



Etude du profil génétique des souches de *Candida* isolées au Sénégal

Sow D, Dieng Y, Ndiaye M, Faye B, Guichet E, Ndiaye JL, Tine RC, Sylla K, Gaye O.

Service de Parasitologie-Mycologie, FMPOS, UCAD



CONTEXTE ET PROBLEMATIQUE

- Candidoses: infections fongiques dont la fréquence a augmenté
- *Candida albicans*: espèce la plus fréquente et la plus pathogène
- Émergence d' autres espèces **pathogènes** et **résistants** aux antifongiques:
 - *Candida dubliniensis et africana*
 - Espèces difficiles à différencier de *C albicans* avec les techniques de routine
- Au Sénégal:
 - Part réelle des candidoses dans les infections génitales, oropharyngées....?
 - Profil génétique des espèces circulantes?
 - Sensibilité aux antifongiques?



OBJECTIFS

GÉNÉRAL: Caractériser le profil génétique des espèces de *Candida* au Sénégal.

SPÉCIFIQUES:

- ✓ Identifier les souches de *Candida* au niveau des sites infectieux par les techniques phénotypiques
- ✓ Identifier les espèces par les techniques de biologie moléculaire.
- ✓ Etudier la sensibilité aux antifongiques



MÉTHODOLOGIE 1

CADRE DE L'ÉTUDE :

- ❖ Parasitologie-Mycologie du CHNU de Fann.
- ❖ PCR : département de Parasitologie de l'UCAD.
- ❖ Sites de prélèvements :
 - ✓ Service bucco dentaire, ORL, maladies infectieuses (CHNU de Fann)
 - ✓ Laboratoire de biologie du CHR de Thiès



MÉTHODOLOGIE 2

TYPE D'ÉTUDE

- Étude prospective descriptive
- Période : Début 2012

Fin probable: Décembre 2014.

CRITÈRE D'INCLUSION :

Patients vus en consultation ou hospitalisés présentant des lésions suspectes de candidoses en fonction du site.

ÉCHANTILLONNAGE ET TAILLE D'ÉCHANTILLON

- Prévalence globale des infections à Candida à 25%
- Précision de 10%
- Niveau de confiance à 95%
- Puissance statistique à 90%

n= 350.



MÉTHODOLOGIE 3

COLLECTE DE DONNÉES:

❖ Outils de collecte

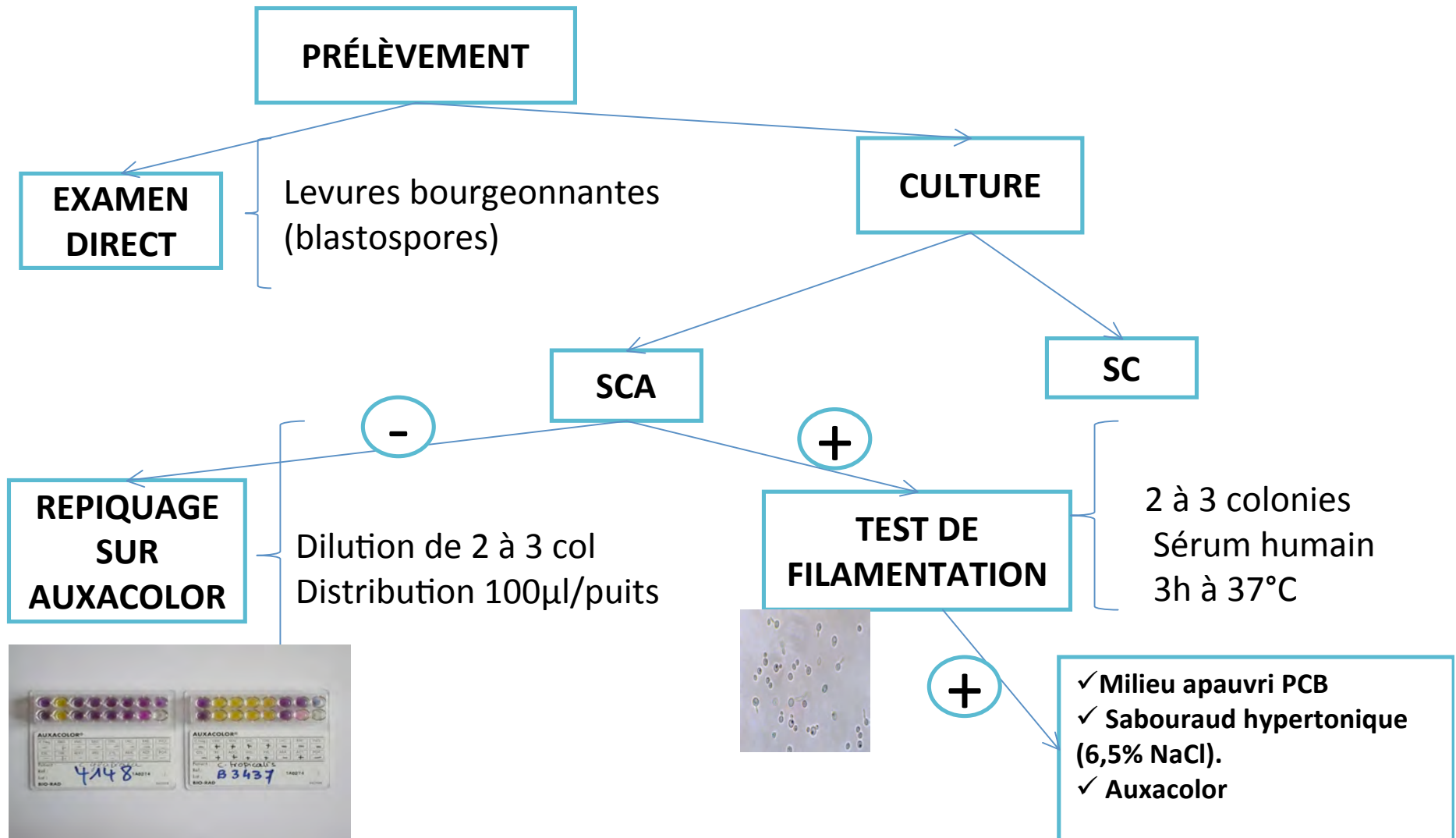
- ✓ Questionnaire d'enquête
- ✓ Registre de pailleasse.

❖ Prélèvements

- ✓ Écouvillonnage.
- ✓ Transport direct au laboratoire
- ✓ Manipulation immédiate
- ✓ Conservation: à -20°C pour l'étape PCR

MÉTHODOLOGIE 4

EXAMEN DES PRÉLÈVEMENTS AU LABORATOIRE





MÉTHODOLOGIE 5

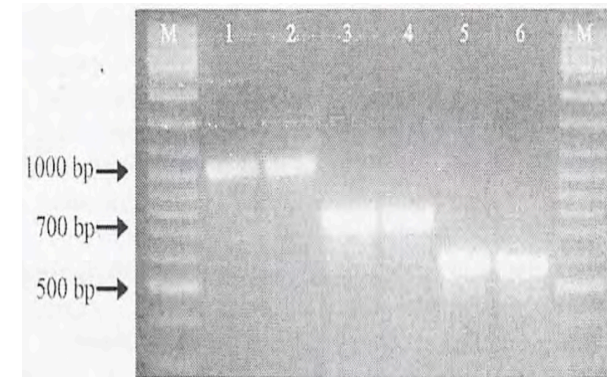
EXAMEN DES PRÉLÈVEMENTS AU LABORATOIRE

Étape de la PCR

- ✓ gene *hwp1* (Romeo et al. 2008)
- ✓ Extraction: 1 col dans le Mix
- ✓ Couple d'amorces
- ✓ Amplification: thermocycleur
- ✓ Électrophorèse sur gel d'agarose à 1,3%



Taille attendue



- *C. albicans* (1,2)
- *C. africana* (3,4)
- *C. dublinensis* (5,6)



MÉTHODOLOGIE 6

EXAMEN DES PRÉLÈVEMENTS AU LABORATOIRE

Test de sensibilité aux antifongiques

➤ Mini galerie Fungitest:

- 5-Fluorocytosine (5-FC)
- Amphotéricine B (Am B)
- Fluconazole
- Itraconazole
- Kétoconazole
- Miconazole.





RÉSULTATS 1

- ✓ Au total 243 levures isolées
 - 95% (231/243) provenaient du niveau vaginal
 - 5% (12/243) du niveau oropharyngé.

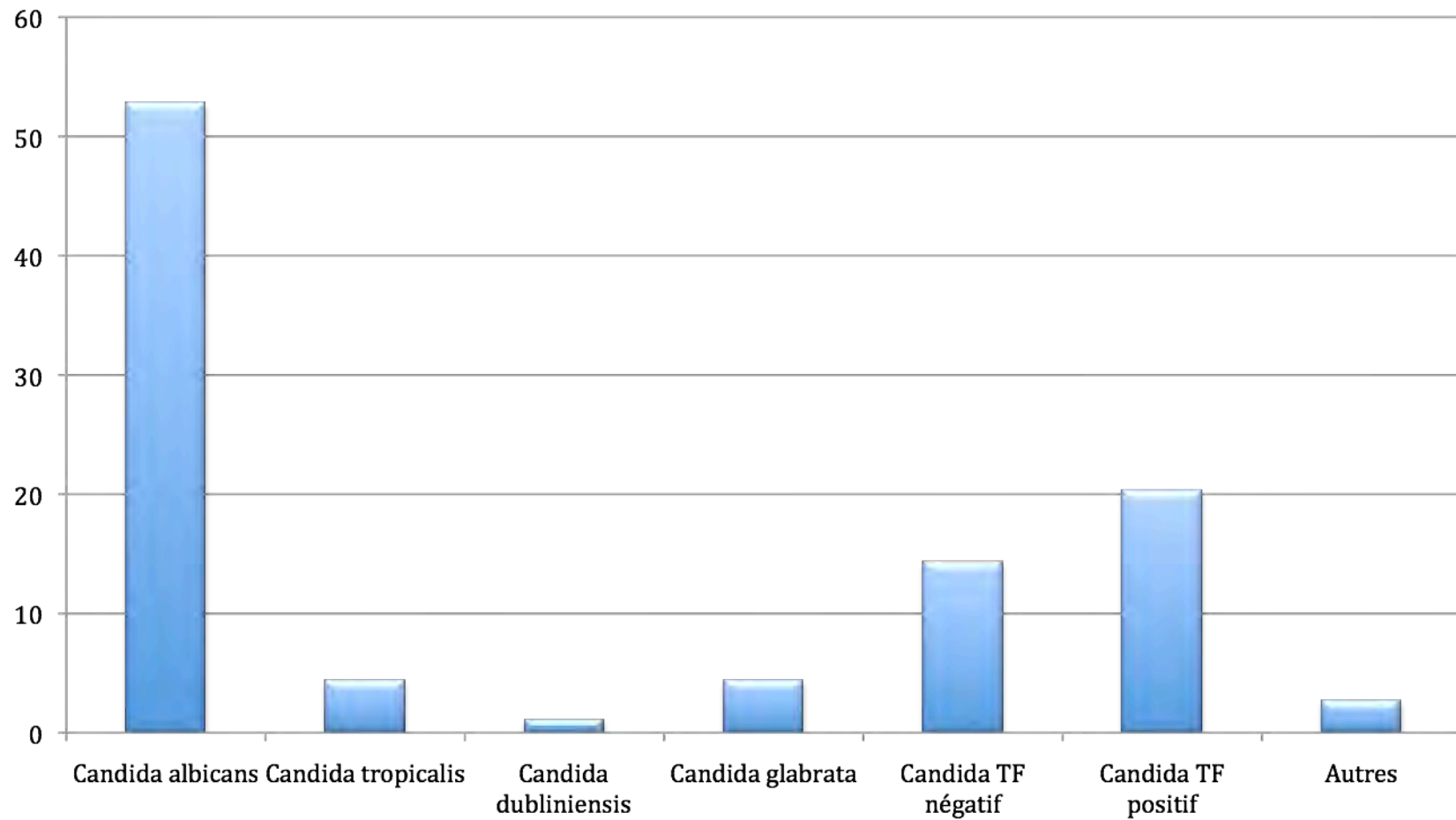
- ✓ âge moyen de $30,5 \pm 9,31$ ans (14 à 57 ans)

- ✓ Examen au spéculum
 - col d'aspect normal chez 75,6%
 - col d'aspect inflammatoire chez 24,4%



RÉSULTATS 2

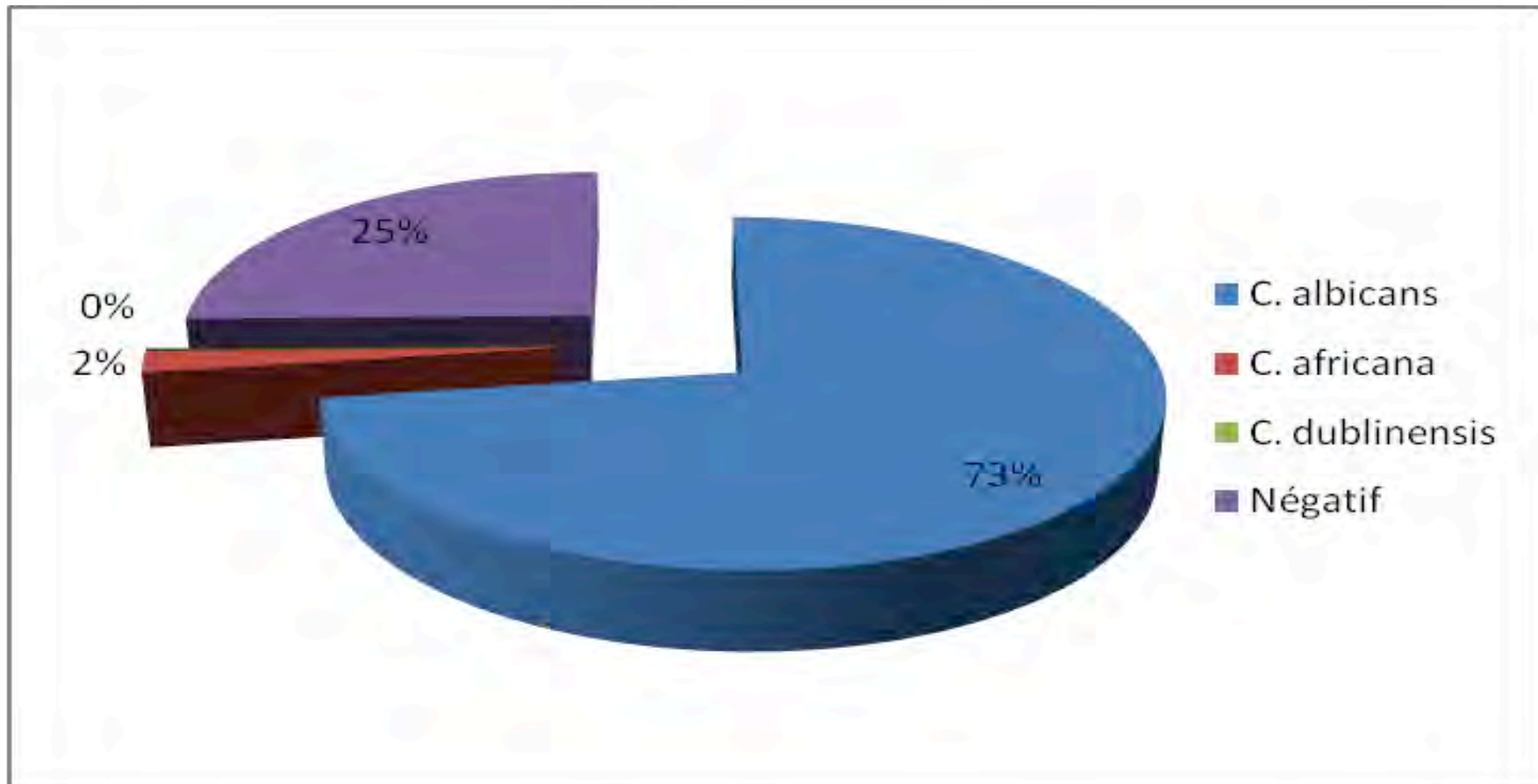
IDENTIFICATION DES SOUCHES À L'AUXANOGRAMME





RÉSULTATS 3

IDENTIFICATION PAR PCR DES 150 SOUCHES DE CANDIDA AVEC TF POSITIF





Caractéristiques des souches de *Candida africana* isolées.

Caractères morphologiques et biochimiques des souches isolées	Souche n 1	Souche n 2	Souche n 3
Pousse sur sabouraud chloramphénicol+ actidione	+	+	+
Nombre de colonies	< 10 colonies	En nappe	10-20 colonies
Test de germination sur sérum	+	+	+
Production de chlamydozoospores	-	-	-
Auxacolor TM 2 Code=	71452	71452	71452
Glucose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Saccharose	+	+	+
Galactose	+	+	+
Lactose	-	-	-
Raffinose	-	-	-
Inositol	-	-	-
Cellobiose	-	-	-
Trehalose	+	+	+
Adonitol	+	+	+
Melezitose	-	-	-
Xylose	+	+	+
Arabinose	-	-	-



COMMENTAIRES

- ❖ Baisse proportion de souches de *Candida albicans* isolées
 - Apparition de nouvelles espèces
 - Meilleur diagnostic microbiologique

- ❖ **Test de filamentation:** ne suffit plus à lui seul pour identifier *C. albicans*.

- ❖ *Candida africana*
 - Souche isolée pour la première fois au Sénégal
 - pathogène: Patientes ont présenté des vaginites.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

- ❖ **PCR** demeure la méthode de référence dans l'identification de *Candida africana*
- ❖ Nécessité de diagnostiquer correctement les espèces pour un traitement adéquat.
- ❖ **Prochaines étapes:**
 - ✓ Poursuivre l'identification moléculaire des espèces issues d'autres sites infectieux
 - ✓ Tester la sensibilité des souches aux différents antifongiques.



REMERCIEMENTS

- ✚ Personnel de la parasitologie du CHNU de Fann et de l'UCAD
- ✚ Equipe du Pr Le Pape, UFR pharmacie de Nantes
- ✚ Service Maladies infectieuses, CHNU Fann
- ✚ Service de la bactériologie, CHNU Fann
- ✚ Service buccodentaire du CHNU Fann
- ✚ Laboratoire central du CHR de Thiès

MERCI DE VOTRE ATTENTION