution de la maladie. Parmi les champignons les plus fréquemment observés, *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* sont les deux espèces majoritaires. Cependant, certaines espèces minoritaires ont également leur place telles que *Scedosporium apiospermum*, *Cladosporium*, *A. versicolor*, *A. terreus*. D'un point de vue bactériologique, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* sont essentiellement présents, ainsi que quelques *Achromobacter*.

Le but de cette étude est de rechercher des associations entre la présence fongique et plusieurs paramètres cliniques et biologiques. Ce projet vise donc à évaluer le risque fongique dans la mucoviscidose en terme de fréquence des espèces retrouvées, ainsi que l'association des champignons avec le tableau clinique et la colonisation bactérienne dans la population de patients adultes au CRCM de Rouen.

4 PATIENTS ET METHODES

L'étude inclut 73 patients adultes âgés de 18 à 72 ans, suivis au Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose (CRCM) au CHU de Rouen, soit 30 femmes et 43 hommes. Elle couvre la période de Janvier 2005 à Septembre 2010 (sauf un patient à *Geosmithia* pour lequel nous avons poursuivi l'étude jusqu'en Décembre 2010).

Pour chaque patient ont été relevés dans les dossiers cliniques :

- l'âge
- le sexe
- les deux mutations du gène CFTR responsables de la pathologie
- la présence ou non d'une insuffisance pancréatique exocrine
- l'Indice de Masse Corporelle de chaque année
- la présence ou non de diabète
- le meilleur VEMS par an exprimé en pourcentage
- le nombre de cures d'antibiotiques en intraveineuse par an
- la prise ou non d'azithromycine au long court
- les aérosols antibiotiques inhalés : gentamycine, tobramycine, amikacine, colimycine, vancomycine.
- les traitements antifongiques : voriconazole, itraconazole, posaconazole

Grâce au logiciel MOLISBAC du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU, nous avons pu relever les prélèvements réalisés lors des bilans annuels ou lors d'exacerbation de la maladie faits entre 2005 et 2010 pour chaque patient, aussi bien pour les espèces fongiques que bactériennes. Au total, 1505 prélèvements sont inclus dans l'étude.

Grâce au logiciel CDP2, il a été possible de relever les données cliniques concernant les patients. Je remercie le Dr Dominique de m'avoir autorisé à consulter les compte rendus cliniques élaborés à chaque visite de contrôle ou d'hospitalisation.

Pour l'analyse statistique, le logiciel NCCS a été utilisé. La réalisation de tableaux de contingence et l'application de la loi de Fischer ainsi que du Chi-2 a permis l'analyse des variables qualitatives. Une valeur de p inférieure ou égale à 0,05 est significative. Pour les autres variables, je remercie le Professeur Benichou d'avoir mené les analyses statistiques.

4.1 Description des populations étudiées

4.1.1 Espèces fongiques

Selon le paramètre étudié, la population change. En effet, sur les six ans pris en compte pour réaliser cette étude, certaines informations sont manquantes, qu'elles soient cliniques ou biologiques. Cela s'explique par le décès du patient, une greffe pulmonaire, ou un changement d'adresse.

D'un point de vue fongique, 38 espèces différentes ont été répertoriées chez les 73 patients. Un tableau récapitulatif a pu être élaboré à partir de ces données.

(Annexe 1)

Globalement, les espèces fongiques se distribuent de la façon suivante :

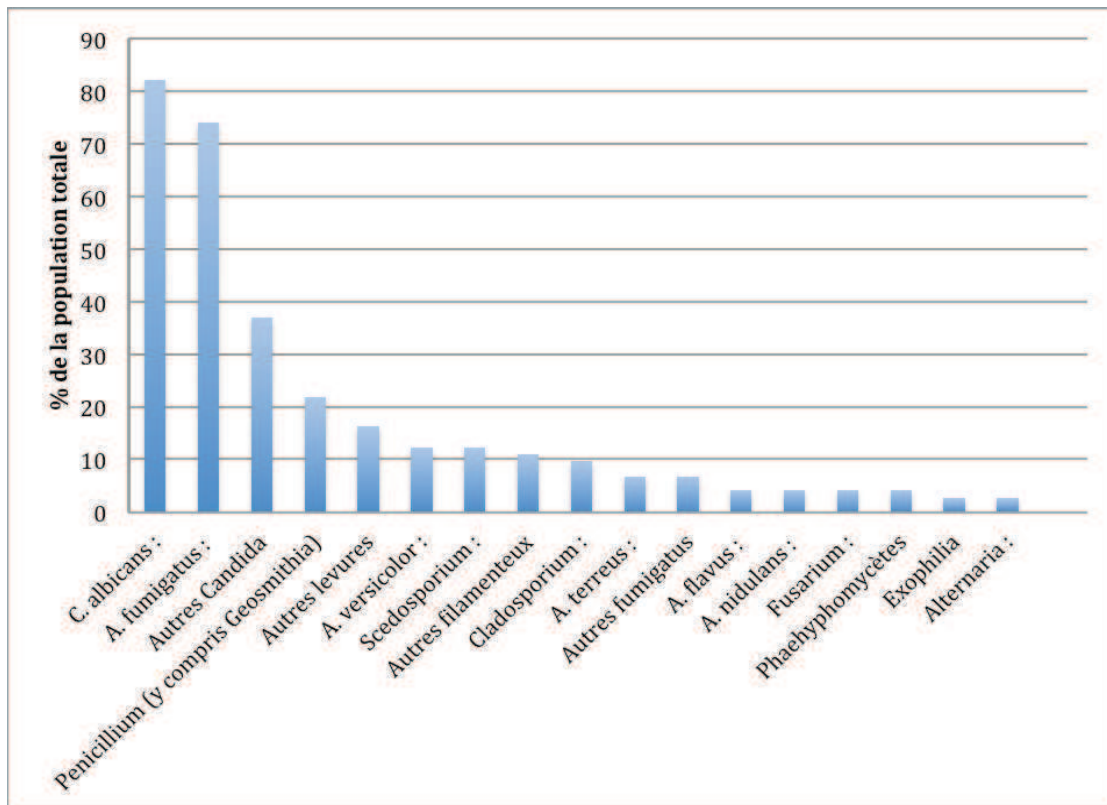


Figure 17 : Description de la colonisation fongique chez les patients atteints de mucoviscidose au CHU de Rouen

Les champignons ont été regroupés par catégories afin de réaliser ce graphique :

Autres *Aspergillus* = *A. niger*, *A. ornatus*, *A. ochraceus*, *A. glaucus*

Autres levures = *Trichoderma sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Geotrichum sp.*

Penicillium = *Geosmithia argillacea*, *Penicillium thermosensible*, *Penicillium thermorésistant*

Autres filamenteux = *Paecilomyces sp.*, *Acremonium sp.*, *Chrysosporium sp.*, *Cunninghamella sp.*

Phaeohyphomycètes = Champignons noirs = *Kloeckera sp.*, *Phialophora sp.*, *Ulocladium sp.*

Autres *Candida* = *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. sake*, *C. pulcherima*, *C. famata*, *C. non albicans*

Etant donné l'importance des *Aspergillus* dans la mucoviscidose, le graphique suivant peut être établi afin de mettre en évidence la place tenue par chaque espèce aspergillaire :

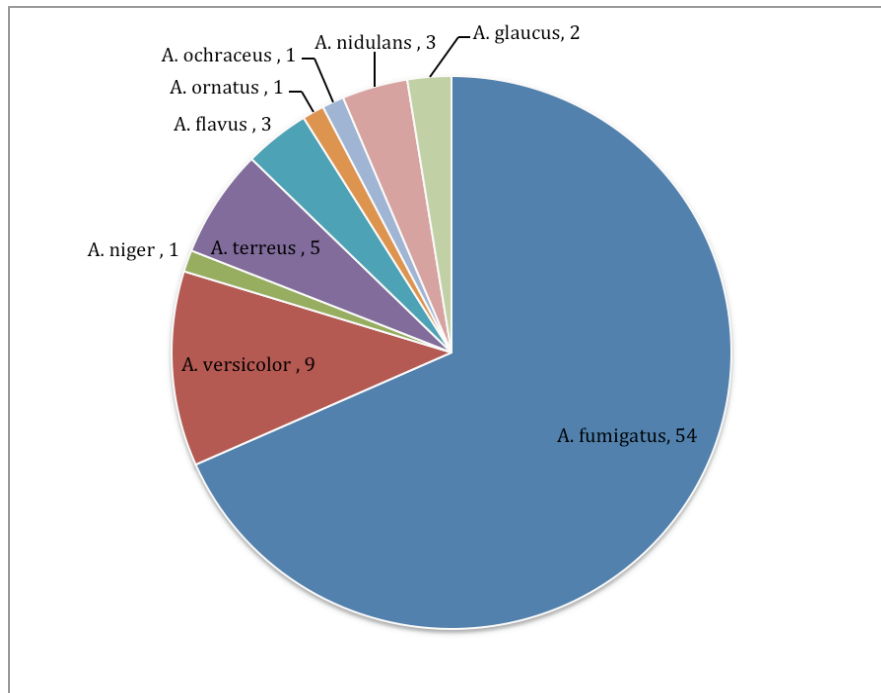


Figure 18 : Nombre de patients au CHU de Rouen colonisés par des espèces aspergillaires

A. fumigatus est donc largement majoritaire avec 54 patients colonisés, soit 74%. Les deux espèces suivantes sont *A. versicolor* qui contamine 9 patients (12%) et *A. terreus* retrouvé chez 5 patients (6,8%). Les autres sont plus rarement isolés.

Il est intéressant de remarquer que 84,9 % de la population est atteinte par des espèces fongiques filamenteuses.

D'autre part, une classification de la population en fonction de la fréquence des champignons dans les prélèvements a été établie. Les espèces fongiques sont divisées en trois catégories : espèce sporadique, intermittente, chronique :

Sporadique : isolement du champignon une fois par an.

Intermittent : isolement du champignon deux fois par an.

Chronique : isolement du champignon trois fois par an ou plus.

Pour cette étude a été prise en compte, pour chaque malade, l'année présentant le plus grand nombre de prélèvements infectés par un champignon. Par exemple, si pour un patient donné, une espèce fongique est intermittente pendant trois ans, et chronique pendant un an, il sera considéré comme colonisé chroniquement par cette espèce.

Le tableau suivant expose ces résultats :

Espèces fongiques	Nombre de patients colonisés à cette espèce	% sporadique <i>(Nombre patients)</i>	% intermittent <i>(Nombre patients)</i>	% chronique <i>(Nombre patients)</i>
<i>A. fumigatus</i>	54	35,2 % (19)	31,5% (17)	33,3 % (18)
<i>A. versicolor</i>	9	100 %		
<i>A. niger</i>	1	100 %		
<i>A. terreus</i>	5	60 % (3)		40 % (2)
<i>A. flavus</i>	3	100 %		
<i>A. ornatus</i>	1	100 %		
<i>A. ochraceus</i>	1	100 %		
<i>A. nidulans</i>	3	100 %		
<i>A. glaucus</i>	2	100 %		
<i>S. apiospermum</i>	9	55,6 % (5)	11,1 % (1)	33,3 % (3)
<i>Geotrichum sp.</i>	8	50 % (4)	50 % (4)	
<i>Cladosporium sp.</i>	7	71,4 % (5)	28,6 % (2)	
<i>Alternaria sp.</i>	2	100 %		
<i>Geosmithia sp.</i>	1	100 %		
<i>Penicillium thermosensible</i>	13	92,3 % (12)	7,7 % (1)	
<i>Penicillium thermorésistant</i>	5	80 % (4)	20 % (1)	
<i>C. albicans</i>	60	8,3 % (5)	18,3 % (11)	73,3 % (44)
<i>C. glabrata</i>	4	75 % (3)		25 % (1)

<i>C. tropicalis</i>	2		100 % (2)	
<i>C. kefyr</i>	5	80 % (4)		20 % (1)
<i>C. lipolytica</i>	5	100 %		
<i>C. parapsilosis</i>	4	75 % (3)	25 % (1)	
<i>C. krusei</i>	1		100 %	
<i>C. sake</i>	1	100 %		
<i>C. pulcherima</i>	1	100 %		
<i>C. famata</i>	1	100 %		
<i>Candida non albicans</i>	8	100 %		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3	100 %		
<i>Fusarium sp.</i>	3	66,6 % (2)	33,3 % (1)	
<i>Kloeckera sp.</i>	1	100 %		
<i>Trichoderma viride sp.</i>	5	100 %		
<i>Paecilomyces variotti</i>	4	100 %		
<i>Ulocladium sp.</i>	1	100 %		
<i>Exophilia sp.</i>	2	50 % (1)	50 % (1)	
<i>Chrysosporium sp.</i>	2	100 %		
<i>Cunninghamella sp.</i>	1	100 %		
<i>Acremonium sp.</i>	2	100 %		
<i>Phialophora sp.</i>	1	100 %		

Figure 19 : Classification des espèces fongiques selon leur fréquence de colonisation

En excluant les espèces qui colonisent les patients de façon sporadique uniquement, le graphique suivant est réalisé :

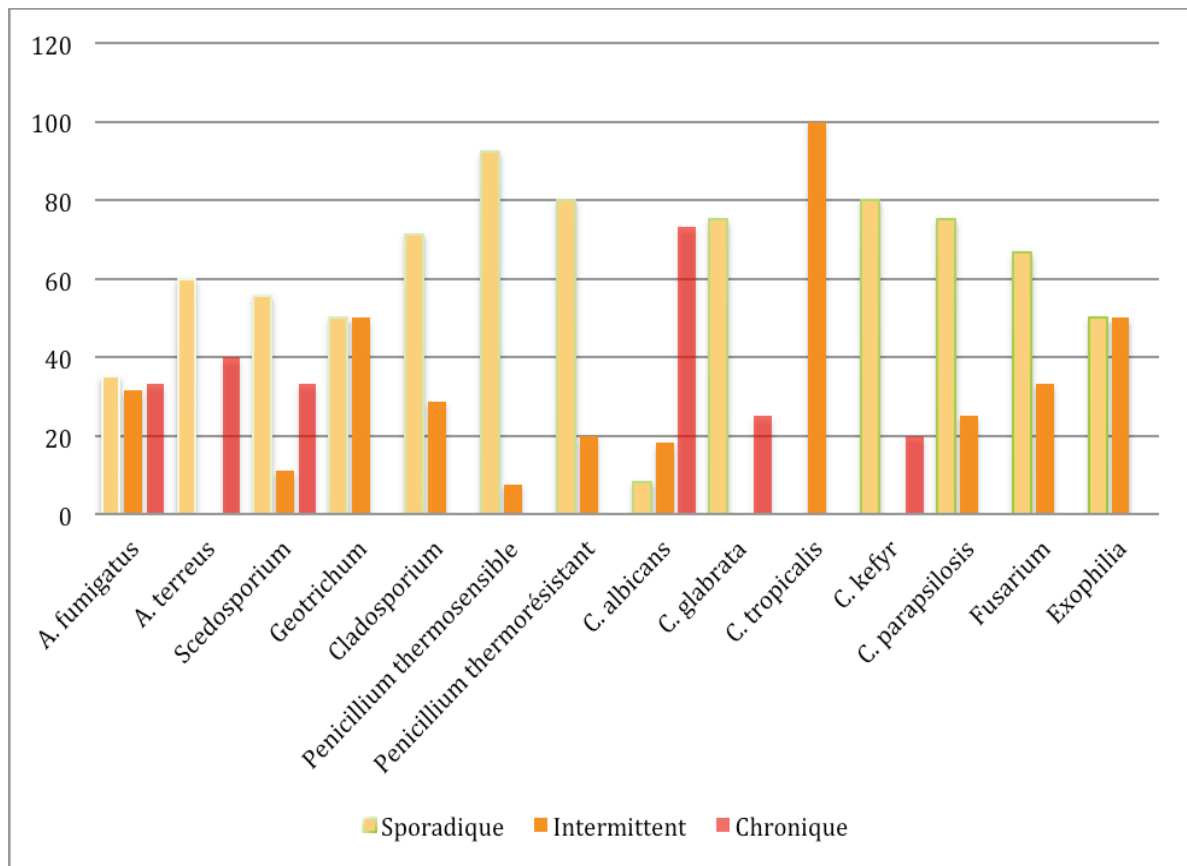


Figure 20 : Les différents types de colonisation fongique chez les patients du CHU de Rouen

D'après ce graphique, peu d'espèces sont responsables de colonisation chroniques chez les patients : *A. fumigatus*, *A. terreus*, *S. apiospermum*, *C. albicans*, *C. glabrata* et *C. kefyr*.

4.1.2 Espèces bactériennes

D'un point de vue bactérien, huit espèces intéressantes ont été relevées : *Staphylococcus aureus méti-S* (90,4%), *Staphylococcus aureus méti-R* (24,7%), *Pseudomonas aeruginosa non mucoïde* (58,9%), *Pseudomonas aeruginosa mucoïde* (53,4%), *Stenotrophomonas maltophilia* (39,7%), *Burkholderia sp.* (2,7%), Mycobactéries (1,4%).

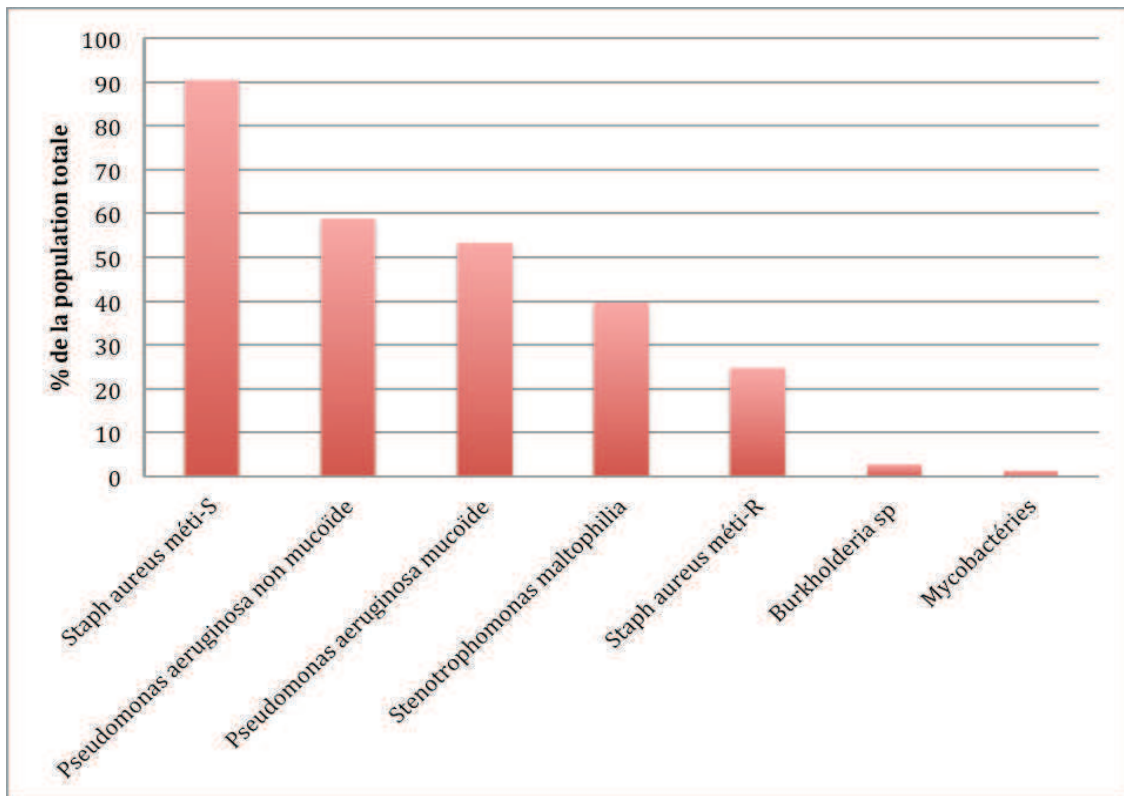


Figure 21 : Description de la colonisation bactérienne chez les patients du CHU de Rouen

4.2 Description des autres paramètres

4.2.1 Diabète

70 patients sur les 73 inclus dans l'étude sont pris en compte. Sur ces 70 patients, 16 sont diabétiques, soit 23%, 54 patients sont non diabétiques, soit 77%.

4.2.2 Etat pancréatique

Sur les 69 patients sélectionnés pour l'étude de ce paramètre clinique, 54 sont insuffisants pancréatiques (78,3%) et 15 ont un pancréas normal (21,7%).

4.2.3 Indice de Masse Corporelle : IMC

Pour chaque patient a été relevé dans les dossiers cliniques l'évolution de l'IMC au cours du temps. A partir de ces données, l'IMC moyen par patient a pu être calculé pour avoir une idée de la distribution globale de ce paramètre. Concernant 7 patients, l'information n'est pas connue.

Voici l'aperçu de la population en fonction de l'IMC :

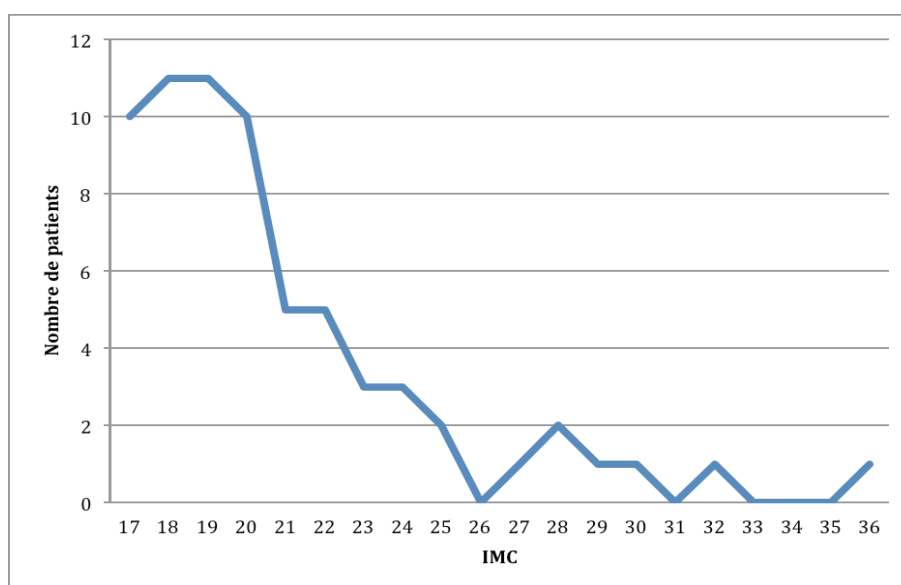


Figure 22 : Description de la population étudiée selon l'IMC

Pour la majorité, l'IMC stagne au cours des six années étudiées. C'est le cas pour environ 50% des patients au CHU de Rouen. En revanche, on estime à 25% le nombre de patients pour lesquels l'IMC a tendance à augmenter au cours du temps, ainsi qu'à 25% le nombre de patients pour lesquels ce paramètre a tendance à diminuer.

4.2.4 Sexe

Sur les 73 patients inclus dans cette étude on remarque que 30 d'entre eux sont des femmes, équivalent à 41,1% de la population totale, alors que 43 hommes sont touchés représentant 58,9% des patients.

4.2.5 Mutations

Les patients homozygotes DF508 et les hétérozygotes ont été comparés. Si on exclut les patients pour lesquels la deuxième mutation est inconnue, 24 patients sont homozygotes DF508 soit 35,8%, alors que 43 patients sont hétérozygotes soit 64,2%.

Parmi les patients hétérozygotes, il y a ceux qui sont hétérozygotes DF508 (37, donc 86% des hétérozygotes sont des hétérozygotes DF508), et les autres (6 donc 14% des patients hétérozygotes sont hétérozygotes non DF508)

Par ailleurs, l'âge moyen des patients hétérozygotes est de 34,6 ans, alors que celui des patients homozygotes DF508 est de 26,9 ans.

4.2.6 Age

La population de patients adultes à Rouen s'étend de 18 ans à 72 ans.

L'âge moyen est 32 ans, l'âge médian de 29 ans.

Le graphique suivant exprime l'âge de la population totale étudiée :

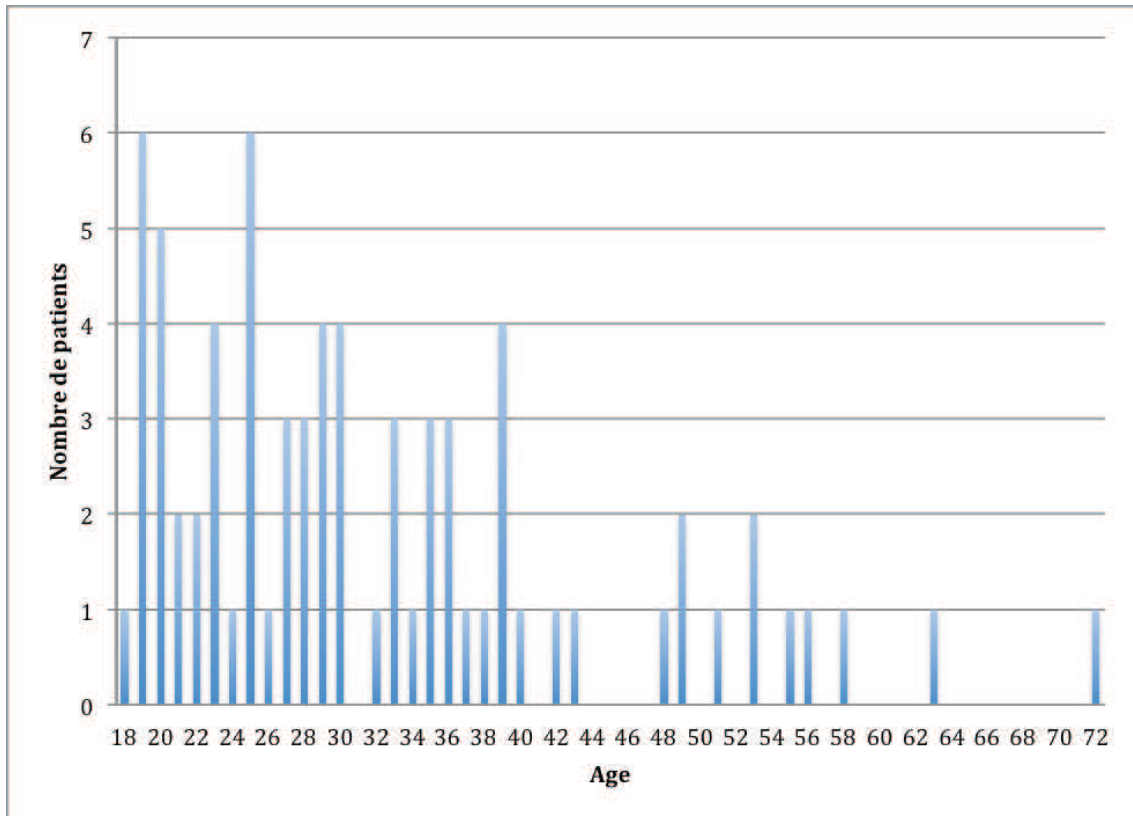


Figure 23 : Répartition de la population étudiée selon l'âge

4.2.7 Nombre de cures d'antibiotiques intraveineuses par an

Pour ce paramètre, le nombre de cures d'antibiotiques intraveineuses par an et par patient sur six ans a été relevé. Sur 73 malades, 56 ont reçu au moins une cure d'antibiotique intraveineuse sur six ans, ce qui correspond à 76,7%.

Un classement a pu être dressé mettant en évidence le nombre de patients en fonction du nombre de cures d'antibiotiques.

(Annexe 2)

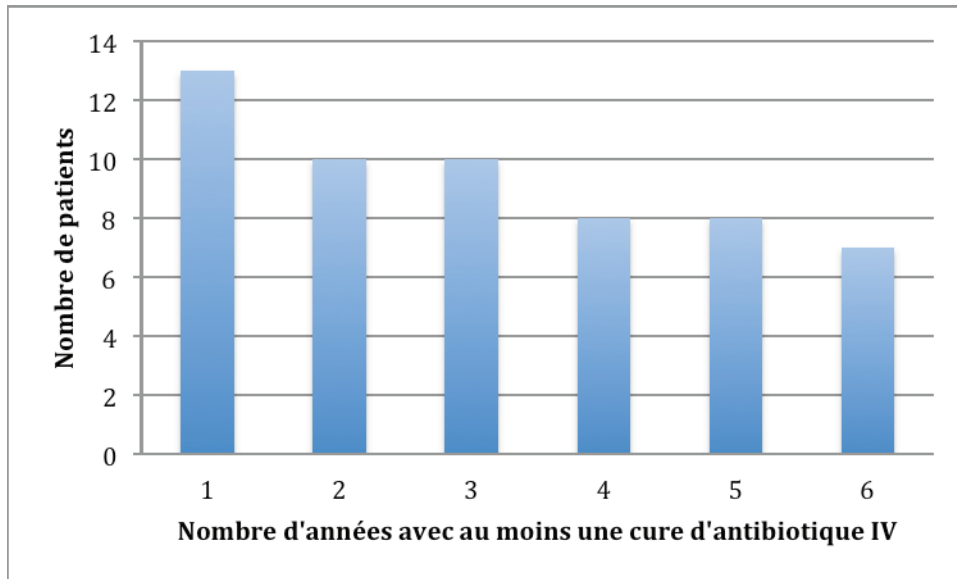


Figure 24 : Représentation de l'effectif ayant reçu des cures d'antibiotiques par voie intraveineuse

4.2.8 Prise au long court d'azithromycine

Sur les 73 patients, 57 ont reçu au moins une année de cure de Zithromax (Azithromycine), soit 78,1% de la population totale étudiée. Le tableau en annexe 3 représente la répartition de la population en fonction du nombre d'années où il y a eu au moins une cure d'antibiotique.

(Annexe 3)

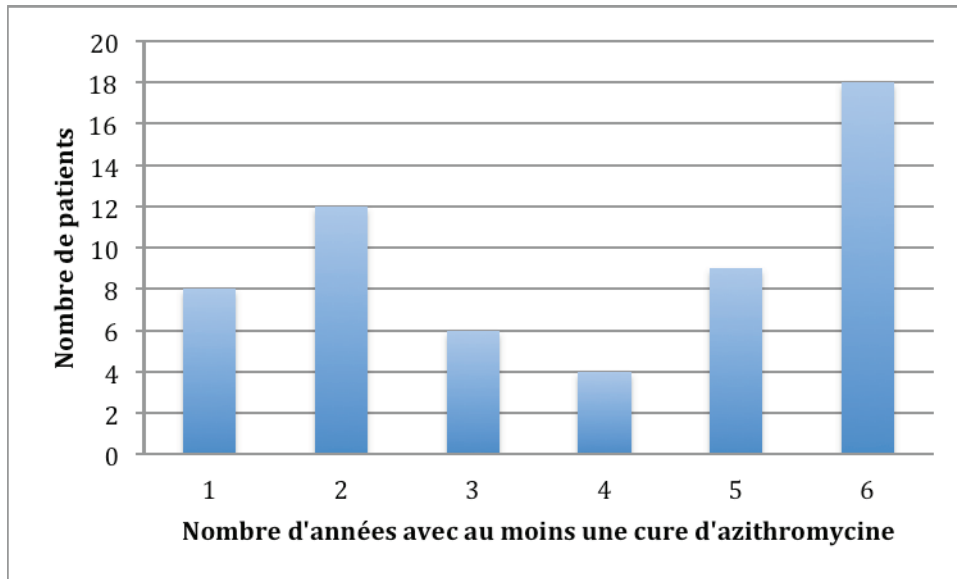


Figure 25 : Représentation de l'effectif ayant reçu des cures d'azithromycine

4.2.9 Traitements antibiotiques inhalés

Parmi nos patients, différents traitements antibiotiques inhalés en aérosols ont été utilisés. En effet, les médecins ont recours principalement aux antibiotiques de la famille des aminosides, en particulier la tobramycine (Tobi®). La gentamicine (Gentalline®) et l'amikacine (Amiklin®) sont plus rarement employés. Ils sont utilisés seuls ou associés à la Colimycine (Colimycine®), de la famille des polypeptides.

Parmi les 73 patients, 50 ont reçu au moins une cure d'antibiotiques inhalés en six ans, ce qui équivaut à 68,5% de la population étudiée. Sur le même principe que précédemment, la population a été classée selon le nombre d'années de cure d'antibiotiques inhalés. De plus, parmi ces patients recevant les cures, le nombre d'années de cures en bithérapie a été ajouté en rouge sur le graphique.

(Annexe 4)

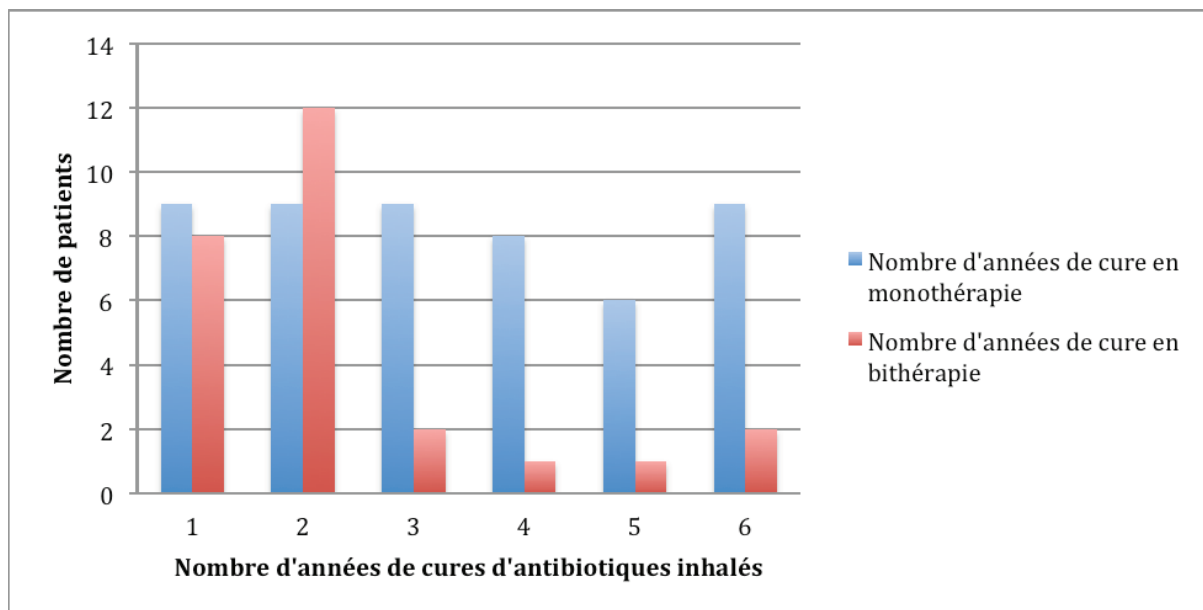


Figure 26 : Représentation de l'effectif ayant reçu des cures d'antibiotiques inhalés

4.2.10 Traitements antifongiques

Les molécules utilisées appartiennent toutes à la famille des antifongiques azolés : le voriconazole (Vfend®), l'itraconazole (Sporanox®) et le posaconazole (Noxafil®). Ils peuvent être administrés seuls ou en association.

Pour deux patients, les informations concernant les traitements antifongiques sont manquantes. Sur les 71 patients restant, 53 ont reçu au moins un traitement antifongique sur les 5 ans, ce qui correspond à 74,6% de la population étudiée.

Le tableau en annexe permet de répartir les patients en fonction des années de traitement antifongique.

(Annexe 5)

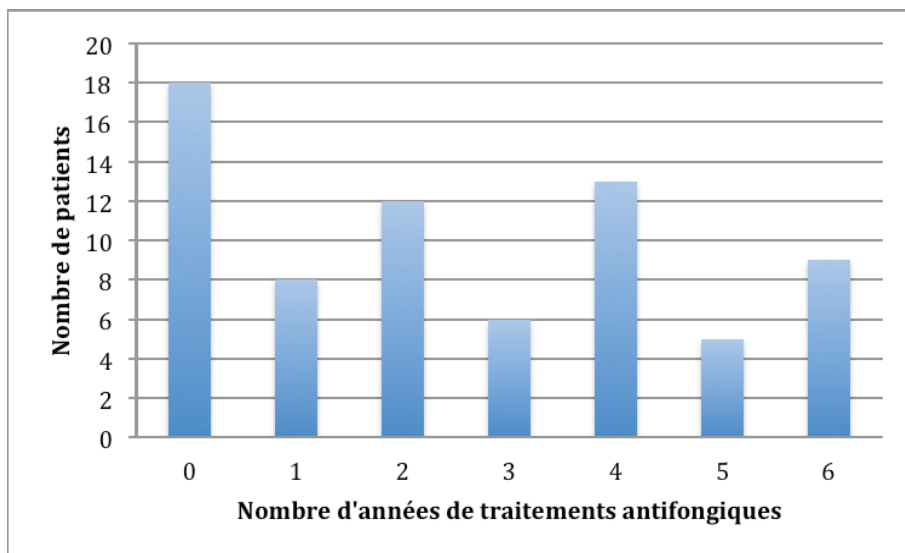


Figure 27 : Représentation de l'effectif ayant reçu des traitements antifongiques

4.2.11 VEMS

Pour chaque patient a été relevé dans les dossiers cliniques, pour chaque année entre 2005 et 2010, le meilleur VEMS par an. L'amplitude de ces valeurs s'étend de 18% à 189%.

Trois catégories différentes peuvent être établies (d'après Blyth *et Coll*, 2010b) :

- Sévère détérioration des poumons : meilleur VEMS < 40%
- Détérioration modérée des poumons : meilleur VEMS compris entre 40 et 69%
- Faible détérioration des poumons : meilleur VEMS > 70%

Sur les 73 patients, 5 n'ont pas de données suffisantes concernant le VEMS. Donc pour 68 patients, la population est répartie selon la gravité de l'atteinte de la fonction respiratoire.

Valeurs du VEMS	Nombre de patients	Pourcentage de patients sur la population totale
Meilleur VEMS < 40%	9	12,3 %
41% < meilleur VEMS < 69%	12	16,4 %
Meilleur VEMS > 70%	47	64,4 %

Figure 28 : Répartition de la population en fonction du VEMS

Il y a donc une sévère détérioration des poumons chez 12,3% des patients, modérément chez 16,4%, et faible chez 64,4%.

En outre, on observe que la moyenne des VEMS est de 82,8%, et que la médiane se chiffre à 86%.

5 RESULTATS

Les analyses statistiques ont été effectuées par l'unité de biostatistique du CHU de Rouen sous la direction du Professeur Benichou.

5.1 Données cliniques et colonisation fongique

5.1.1 Diabète

En utilisant la loi de fischer, une association entre la colonisation par *Candida glabrata* et l'état diabétique a été mise en évidence ($p = 0,035$). Le diabète n'apparaît pas comme un facteur de risque significatif pour les autres espèces fongiques.

5.1.2 Etat pancréatique

Le test de fischer montre une association très significative entre l'homozygotie DF508 et la survenue à l'état adulte d'une insuffisance pancréatique ($p = 0,003$). En revanche, l'hétérozygotie sans mutation DF508 est associée avec une absence d'insuffisance pancréatique à l'état adulte ($p = 0,04$).

Le test du Chi-2 a permis de mettre en évidence une association très significative entre *Aspergillus fumigatus* et la défaillance pancréatique ($p = 0,0007$). Ce qui amène à remarquer qu'en effet, 83,3% des patients atteints d'insuffisance pancréatique sont colonisés par *Aspergillus fumigatus*.

Les autres espèces fongiques ne montrent pas d'associations significatives.

Par ailleurs, l'âge et la présence ou non d'une insuffisance pancréatique ont été comparés. De ce fait, on constate que l'âge moyen des patients ayant une insuffisance pancréatique exocrine était de 28 ans contrairement à ceux qui avaient un pancréas normal et dont l'âge moyen est de 43 ans ($p < 0,001$)

5.1.3 Indice de Masse Corporelle

Les analyses statistiques montrent une association entre l'IMC et *Aspergillus versicolor* ($p = 0,01$). En effet, plus l'IMC augmente, plus le risque d'avoir ce champignon est grand.

5.1.4 Sexe

Aucune association significative n'a été établie entre le sexe du patient et sa colonisation par les pathogènes fongiques.

5.1.5 Mutations

Aucune association significative n'a pu être mise en évidence entre la nature de la mutation responsable de la maladie et la colonisation fongique du patient.

En revanche, l'âge moyen des patients homozygotes a été comparé à celui des hétérozygotes : la première catégorie se situe à un âge moyen de 26,9 ans contre 34,6 ans pour la deuxième ($p = 0,003$).

5.1.6 Age

Une association entre l'âge du patient et la colonisation par *Aspergillus fumigatus* a été mise en évidence de manière significative ($p = 0,003$). De ce fait, les jeunes adultes ont plus

de chance d'être colonisés par ce champignon que les autres. Pour chaque année en plus, on observe une diminution de 5% du risque de colonisation par *Aspergillus fumigatus*.

En outre, l'âge moyen des patients qui ne sont pas colonisés par *Aspergillus fumigatus* (19 patients, donc 26%) est 37,7 ans, alors que ceux qui sont colonisés (54 patients, donc 74%) ont un âge moyen de 29,9 ans.

5.1.7 Traitements antifongiques

L'analyse statistique entre les trois molécules a été la même car elles appartiennent à la même famille d'antifongique, celle des azolés (à la différence des traitements antibiotiques où l'on a deux familles différentes).

Une association entre la colonisation par *A. fumigatus* et la prise d'antifongiques est retrouvée ($p = 0,01$)

5.1.8 Traitements antibiotiques inhalés

Contrairement aux antifongiques, les antibiotiques inhalés sont divisés en trois catégories différentes selon leur classe thérapeutique : les aminosides (gentamycine, tobramycine, amikacine), les polypeptides (colimycine) et les glycopeptides (vancomycine). Dans un premier temps, la répercussion de la prise ou non d'antibiotiques inhalés par rapport à la colonisation fongique a été évaluée. Ensuite, les conséquences sur la contamination fongique de chaque classe d'antibiotique ont motivé une recherche plus poussée.

Une association entre la présence de *S. apiospermum* et l'inhalation d'antibiotiques de manière générale a été retrouvée ($p = 0,001$). Plus précisément, l'association entre la prise d'aminosides, gentamycine ou tobramycine ($p = 0,007$) et de glycopeptide ou vancomycine ($p = 0,01$) avec la colonisation par *S. apiospermum* a été mise en évidence.

5.1.9 Azithromycine au long court

Une association intéressante a été retrouvée entre la prise au long court d'azithromycine et la colonisation par *A. fumigatus* ($p = 0,01$).

5.1.10 Cures d'antibiotiques intraveineuses

Aucune association significative entre le nombre de cures intraveineuses par an et la colonisation fongique des patients n'a pu être mise en évidence.

5.1.11 VEMS

Aucune association significative entre le VEMS et une colonisation bactérienne des patients n'a été démontrée. Il en est de même pour la colonisation par les espèces fongiques.

5.2 Recherche d'associations entre les espèces fongiques et bactériennes

5.2.1 *Aspergillus fumigatus*

La recherche d'association entre *Aspergillus fumigatus* et *Pseudomonas aeruginosa* non mucoïde se révèle intéressante et proche de la valeur significative ($p = 0,07$).

De plus, une association significative entre *A. fumigatus* et *S. maltophilia* a été retrouvée grâce au test de Fischer ($p = 0,0003$). En effet, on remarque que 96% des patients contaminés par *S. maltophilia* sont également colonisés par *A. fumigatus*, alors que 59% des patients non contaminés par *S. maltophilia* hébergent ce champignon.

Enfin, une association entre *A. fumigatus* et *S. apiospermum* est mise en évidence ($p = 0,02$).

5.2.2 *Scedosporium apiospermum*

Une potentielle association entre *S. apiospermum* et *S. aureus méti-R* serait envisageable ($p = 0,06$).

Par ailleurs, on découvre une forte affinité entre *S. apiospermum* et *P. aeruginosa* non mucoïde qui traduit une association significative ($p = 0,007$).

5.2.3 *Cladosporium* sp.

Aucune association significative avec les espèces bactériennes n'a été démontrée pour ce champignon.

5.2.4 *Geosmithia argillacea*

Pour *Geosmithia argillacea*, un lien significatif a été établi avec *S. aureus méti-R* ($p = 0,04$).

6 DISCUSSION

La colonisation fongique chez les patients atteints de mucoviscidose est un problème majeur qui suscite de nombreuses recherches. Malgré la constante évolution des connaissances mycologiques, certaines interrogations restent encore sans réponse. Le but de cette étude est d'avoir un aperçu de la contamination fongique chez les patients adultes suivis au CHU de Rouen et de rechercher des facteurs favorisant qui influenceraient cette colonisation. Les conséquences des co-infections par les champignons et les bactéries ne sont à ce jour pas entièrement connues, mais de récentes études montrent qu'elles sont corrélées à une dégradation de la fonction pulmonaire plus sévère que lors d'une infection fongique ou bactérienne isolée (Whittaker Leclair *et Coll*, 2010).

6.1 Epidémiologie fongique

Cette étude sur six ans nous a permis d'isoler un nombre important d'espèces fongiques différentes et de mettre en évidence la diversité et la complexité de la maladie : 38 espèces ont été identifiées entre 2005 et 2010 chez les patients du CRCM de Rouen.

L'espèce majoritairement présente est *Aspergillus fumigatus* avec 74% des patients colonisés. Dans la littérature, sa fréquence varie de 6 à 56% (Pihet *et Coll*, 2009). Nous nous situons donc au dessus de la moyenne. Il est intéressant de remarquer que cette valeur varie en fonction des pays : 36% aux Etats-Unis (Sudfeld *et Coll*, 2010), 25% au Danemark, 45% en Allemagne (Paugam *et Coll*, 2010), 66,7% en Australie (Blyth *et Coll*, 2010b). La variation des résultats selon les études a suscité des réflexions sur l'influence de l'âge, des conditions climatiques et de la distribution géographique des champignons (Bakare *et Coll*, 2003). Le nombre et la nature des cultures, les temps d'incubation, les températures et le manque de

standardisation des méthodes d'examen mycologique sont également en cause (Bouchara et Coll, 2009).

Aspergillus fumigatus est peu fréquent chez les jeunes enfants mais très présent chez les adultes. Il a en effet été établi dans plusieurs études que l'âge du premier isolement de ce champignon se situait à 12,3 ans (Pihet et Coll, 2009 ; Paugam et Coll, 2010). Cependant dans une étude récente, 28% des patients âgés de 6 à 10 ans étaient contaminés par *A. fumigatus* contre 61% des patients entre 21 et 41 ans (Paugam et Coll, 2010). De plus Sudfeld et Coll ont démontré également que l'âge moyen des patients colonisés par *A. fumigatus* était significativement différent de celui des patients non colonisés : 23,8 ans versus 17,8. Ils établissent aussi que les patients ayant plus de 18 ans ont 51% plus de chance d'être colonisé par des champignons filamenteux (Sudfeld et Coll, 2010).

Nous avons également mis en évidence une association entre l'âge et *A. fumigatus* : les jeunes adultes sont plus touchés par ce champignon que les plus âgés. Nos résultats suggèrent que pour chaque année, le pourcentage de chance d'être colonisé par *A. fumigatus* diminue de 5%. De plus, une différence significative de l'âge moyen des patients non colonisés par *A. fumigatus* (37,7 ans) par rapport à ceux colonisés par ce champignon (29,9 ans) est notable. Cependant, nos chiffres sont très différents de ceux retrouvés dans cette étude américaine. Etant donné que notre étude se base uniquement sur une population adulte ayant plus de 18 ans, notre chiffre élevé d'isolation aspergillaire et d'âge moyen de contamination par rapport à la littérature pourrait s'expliquer de ce fait.

Dans la littérature, il n'a pas à notre connaissance d'association entre la colonisation par *A. fumigatus* et une surmortalité en dehors du contexte de la transplantation. Ces résultats suggèrent que la colonisation par ce champignon survient chez des patients plus gravement atteints présentant une espérance de vie plus faible mais dont la gravité n'a pu être objectivée ici par aucun des facteurs étudiés. On peut émettre l'hypothèse que les patients âgés aujourd'hui sont les patients qui étaient les moins colonisés par *A. fumigatus* il y a vingt ans car les patients fortement colonisés avaient un taux de survie très faible du fait de la mauvaise prise en charge thérapeutique. Ces patients vivent donc plus longtemps et sont moins colonisés que les jeunes adultes.

On peut supposer que le nombre de jeunes adultes porteurs d'*Aspergillus* est plus grand aujourd'hui du fait d'une amélioration de la prise en charge, car cette population n'atteignait pas l'âge adulte avant.

Scedosporium apiospermum est le second champignon en terme de fréquence isolé chez les patients rouennais, en même proportion que *A. versicolor* qui ont tous deux un taux d'isolement de 12,3%. Dans la littérature, *S. apiospermum* est en effet le deuxième champignon le plus fréquemment isolé (Grunderbeeck *et Coll*, 2010). Son taux varie selon les études : 8,6% à 10% (Pihet *et Coll*, 2009 ; Blyth *et Coll*, 2010b). Comme *A. fumigatus*, cette espèce fongique est moins fréquente chez les jeunes enfants et commence à coloniser les patients vers l'adolescence (Cimon *et Coll*, 2000). La première isolation chez le patient se situe à 14,1 ans (Pihet *et Coll*, 2009).

A. versicolor est très fréquent, alors qu'il est rarement rapporté dans la littérature : 0,9% chez Paugam *et Coll* dans leur étude parue en 2010.

A. terreus est également rapporté fréquemment par les auteurs, avec un taux variant de 1,9% à 6,2% (Pihet *et Coll*, 2009). Ici, il affecte 6,8% des patients.

A Rouen, le taux d'*Aspergillus* non *fumigatus* s'élève à 26%. Dans les études précédemment publiées, ce taux est de 10,4% (Paugam *et Coll*, 2010) et s'élève jusqu'à 26,1% dans l'étude menée par Sudfeld *et Coll* en 2010.

En 2010, Blyth *et Coll* chiffrent à 81,2% le pourcentage de patients infectés par des champignons filamenteux (Blyth *et Coll*, 2010a). Des chiffres similaires sont retrouvés à Rouen : cette proportion est de 84,9%.

6.2 Associations des espèces fongiques avec les paramètres cliniques

Dans cette étude, il n'y a pas d'association entre le diabète et *A. fumigatus* comme précédemment par Paugam *et Coll* en 2010 et Mlle Poirier dans sa thèse d'exercice en 2008. D'après Paugam *et Coll*, les patients colonisés par *A. fumigatus* ont moins de risque de développer un diabète, malgré le fait que le diabète soit considéré comme un facteur de risque aux infections étant donné l'altération des défenses anti-infectieuses en résultant. *Candida albicans* est également envisagé par certains chercheurs comme une levure associée au diabète (Grunderbeeck *et Coll*, 2010). Pour notre part, une association significative entre le diabète et *Candida glabrata* a été mise en évidence. Elle n'a pas été démontrée dans la littérature à notre connaissance.

L'insuffisance pancréatique serait associée à la présence fongique globale d'après certains auteurs (Grunderbeeck *et Coll*, 2010). En effet, une forte association avec *A. fumigatus* a été mise en évidence. Cette dernière a été émise également par Amin *et Coll*, cité dans l'article de Paugam *et Coll* en 2010.

Etant donné la différence d'âge entre les patients souffrant d'une insuffisance pancréatique et ceux qui ont un pancréas normal, nous pouvons supposer que la défaillance pancréatique pourrait être un facteur de gravité dans l'évolution de la maladie.

Concernant les mutations du gène DF508, aucune association entre la colonisation fongique et l'existence d'une homozygotie pour le gène DF508 n'a été démontrée par cette étude. Parallèlement, dans les travaux cités par Mlle Cruyppenninck dans sa thèse d'exercice, 99% des patients homozygotes ont une insuffisance pancréatique (100% dans notre étude) alors que 28% des hétérozygotes DF508/non DF508 et 64% des non DF508/non DF508 (3 patients sur 5, 60% dans notre étude) sont suffisants pancréatiques. En outre, elle rapporte que les patients homozygotes DF508 sont atteints plus sévèrement que les patients hétérozygotes ou sans mutation DF508. Nous soutenons cette hypothèse par la différence d'âge moyen retrouvée entre les homozygotes (26,9 ans) et les hétérozygotes (34,6 ans).

Nous pouvons supposer également que les patients homozygotes sont les plus gravement atteints que les hétérozygotes qui vivent plus longtemps.

L'étude a permis de mettre en évidence une association entre *A. versicolor* et l'IMC. En effet, plus l'IMC augmente, plus le risque d'être colonisé par ce champignon augmente. Nous n'avons pas trouvé de publication en accord avec cette association.

Les conséquences de l'utilisation d'antibiotiques inhalés sur la colonisation fongique sont étudiées depuis de nombreuses années. Bien que l'usage chronique intermittent de la tobramycine soit efficace sur *P. aeruginosa* et améliore le VEMS, Burns *et Coll* montrent dès 1999 une augmentation associée de la colonisation fongique à la fois de *Candida albicans* et des *Aspergillus sp.* Récemment, l'utilisation d'antibiotiques inhalés a été rapportée également comme un facteur de risque vis à vis de la colonisation fongique (Sudfeld *et Coll*, 2010). De plus, Vrankrijker *et Coll* ont émis l'hypothèse que la contamination par *A. fumigatus* était favorisée par l'usage de cette thérapeutique (Mogayzel *et Coll*, 2011) de même que Mlle Poirier dans sa thèse d'exercice en 2008. D'après les auteurs, les aérosols modifieraient la flore locale ce qui favoriserait la colonisation fongique. Dans notre étude, cette association n'a pas été retrouvée dans la population adulte que nous avons étudiée. En revanche, nous retrouvons une influence des traitements antibiotiques inhalés sur la colonisation par *S. apiospermum*. L'utilisation globale des antibiotiques en inhalation favoriserait la colonisation par ce champignon. Plus précisément, la gentamycine, la tobramycine et la vancomycine seraient concernées. A notre connaissance, cette association n'a pas été rapportée dans la littérature. Il serait intéressant d'approfondir cette théorie grâce à des études ultérieures.

L'utilisation des antifongiques dans la mucoviscidose apparaît comme protecteur de la contamination par les espèces fongiques filamenteuses (Sudfeld *et Coll*, 2010). Cependant, nos résultats ne retrouvent pas cet effet protecteur des antifongiques. L'association retrouvée entre les traitements antifongiques et la présence d'*Aspergillus fumigatus* s'explique par le fait que les patients traités sont des patients déjà contaminés.

L'utilisation au long court d'azithromycine n'a pas beaucoup été étudiée dans les publications antérieures. Chez les adultes, il n'y a pas à notre connaissance d'association prouvée entre une cure au long terme et une colonisation fongique. En revanche chez les enfants, le traitement au long court par cet antibiotique s'est révélé être associé à la colonisation aspergillaire (Jubin *et Coll*, 2010). Les chercheurs expliquent ce phénomène par une possible inhibition de l'antibiotique sur le recrutement et sur l'activation des neutrophiles qui sont la première ligne de défense contre l'*Aspergillus*. Nos résultats vont dans le même sens que cette étude chez les adultes. En effet, ils suggèrent que la prise au long court d'azithromycine au sein de cette population de patients favorise la colonisation aspergillaire.

D'après les travaux précédemment effectués par Sudfeld et son équipe, le facteur de risque le plus important pour la contamination par les espèces filamenteuses est la dégradation pulmonaire. En effet, leurs analyses statistiques révèlent que pour une chute de 10% du VEMS, le risque d'être contaminé par des champignons filamenteux augmente de 5%. Par contre, il n'a pas pu être démontré si c'était l'isolation de champignons qui contribuait à la dégradation de la fonction pulmonaire, ou si c'était seulement un marqueur de maladies plus sévères des poumons et d'une prise en charge thérapeutique agressive (Sudfeld *et Coll*, 2010). Les résultats de l'étude menée par Amin *et Coll* en 2010 vont dans le même sens étant donné qu'ils suggèrent que la contamination par *A. fumigatus* est associée à la dégradation de la fonction pulmonaire, surtout lorsque *P. aeruginosa* est présent (Mogayzel *et Coll*, 2011). En revanche, Vrankrijker *et Coll* ont des résultats opposés. D'après eux, *A. fumigatus* n'est pas associé à un déclin plus rapide de la fonction pulmonaire (Mogayzel *et Coll*, 2011).

L'analyse statistique n'a pas donné de résultats concluants sur cette association.

Bien que nous n'ayons pas étudié ce paramètre, il a été rapporté dans une étude française récente que la présence fongique était significativement associée à une corticothérapie inhalée, notamment pour les espèces filamenteuses. Pour ces chercheurs, ce type de traitement aurait alors un rôle favorisant sur la colonisation fongique (Grunderbeeck *et Coll*, 2010). En revanche, dans une étude américaine, les mycologues ont mis en évidence

l'affirmation contraire, c'est à dire que les corticoïdes inhalés ont un rôle protecteur vis à vis de la contamination fongique (Sudfeld *et Coll*, 2010).

Ces différentes études mènent donc à des interrogations quant à la place des corticoïdes dans la prise en charge de la mucoviscidose.

6.3 Associations entre les espèces fongiques et bactériennes

6.3.1 *Aspergillus fumigatus*

6.3.1.1 *Aspergillus fumigatus* et *Scedosporium apiospermum*

Ces deux espèces fongiques filamenteuses sont majoritairement isolées dans les sécrétions des patients atteints de mucoviscidose. Elles ont la capacité de coloniser chroniquement les voies aériennes (Blyth *et Coll*, 2010a). Il semblerait que des altérations préalables du tractus respiratoire, particulièrement celles occasionnées par *A. fumigatus*, soient nécessaires à la colonisation par *S. apiospermum* (Cimon *et Coll*, 2000 ; Pihet *et Coll*, 2009). De nombreuses études soulignent la présence simultanée ou postérieure d'une espèce fongique par rapport à l'autre. Cimon *et Coll* en 2000 décrivent une colonisation par *S. apiospermum* chez les patients étant déjà colonisés par *A. fumigatus*. Pihet *et Coll* dans leur étude parue en 2009 affirment que chez 10 patients colonisés sur 11, *S. apiospermum* est isolé en même temps que *A. fumigatus*. De plus, Paugam *et Coll* en 2010 ont remarqué que les patients colonisés par *A. fumigatus* avaient une plus grande prévalence de *Scedosporium* que ceux qui n'étaient pas colonisés par *A. fumigatus* : 16,6% versus 8%. Quant à Blyth *et Coll* (2010b), ils décrivent un taux d'isolement du genre *Scedosporium* s'élevant jusqu'à 17,4%. De plus, 83% de ces patients étaient co-infectés par d'autres champignons, notamment *A. fumigatus*. Dans une étude parallèle, ils identifient que les espèces aspergillaires sont plus fréquentes dans les crachats contenant des *Scedosporium* (78,1%) que dans les crachats contenant des *Penicillium* (33%).

Notre étude va dans le même sens que les travaux précédemment effectués grâce à l'association significative que nous avons mis en évidence entre ces deux espèces fongiques. Nos résultats suggèrent en effet que la colonisation par *Scedosporium* se ferait plus chez des patients déjà colonisés par *Aspergillus*.

6.3.1.2 *Aspergillus fumigatus* et *Pseudomonas aeruginosa*

Nous nous sommes interrogés sur une potentielle affinité entre *A. fumigatus* et *P. aeruginosa*. Les analyses statistiques révèlent un résultat insuffisamment significatif ($p = 0,07$). Elles suggèrent cependant que le fait d'être contaminé par cette bactérie favoriserait la colonisation des patients par *A. fumigatus*. Cette association approchant ici la significativité a déjà été décrite dans la littérature: Paugam *et Coll* montrent que l'isolement d'*A. fumigatus* est plus fréquent chez les patients colonisés par *P. aeruginosa*. Ils affirment que la présence de *P. aeruginosa* est un facteur de risque à développer une infection à *A. fumigatus*. Leur association est fréquente : 64,2% dans une étude de Bakare *et Coll* en 2003 cité par Whittaker Leclair *et Coll*. A Rouen, nous avons comparé les pourcentages d'association d'*A. fumigatus* et de *P. aeruginosa*. Nous avons donc 64% de patients colonisés à la fois par *P. aeruginosa* non mucoïde et *A. fumigatus* contre 53% de patients infectés par *P. aeruginosa* mucoïde et *A. fumigatus*.

Pour expliquer cette association, il a été suggéré que le biofilm formé par *P. aeruginosa* dans les voies respiratoires pourrait faciliter la colonisation par *A. fumigatus* (Paugam *et Coll*, 2010).

6.3.1.3 *Aspergillus fumigatus* et *Stenotrophomonas maltophilia*

Nous avons retrouvé dans notre étude une très forte association entre ces deux espèces. Elle a déjà été évoquée dans la littérature par plusieurs auteurs. En effet, Bakare *et Coll* remarquent que tous les patients contaminés par le complexe *B. cepacia* ou *S. maltophilia* ont également *A. fumigatus* dans leurs crachats au moins une fois durant la période prise en compte et supposent une association (Whittaker Leclair *et Coll*, 2010).

Marchac *et Coll* ont mis également en évidence une association entre la présence d'*A. fumigatus* et *S. maltophilia*. Dans cette étude comprenant 63 patients, *A. fumigatus* fut retrouvé chez 51% des patients contaminés par *S. maltophilia* contre 9% chez les patients non contaminés par *S. maltophilia* avec un $p < 0,001$ (Whittaker Leclair *et Coll*, 2010). Nos chiffres sont plus élevés : 96% des patients colonisés par *S. maltophilia* le sont également par *A. fumigatus* alors que 59% des patients non infectés par cette bactérie le sont par *A. fumigatus*. Mais l'hypothèse que *S. maltophilia* favoriserait la colonisation par *A. fumigatus* semble rejoindre celles émises par les auteurs précédemment.

6.3.1.4 Aspergillus fumigatus et mycobactéries

Il a été évoqué une association entre *A. fumigatus* et les mycobactéries (Paugam *et Coll*, 2010). Dans cette étude, les chercheurs ont remarqué que les patients positifs à mycobactéries non tuberculeuses représentaient 13,1% des patients porteurs d'*A. fumigatus* versus 4,6% des patients non porteurs d'*Aspergillus fumigatus* ($p = 0,05$). Nous n'avons pas mis en évidence d'affinité particulière entre ces deux espèces pathogènes.

6.3.2 *Scedosporium apiospermum*

6.3.2.1 Scedosporium apiospermum et Pseudomonas aeruginosa

D'après une étude australienne en 2010, les patients colonisés ou infectés par *P. aeruginosa* mucoïde auraient moins de risque d'être colonisés par *Scedosporium* que les sujets non colonisés par cette bactérie. *P. aeruginosa* serait donc considéré comme un agent protecteur de la colonisation par *S. apiospermum*. En revanche, *P. aeruginosa* non mucoïde n'a pas démontré d'influence sur ce champignon (Blyth *et Coll*, 2010b).

Contrairement à cette étude, nous avons relevé une association entre *Scedosporium* et *P. aeruginosa* non mucoïde. En effet, nous mettons en évidence que le fait d'être colonisé

par *P. aeruginosa* non mucoïde serait un facteur favorisant le développement d'une infection par *S. apiospermum*.

6.3.2.2 *Scedosporium* et *Staphylococcus aureus* méti-R

Une possible association entre l'absence de *Scedosporium* et la présence de *S. aureus* méti-R est envisageable ($p = 0,06$). Nos résultats suggèrent que *S. aureus* méti-R aurait un effet protecteur vis à vis d'une colonisation ultérieure par *S. apiospermum*. Cependant, aucune association n'a été évoquée dans la littérature à notre connaissance entre ces deux germes.

6.3.3 *Geosmithia argillacea*

G. argillacea a fait l'objet d'une étude en 2010 par Giraud *et Coll.* Elle inclut 8 patients colonisés chroniquement par ce champignon. Chez 7 d'entre eux, on retrouve une colonisation chronique à *S. aureus*. La colonisation par le champignon avait lieu après l'infestation par diverses bactéries. De ce fait, on suppose que des lésions épithéliales causées par une colonisation chronique bactérienne seraient nécessaires à l'établissement de *G. argillacea* dans les voies respiratoires (Giraud *et Coll.*, 2010).

Dans notre étude, nous avons également trouvé une association entre *G. argillacea* et *S. aureus*. Contrairement aux travaux de Giraud *et Coll.*, nous avons différencié les souches méti-R et méti-S. Ce sont en effet les souches méti-R qui semblent favoriser la présence du champignon dans les voies respiratoires.

Etant donné l'émergence de ce pathogène dans la mucoviscidose, il serait intéressant de mener une étude plus large incluant un plus grand nombre de patients afin d'observer l'influence des bactéries sur la colonisation par *Geosmithia*.

6.4 Intérêts, limites de l'étude et perspectives de recherche

Le but de cette étude était de réaliser une « photographie » de la colonisation fongique chez la population rouennaise du CRCM, de mettre en avant les espèces fongiques majoritaires ainsi que les bactéries importantes dans le cadre de la mucoviscidose.

Notre étude rassemble 73 patients, ce qui peut paraître peu en comparaison de certaines études qui se chiffrent par centaines de patients. Cependant, la durée sur six ans nous permet d'avoir un nombre conséquent de prélèvements. Nous n'avons considéré que les adultes, ce qui réduit aussi la population étudiée mais a l'avantage de se concentrer sur une catégorie spécifique de patients et d'étudier des paramètres propres aux adultes. Les résultats auraient probablement été différents si nous avions réuni les deux populations. C'est un choix que nous avons fait étant donnée l'augmentation de l'espérance de vie et de la survie des patients adultes.

Des associations publiées dans la littérature ont été mises en évidence, ce qui reflète l'intérêt de notre étude. Des associations non évoquées auparavant à notre connaissance telles que *C. glabrata* et diabète ou *A. versicolor* et IMC motiveraient des travaux ultérieurs plus approfondis malgré la faible fréquence de ces champignons et leur pouvoir pathogène peu connu.

Les germes diffèrent selon leur situation géographique. A Rouen, les taux d'isolement de certains champignons étaient trop faibles pour être analysés statistiquement. De ce fait, certaines espèces intéressantes n'ont pas pu être étudiées telles que *B. cepacia*, *E. dermatitidis*, *A. niger*, *A. flavus* ou insuffisamment comme *G. argillacea*. Ces pathogènes émergents sont peu connus et nécessitent un approfondissement des connaissances afin de déterminer leur dangerosité vis à vis des patients atteints de mucoviscidose.

Enfin, certains paramètres n'ont pas été inclus dans cette étude, comme l'utilisation de corticoïdes inhalés qui est très controversée dans la littérature, ou la prise orale

d'antibiotiques. De plus, nous n'avons pas pris en compte l'impact des champignons sur la réponse immunitaire des patients. Il serait intéressant de mener des études statistiques permettant d'associer ces éléments à la présence fongique chez les patients suivis au CHU de Rouen.

Faute de données suffisantes, d'autres éléments n'ont pas pu être exploités tels que la cirrhose pouvant être développée par le patient malade, le prolapsus rectal parfois associé à la maladie ou encore le score de Schwachman qui évalue la gravité de la pathologie. Leur association à la colonisation fongique et la maladie est incertain et justifierait une analyse statistique ultérieure.

7 CONCLUSION

La détérioration de la fonction respiratoire, associée à l'intensité de colonisation et de surinfections broncho-pulmonaires, conditionne le pronostic des patients atteints de mucoviscidose. La colonisation par la flore fongique est bien moins connue que la colonisation bactérienne malgré la place importante des champignons dans cette maladie. Cette contamination conduit à des répercussions pouvant être sévères et joue un rôle majeur dans l'évolution de la maladie. C'est pourquoi il est crucial d'améliorer nos connaissances concernant ces pathogènes pour une meilleure prise en charge du patient, l'amélioration de sa qualité de vie et sa survie.

De nombreuses études ont été menées afin de mettre en évidence le rôle pathogène des champignons ainsi que leurs effets vis à vis de différents aspects cliniques propres à la mucoviscidose tels que le diabète, l'état pancréatique, la fonction respiratoire, ou non spécifiques comme l'âge, le poids, le sexe. Des travaux comparatifs entre la colonisation fongique et les traitements thérapeutiques utilisés ont été également menés, aboutissant à des résultats divergeants.

Nous avons pensé qu'il était pertinent de situer les patients atteints de mucoviscidose et suivis au CHU de Rouen par rapport aux études précédemment publiées. Des associations intéressantes reliant les populations fongiques entre elles (*Aspergillus* et *Scedosporium*) ou avec les espèces bactériennes (*Geosmithia* et *Staphylococcus aureus*, *Scedosporium* et *Pseudomonas aeruginosa*) ressortant de l'étude sont confortées par des publications antérieures. En revanche, les résultats de la comparaison avec les paramètres cliniques tels que le diabète ou le VEMS sont surprenants et mériteraient d'être approfondis car ils diffèrent des hypothèses précédemment formulées.

Il serait intéressant d'élargir ce travail en étudiant ces données par rapport à une population plus importante afin d'être plus précis dans les analyses statistiques. Nous n'avons pris en compte que la population adulte du CHU de Rouen. Selon l'âge des patients, les colonisations fongiques et bactériennes sont différentes, ainsi que les manifestations cliniques de la mucoviscidose. Comparer les patients adultes aux enfants du CHU de Rouen pourrait faire l'objet d'une étude postérieure. Prendre en compte les corticoïdes inhalés semblerait également intéressant étant donnée la divergence des récentes publications afin d'évaluer la place de cette thérapeutique dans la mucoviscidose.

8 BIBLIOGRAPHIE

➤ Liens internet

1. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry :
<http://www.cff.org/UploadedFiles/LivingWithCF/CareCenterNetwork/PatientRegistry/2010-Patient-Registry-Report.pdf>
2. HAS. Le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose en France : état des lieux et perspectives après cinq ans de fonctionnement. Janvier 2009.
http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-04/rapport_depistage_neonatal_systematique_de_la_mucoviscidose_en_france.pdf
3. La mucoviscidose et le gène CFTR :
http://chronos.activeweb.fr/QuickPlace/accesmad/PageLibrary85256EA100360389.nsf/h_Index/854A3E6C1F9C317C8525714700566016/
4. Langeard C, Minguet G, Guéganton L, Cam P, Faquet C, Lombrail P, Rault G. Le dépistage néonatal de la mucoviscidose en France : un objet de controverses bioéthiques
http://www.centre-referance-muco-nantes.fr/downloads/AnnDiag/AnnDiag_Namur_Mai2010.pdf
5. Orphanet :
www.orpha.net/static/FR/mucoviscidose.html (article de Gabriel Bellon).
6. Registre Français de la Mucoviscidose. Bilan des données 2009.
http://www.vaincrelamuco.org/e_upload/pdf/rapport_registre_2009.pdf

➤ Thèses d'exercice

7. Thèse d'exercice Cruyppenninck C. Evaluation et prise en charge du risque fongique chez le patient atteint de mucoviscidose. 2010.
8. Thèse d'exercice Poirier B. Epidémiologie des colonisations et infections fongiques dans la mucoviscidose : Etude chez les patients suivis au CRCM sur une période de 7 ans. 2008.

➤ Articles

9. Amin R, Dupuis A, Aaron SD, Ratjen F. The effect of chronic infection with *Aspergillus fumigatus* on lung function and hospitalization in patients with cystic fibrosis. 2010. *Chest*. Volume 137. Pages 171–176.
10. Bakare N, Rickerts V, Bargon J, Just-Nübling G. Prevalence of *Aspergillus fumigatus* and other fungal species in the sputum of adult patients with cystic fibrosis. 2003. *Mycoses*. Volume 46. Pages 19-23.
- 11a. Blyth CC, Harun A, Middleton PG, Sleiman S, Lee O, Sorrell TC, Meyer W, Chen SCA. Detection of occult *Scedosporium* species in respiratory tract specimens from patients with cystic fibrosis by use of selective media. 2010. *Journal of Clinical Microbiology*. Volume 48. N°1. Pages 314-316.
- 11b. Blyth C, Middleton P, Harun A, Sorrell T, Meyer W, Chen S. Clinical associations and prevalence of *Scedosporium spp.* in Australian cystic fibrosis patients : identification of novel risk factors ? 2010. *Medical Mycology*. Volume 48. Suppl1. Pages 37-44.
12. Bouchara JP, Yi Hsieh H, Croquefer S, Barton R, Marchais V, Pihet M, Chang T. Development of an oligonucleotide array for direct detection of fungi in sputum samples from patients with cystic fibrosis. Janvier 2009. *Journal of clinical microbiology*. Volume 47. N°1. Pages 142-152.
13. Burns JL, Van Daltsen JM, Shawar RM, Otto KL, Garber RL, Quan JM, Montgomery AB, Albers GM, Ramsey BW, Smith AL. Effect of chronic intermittent administration of inhaled tobramycin on respiratory microbial flora in patients with cystic fibrosis. 1999. *The journal of infectious diseases*. Volume 179. Pages 1190-1196
14. Cimon B, Carrère J, Vinatier JF, Chazalotte JP, Chabasse D, Bouchara JP. Clinical significance of *Scedosporium apiospermum* in patients with cystic fibrosis. 2000. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Volume 19. Pages 53-56.
15. Cimon B, Chabasse D, Bouchara JP. Rôle des champignons dans la pathologie respiratoire au cours de la mucoviscidose. 2007. *Revue Francophone des Laboratoires*. N°397. Pages 59-64.
16. Chinet T, Blouquit S. Génétique et biologie cellulaire de la mucoviscidose. 2003. *La Revue du Praticien*. Tome 53. N°2. Pages 130-134.
17. Chotirmall SH, Greene CM, McElvaney NG. *Candida* species in cystic fibrosis: A road less travelled. 2010. *Medical Mycology*. Volume 48. Suppl1. S114-S124.

18. Couturaud F. *Aspergillus* et poumon. 2004. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*. Volume 44. Pages 83-88.
19. Deneuve E, Beucher J, Roussey M. Les manifestations respiratoires de la mucoviscidose 2007. *Revue francophone des laboratoires*. N°397. Pages 37-42.
20. Derelle J. Inflammation des voies respiratoires dans la mucoviscidose. 2003. *La revue du praticien*. Tome 53. N°2. Pages 141-144.
21. De Vrankrijker AM, Van der Ent CK, Van Berkhout FT, Stellato RK, Willems RJ, Bonten MJ, Wolfs TF. *Aspergillus fumigatus* colonization in cystic fibrosis: implications for lung function? *Clin Microbiol Infect* (In press)
22. Germaud P. « *Aspergillus* » et système respiratoire. 2005. *EMC-Medecine*. Volume 2. Issue 6. Pages 585-595.
23. Giraud S, Pihet M, Razafimandimby B, Carrère J, Degand N, Mely L, Favennec L, Dannaoui E, Bouchara JP, Calenda A. *Geosmithia argillacea* : an Emerging Pathogen in Patients with Cystic Fibrosis. 2010. *Journal of Clinical Microbiology*. Volume 48. N°7. Pages 2381-2386.
24. Hubert D. Mucoviscidose de l'adulte. 2003. *La revue du praticien*. Tome 53. N°2. Pages 158-162.
25. Jubin V, Ranque S, Stremmer Le bel N, Sarles J, Dubus JC. Risk factors for *Aspergillus* colonization and Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis in children with cystic fibrosis. 2010. *Pediatric Pulmonology*. Volume 45. Pages 764-771.
26. Kondori N, Gilljam M, Lindblad A, Jönsson B, Moore E, Wenneras C. High rate of *Exophiala dermatitidis* recovery in the airways of patients with cystic fibrosis is associated with pancreatic insufficiency. 2011. *Journal of clinical microbiology*. Volume 49. N°3. Pages 1004-1009.
27. Krishnan S, Manavathu Elias K, Chandrasekar PH. *Aspergillus flavus*: an emerging non-fumigatus *Aspergillus* species of significance. 2009. *Mycoses*. Volume 52. Issue 3. Pages 206-222.
28. Latgé JP. The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. 2001. *Trends in Microbiology*. Volume 9. N°8. Pages 382-389.

29. Lebecque P, Leonard A, Huang D, Reychler G, Boeras A, Leal T, Symoens F. *Exophiala (Wangiella) dermatitidis* and cystic fibrosis – prevalence and risk factors. 2010. *Medical Mycology*. Volume 48. Suppl1. S4-S9.
30. Le Bourgeois M, Sermet I, Bailly-Botuha C, Delacourt C, De Blic J. Infections fongiques au cours de la mucoviscidose. 2011. *Archives de Pédiatrie*. Tome 18. Pages 15-21.
31. Le Bourgeois M, Sermet-Gaudelus I, Catherinot E, Gaillard JL. Mycobactéries atypiques et mucoviscidose. 2005. *Archives de pédiatrie*. S117-S121.
32. Lenoir G, Vrielynck S, Clairicia M, Afsa Fezaa D, Sorina M, Sermet-Gaudelusa I. Infection bactérienne et mucoviscidose. 2007. *Revue francophone des laboratoires*. N°397. Pages 49-57.
33. Lipuma J. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. 2010. *Clinical Microbiology Reviews*. Volume 23. N°2. Pages 299-323.
34. Looney WJ, Narita M, Mühlemann K. *Stenotrophomonas maltophilia* : an emerging opportunist human pathogen. 2009. *Lancet infectious diseases*. Volume 9. Pages 312-323.
35. Marchac V, Equi A, Le Bihan-Benjamin C, Hodson M, Bush A. Case-control study of *Stenotrophomonas maltophilia* acquisition in cystic fibrosis patients. 2004. *European Respiratory Journal*. Volume 23. Pages 98–102.
36. Mariani-Kurkdjian P, Bingen E. Bactéries pathogènes dans la mucoviscidose. 2003. *Archives de pédiatrie*. Volume 10. Suppl2. S342-S346.
37. Mogayzel PJ, Flume PA. Update in cystic fibrosis 2010. 2011. *American journal of respiratory and critical care medicine*. Volume 183. Pages 1620-1624
38. Munck A, Bingen E. Surinfections bronchiques dans la mucoviscidose. 2003. *La revue du praticien*. Tome 53. N°2. Pages 145-149.
39. Paugam A, Baixench MT, Demazes-Dufeu N, Burgel PR, Sauter E, Kanaan R, Dusser D, Dupouy-Camet J, Hubert D. Characteristics and consequences of airways colonization by filamentous fungi in 201 adults patients with cystic fibrosis in France. 2010. *Medical Mycology*. Volume 48. Suppl1. Pages 32-36.
40. Pedersen SS, Hoiby N, Espersen F, Koch C. Role of alginate in infection with mucoid *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. 1992. *Thorax*. Volume 47. Pages 6-13.

41. Pihet M, Carrere J, Cimon B, Chabasse D, Delhaes L, Symoens F, Bouchara JP. Occurrence and relevance of filamentous fungi in respiratory secretions of patients with cystic fibrosis - a review. 2009. *Medical Mycology*. Volume 47. Pages 387-397.
42. Ren C, Morgan W, Konstan M, Schechter M, Wagener J, Fisher K, Regelmann W. Presence of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in respiratory cultures from cystic fibrosis patients is associated with lower lung function. 2007. *Pediatric Pulmonology*. Volume 42. Pages 513-518.
43. Roussey M. Spécificité du programme français de prise en charge de la mucoviscidose. 2010. *Le concours médical*. Tome 132. N°15-16. Pages 636-639.
44. Roux AL, Herrmann JL, Gaillard JL, Rottman M. *Mycobacterium abscessus*, pathogène émergent dans la mucoviscidose. 2010. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*. Volume 25. Pages 26-33.
45. Sermet-Gaudelus I, Le Bourgeois M, De Blic J, Lenoir G, Edelman A. Nouvelles thérapies dans la mucoviscidose en 2011. 2011. *Archives de Pédiatrie*. Tome 18. Pages 69-70.
46. Sudfeld C, Dasenbrook E, Merz W, Carroll K, Boyle M. Prevalence and risk factors for recovery of filamentous fungi in individuals with cystic fibrosis. 2010. *Journal of cystic fibrosis*. Volume 9. Pages 110-116.
47. Turck D, Michaud L, Wizla-Derambure N. Atteintes digestives dans la mucoviscidose et prise en charge nutritionnelle. 2003. *La revue du praticien*. Tome 53. N°2. Pages 151-156.
48. Van Grunderbeeck N, Conseil V, Leroy S, Wallaert B, Delhaes L. Le risque fongique dans la mucoviscidose : étude pilote. 2010. *Annales de biologie clinique*. Volume 68. N°2. Pages 157-162.
49. Whittaker Leclair L, Hogan D. Mixed bacterial-fungal infections in the CF respiratory tract. 2010. *Medical Mycology*. Volume 48. Suppl1. Pages 125-132.

9 ANNEXES

Annexe 1 64
Annexe 2 73
Annexe 3 74
Annexe 4 75
Annexe 5 76

Annexe 1 : Tableau des espèces fongiques colonisant les patients du CHU de

Rouen

Espèces fongiques isolées	Nombre de patients colonisés	Pourcentage de la population totale
<i>Aspergillus fumigatus</i>	54	74
<i>Aspergillus versicolor</i>	9	12,3
<i>Aspergillus niger</i>	1	1,4
<i>Aspergillus terreus</i>	5	6,8
<i>Aspergillus flavus</i>	3	4,2
<i>Aspergillus ornatus</i>	1	1,4
<i>Aspergillus ochraceus</i>	1	1,4
<i>Aspergillus nidulans</i>	3	4,2
<i>Aspergillus glaucus</i>	2	2,7
<i>Scedosporium apiospermum</i>	9	12,3
<i>Geotrichum sp.</i>	9	12,3
<i>Cladosporium sp.</i>	7	9,6
<i>Alternaria sp.</i>	2	2,7
<i>Geosmithia argillacea</i>	1	1,4
<i>Penicillium thermosensibile</i>	13	17,8
<i>Penicillium thermorésistant</i>	5	6,8
<i>Candida albicans</i>	60	82,2
<i>Candida glabrata</i>	4	5,5
<i>Candida tropicalis</i>	2	2,7
<i>Candida kefyr</i>	5	6,8
<i>Candida lipolytica</i>	5	6,8
<i>Candida parapsilosis</i>	4	5,5
<i>Candida krusei</i>	1	1,4
<i>Candida sake</i>	1	1,4

<i>Candida pulcherima</i>	1	1,4
<i>Candida famata</i>	1	1,4
<i>Candida non albicans</i>	8	11
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3	4,2
<i>Fusarium sp.</i>	3	4,2
<i>Kloeckera sp.</i>	1	1,4
<i>Trichoderma viride</i>	5	6,8
<i>Paecilomyces variotti</i>	4	5,5
<i>Ulocladium sp.</i>	1	1,4
<i>Exophiala sp.</i>	2	2,7
<i>Chrysosporium sp.</i>	2	2,7
<i>Cunninghamella sp</i>	1	1,4
<i>Acremonium sp.</i>	2	2,7
<i>Phialophora sp.</i>	1	1,4

**Annexe 2 : Tableau représentant les patients en fonction du nombre d'années
au cours desquelles ils furent traités par des cures d'antibiotiques
intraveineux**

Nombre d'années avec au moins une cure d'antibiotique intraveineuse	Nombre de patients concernés	Pourcentage par rapport à la population étudiée (56 patients)
1	13	23%
2	10	18%
3	10	18%
4	8	14%
5	8	14%
6	7	13%

**Annexe 3 : Tableau représentant les patients en fonction du nombre d'années
au cours desquelles ils furent traités par des cures d'azithromycine**

Nombre d'années avec au moins une cure d'azithromycine	Nombre de patients concernés	Pourcentage par rapport à la population étudiée (57 patients)
1	8	14%
2	12	21%
3	6	11%
4	4	7%
5	9	16%
6	18	32%

**Annexe 4 : Tableau représentant les patients en fonction du nombre d'années
au cours desquelles ils furent traités par des cures d'antibiotiques inhalés**

Nombre d'années avec au moins une cure d'antibiotiques inhalés	Nombre de patients concernés	Nombre d'années de bithérapie parmi les patients traités	Nombre de patients concernés
1	9	1	8
2	9	2	12
3	9	3	2
4	8	4	1
5	6	5	1
6	9	6	2

**Annexe 5 : Tableau représentant les patients en fonction du nombre d'années
au cours desquelles ils reçurent des traitements antifongiques**

Nombre d'années de traitements antifongiques	Nombre de patients concernés	Pourcentage par rapport à la population totale
0	18	25,4%
1	8	11,3%
2	12	16,9%
3	6	8,5%
4	13	18,3%
5	5	7%
6	9	12,7%

Nom - Prénom de l'étudiant :

Nom du Président de Jury :

Date de soutenance de la thèse :

Mention :

VU, le Président de Jury,

VU, le Directeur de la Section Pharmacie de l'U.F.R.

Médecine-Pharmacie de ROUEN,

U.F.R. DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN
THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

GALLO Marine, 2012

Titre de la thèse : Etude de la colonisation fongique chez les patients adultes atteints de mucoviscidose au CHU de Rouen entre 2005 et 2010.

Mots-clés : Mucoviscidose - Colonisation - Champignons - *Aspergillus fumigatus* - *Scedosporium apiospermum* - *Pseudomonas aeruginosa* - *Staphylococcus aureus*

Résumé : Les infections broncho-pulmonaires représentent un problème majeur chez les patients atteints de mucoviscidose quant à l'évolution de la maladie. Les facteurs de risque de survenue des infections et/ou colonisations fongiques ne sont à ce jour pas clairement défini. *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* sont les espèces les plus fréquentes colonisant les voies respiratoires de ces patients. Ces dernières années, certains champignons tels que *Scedosporium apiospermum*, *Exophiala dermatitidis*, *Aspergillus terreus* se sont révélés pathogènes pour le patient atteint de mucoviscidose. En outre, d'autres espèces fongiques comme *Scedosporium prolificans*, *Aspergillus flavus*, *Geosmithia argillacea* apparaissent émergentes et suscitent actuellement de nombreuses recherches.

Cette étude a été menée chez les patients adultes du CRCM de Rouen dans le but de décrire la population fongique. Elle confirme qu'*A. fumigatus* (74%) ainsi que *Candida albicans* (82%) sont les espèces les plus fréquentes colonisant les voies respiratoires de ces patients. Une proportion notable de *S. apiospermum* (12%), *A. versicolor* (12%), *A. terreus* (6,8%) colonise également les patients de Rouen.

Par ailleurs, nous avons recherché l'existence d'associations entre la colonisation fongique et des paramètres cliniques, thérapeutiques et la colonisation par des pathogènes bactériens. Ainsi, dans notre population adulte, *C. glabrata* est associé à la présence d'un diabète, *A. fumigatus* à la présence d'une insuffisance pancréatique. En outre, les antibiotiques inhalés favoriseraient la colonisation par *S. apiospermum* et l'usage au long court d'azithromycine avantagerait la croissance d'*A. fumigatus* dans les voies respiratoires. La recherche d'associations entre les populations fongiques et bactériennes a aussi été concluante : *A. fumigatus* est plus fréquemment rencontré chez les patients colonisés par *S. maltophilia*, par *P. aeruginosa*. *S. apiospermum* est aussi plus fréquemment rencontré chez les patients colonisés par *S. maltophilia*, par *P. aeruginosa*, et par ceux colonisés par *A. fumigatus*.