

**Approche d'une biocontamination fongique en milieu hospitalier :  
Enquête transversale effectuée au niveau du service de réanimation  
néonatale**

**Approach of fungi biocontamination in hospital : Transverse inquiry  
carried out on an intensive care new born unit**

**K. ZAHLANE\*, I. SAHNOUNE\*, Kh.BOUKACHABINE\*\*, A. GOUMI\*,**

\* Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Hôpital d'Enfants, Rabat.

\*\*Laboratoire des Sciences et l'Environnement et du Développement, Faculté des Sciences et Techniques - Settat

Corresponding :

- ZAHLANE Kawtar, Docteur-Pharmacien

E-mail : [koukazahlane@yahoo.fr](mailto:koukazahlane@yahoo.fr)

- BOUKACHABINE Khadija, Professeur de Parasitologie et de Mycologie

E-mail : [boukachabinek@gmail.com](mailto:boukachabinek@gmail.com)

**Remerciements**

*Nos vifs remerciements s'adressent à tout le personnel du Service de Réanimation Néonatale du CHU - Hôpital d'Enfants de Rabat, à savoir le Chef de Service, les Médecins, ainsi que les Infirmiers. Sans leur collaboration, ce travail ne pourrait avoir lieu.*

## Résumé

Il est bien connu que l'exposition à certaines moisissures aéroportées en milieu hospitalier est associée à un risque accru d'infection fongique. La surveillance et l'étude de l'écologie fongique des services cliniques devraient permettre une meilleure compréhension de la physiopathologie de ces infections et une anticipation des phénomènes épidémiques. Dans le présent travail nous avons noté une prévalence des moisissures, dans un milieu de réanimation néonatale de l'hôpital d'enfants de Rabat, importante au niveau de l'air ambiant externe de 100%, interne de 55%, contre 37,50% au niveau des surfaces inertes et de 37,14% chez les patients. Par ailleurs, on note que la composition fongique de l'air externe regroupe les genres *Rhodotorula*, *Scopulariopsis*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium sp.* et *Mucor sp.* La combinaison fongique de l'air ambiant interne est indépendante de la flore fongique de l'air externe. Cette composition fongique aérienne varie peu en fonction des saisons.

La répartition des moisissures au niveau des surfaces inertes a montré la présence de trois espèces d'*Aspergillus* : *A.niger*, *A. nidulans* et *A. flavus* en hiver. Au printemps : les mêmes genres de moisissures isolées au niveau de l'air ambiant interne sont retrouvées sur les surfaces inertes.

Au niveau des plis cutanés des patients, les moisissures retrouvées sont *Alternaria*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Fusarium*. Par contre, *Candida non albicans* est isolé chez certains patients. Les souches isolées sont *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* et *Candida krusei*.

**Mots clés :** Moisissures, air ambiant, contamination fongique, réanimation néonatale.

## Abstract

It is well that the exposition with some air-born moulds in hospitals is linked to a risk augmented by fungic infection. Surveillance and study of fungic ecology of clinical

services should allow a better understanding of these infections's physiopathology and an anticipation of infectious phenomena. In this work, we noted a prevalency of moulds, in a neonatal intensive care of children's hospital of Rabat, important at the level of the external surrounding air of 100 %, internal of 55 %, against 37,50 % at the level of the inert surfaces and at 37,14 % at the patients. Moreover, it note that the fungic composition by external air regroups types *Rhodotorula*, *Scopulariopsis*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium sp.* and *Mucor sp.* . Fungic air composition varies not much according to seasons.

The sharing out of moulds at the level of the inert surfaces showed the presence of three kinds of *Aspergillus* : *A.niger*, *A. nidulans* and *A. flavus* in winter. In spring : same types of moulds isolated at the level of internal surrounding air are found on the inert surfaces.

In cutaneous creases of the patients, moulds founded are *Alternaria*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Fusarium*. On the contrary, *Candida* not albicans is isolated at some patients. Insulated stocks are *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* and *Candida krusei*.

**Keys-words** : Moulds, ambient air, fungic contamination, new born reanimation.

## **Introduction**

La présence des moisissures en milieu hospitalier est devenue un sujet de préoccupation tant pour les professionnels de la santé que pour les usagers. En effet, malgré l'absence d'indicateurs permettant de mesurer leurs rôles dans la survenue des infections fongiques, il est établi que la bio contamination à l'hôpital constitue un risque majeur pour les patients fragilisés (Berche *et al.*, 1988), de même pour certains lieux où sont pratiqués des soins ou actes invasifs. En effet, Les infections contractées en milieu hospitalier, appelées infections nosocomiales, constituent par leur gravité et leur

fréquence un vrai problème de Santé Publique. Ces infections viennent en premier rang de morbidité, de mortalité, de durée prolongée du séjour hospitalier et en coût additionnel (Golliot *et al.*, 1998). Le contrôle de l'environnement hospitalier constitue un des éléments de la stratégie de lutte contre l'infection nosocomiale. Les causes de surinfection sont souvent multiples : air, eau, blouses...etc (Vidal *et al.*, 1992 ). Au Maroc, une enquête de prévalence réalisée en 1994 a montré qu'aucun hôpital n'échappe à ce péril infectieux ; ce taux atteint une moyenne de 10% dans les hôpitaux régionaux (Ottmani et Amrani, 1994).

Le présent travail a pour objectif d'estimer l'exposition environnementale à la contamination aux moisissures au niveau du Service de Réanimation Néonatale A de l'Hôpital d'Enfants de Rabat (HER), chargé de recevoir les prématurés et les nouveaux nés. Le choix de ce service a été dicté par le fait que c'est un secteur à haut risque appartenant au secteur quatre (Groupe régional des affaires sanitaires de basse normandie) (Chabert et Nicot, 1968). Ce Service est un milieu abritant des patients fragiles et recevant des soins intensifs et invasifs. En effet, Les moisissures sont des champignons microscopiques ubiquistes. Elles s'épanouissent dans des atmosphères humides (>85%) et peu ventilées (Jarvis, 2002). Les environnements extérieurs humides sont également propices à leur développement. Le réservoir naturel des moisissures se situe à l'extérieur, sur les végétaux, sur la matière organique en décomposition, à la surface d'eau stagnante ainsi que dans le sol ou à la surface de ce dernier (Hallewyn *et al.*, 2003). Lorsque les conditions le permettent, les moisissures produisent à maturité des spores qui peuvent être transportées par les courants d'air ou par les humains et les animaux domestiques et se retrouver éventuellement dans le milieu intérieur (King *et al.*, 2002).

Le but de notre étude prospective est double : écologique et médical.

- But écologique : recenser les champignons microscopiques et préciser la mycoflore de

l'air ambiant,

- But médical : préciser la nature des champignons potentiels capables de répercussions sur la santé des enfants.

## **MATERIEL ET MEHODES**

### **1 – Matériel d'étude**

Le Service de Réanimation Néonatale A comporte six salles avec deux couveuses par salle et chaque couveuse abrite un patient.

Les niveaux d'étude choisis pour effectuer les prélèvements sont :

- l'air ambiant externe du service et l'air ambiant interne de chaque salle,
- les surfaces inertes telles les couveuses et les sondes utilisées,
- et chez le patient, au niveau des plis cutanés et des muqueuses (buccale et anale).

Cette étude s'est étalée sur deux saisons, hiver et printemps, afin d'évaluer l'impact du microclimat qui prédomine durant chaque saison sur la prévalence et la qualité des moisissures à la fois au niveau de l'air ambiant, des matériaux inertes et chez les patients.

### **2 – Isolement et caractérisation**

Pour rechercher les champignons dans l'air ambiant, une technique gravimétrique, basée sur le dépôt spontané des spores sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture, est utilisée (Abed Benamara, 1986). Le milieu de culture est le milieu gélosé de Sabouraud au chloramphénicol. Ce milieu est classiquement utilisé en Mycologie pour la recherche des champignons. Il reste le milieu de choix pour certaines études environnementales (Parat, 2002). Les boîtes de pétri sont déposées ouvertes durant 15 minutes. Les spores tombées sur le milieu de culture germent après incubation à une température de 37°C pendant 15 jours et donnent naissance à des colonies de

moisissures qui sont comptées à l'œil nu puis identifiées au microscope.

Pour les surfaces inertes et chez les patients, les prélèvements sont effectués par écouvillonnage (Questel *et al.*, 1998). Les écouvillons sont directement acheminés au laboratoire de Parasitologie et Mycologie médicale (HER), puis immédiatement ensemencés par striation sur gélose de Sabouraud.

### **3- Lecture des résultats**

Une lecture régulière de la croissance des colonies fongiques est effectuée pour éviter l'envahissement des boîtes de pétri par certaines espèces. Tout en sachant qu'une colonie obtenue sur gélose de Sabouraud correspondrait à une spore qui a germé. Il a été considéré dans ce travail que les boîtes de pétri, présentant au moins le développement d'une colonie d'une moisissure donnée, sont positives.

L'identification des colonies repose sur un examen macroscopique (l'aspect, la consistance et la couleur) et un examen microscopique (G : x 40) (morphologie des spores et du mycélium après coloration au bleu de lactophénol) d'un fragment de colonie. Ces examens permettent de dénombrer les colonies, de les identifier et de différencier les genres ou les espèces de moisissures retrouvées.

## **RESULTATS**

### **1- Répartition en fonction des niveaux d'étude**

En fonction des niveaux d'étude choisis dans ce travail, la prévalence des moisissures est la plus importante au niveau de l'air ambiant externe (100%) et interne (55%), alors qu'elle n'est que de 37,50% au niveau des surfaces inertes et de 37,14% chez les patients (Tableau I). L'air lui-même n'est pas un habitat pour les moisissures, mais la plupart des moisissures ont un mode de dispersion anémophile.

**Tableau I : Prévalence\* des moisissures dans chaque niveau d'étude**

- *La prévalence est le nombre de cas de moisissures existant ou survenant au niveau du service étudié durant la période d'étude (hiver, printemps), exprimée en pourcentage % (nombre de prélèvements présentant des moisissures divisé par le nombre de prélèvements totaux effectués dans chaque niveau d'étude)*

Niveau d'étude	Prévalence (%)
<i>Air externe</i>	100
<i>Air interne</i>	55,00
<i>Surfaces inertes</i>	37,50
<i>Patients</i>	37,14

## 2 – Répartition dans l'air ambiant

La répartition de l'air ambiant externe et interne varie en fonction de la saison. En hiver, la concentration de spores dans l'air interne est inférieure à la concentration retrouvée à l'extérieur du service. Ce qui montre qu'il n'y a pas d'amplification, ni d'accumulation de particules fongiques à l'intérieur du service de Réanimation, même si la température maintenue constante à 25 °C est favorable au développement de la plupart des moisissures (Tableau II). Par contre au printemps, l'air ambiant interne contient plus de moisissures.

**Tableau II : Influence de la saison sur la répartition des moisissures**

Niveau d'étude	Nombre de cultures positives	
	Hiver	Printemps
<i>Air ambiant</i>		
<i>Externe</i>	3	4
<i>Interne</i>	2	7
<i>Surfaces inertes</i>	3	9
<i>Patients</i>	6	7

Par ailleurs, on note que la composition fongique de l'air externe varie en fonction de la

saison (Tableau III) pour les genres *Rhodotorula*, *Scopulariopsis*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium sp.* et *Mucor sp.* En effet, les genres *Rhodotorula* et *Scopulariopsis* sont retrouvés uniquement en hiver. Par contre au printemps, *Aspergillus niger*, *Cladosporium sp.* et *Mucor sp.* représentent la flore aérienne prédominante. La présence du genre *Penicillium* est indépendante de la saison. De même, la composition fongique de l'air ambiant interne est indépendante de la flore fongique de l'air externe. Au printemps, *Cladosporium sp.*, *Mucor sp.*, et *Penicillium sp.*, inexistants en hiver, sont retrouvés en abondance, suivi d'*Alternaria sp.* et *Fusarium sp.* Par contre, les genres *Cephalosporium* et *Geotrichum* sont retrouvés quelque soit la saison.

### **3 – Répartition des moisissures au niveau des surfaces inertes**

Le rôle de moisissures au niveau des surfaces inertes peut être suspecté devant la présence de taches d'humidité évocatrices d'une humidité intérieure importante.

Une inspection visuelle a permis de constater une absence de développement de moisissures aussi bien au niveau des locaux que sur les surfaces inertes telles les couveuses ou les sondes. Cependant, les prélèvements effectués au niveau des surfaces ou de matériaux confirment la présence de moisissures (Tableau III).

Seul en hiver, trois espèces d'*Aspergillus* sont retrouvées, à savoir *A.niger*, *A. nidulans* et *A. flavus*, ainsi que *Cephalosporium sp.* *Cladosporium* est retrouvé sur les surfaces inertes quelque soit la saison.

Au printemps : *Cladosporium sp.*, *Géotrichum sp.*, *Mucor sp.* et *Penicillium sp.*, isolés sur les surfaces inertes, sont retrouvés au niveau de l'air ambiant interne.

### **4 – moisissures retrouvées chez les patients**

Au niveau des plis cutanés des patients, les moisissures retrouvées sont *Alternaria*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Fusarium*. Par contre, *Candida non albicans* est isolé chez certains patients (Tableau I). Les souches isolées sont *Candida parapsilosis*, *Candida*

*glabrata*, *Candida tropicalis* et *Candida krusei*.

**Tableau III : Composition de la flore fongique (nombre de colonies) dans les trois niveaux d'étude et selon la saison**

Moisissures genres ou espèces	Hiver				Printemps			
	Air externe	Air interne	Surfaces inertes	Patients	Air externe	Air interne	Surfaces inertes	Patients
<i>Alternaria sp.</i>	-	-	-	-	-	3	-	2
<i>Aspergillus sp.</i> <i>A. nidulans</i> <i>A. niger</i> <i>A. flavus</i>	-	-	1 1 1	-	- 1 -	-	-	-
<i>Cephalosporium sp.</i>	-	1	1	-	-	2	-	-
<i>Cladosporium sp.</i>	-	-	1	-	2	35	36	1
<i>Fusarium sp.</i>	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Geotrichum sp.</i>	-	2	-	-	-	4	2	-
<i>Candida non albicans</i> <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida krusei</i>	-	-	-	1 1 1 1	-	-	-	1
<i>Mucor sp.</i>	-	-	-	-	2	29	21	4
<i>Penicillium sp.</i>	2	-	-	-	3	17	4	-
<i>Rhodotorula sp.</i>	2	-	-	-	-	-	1	-
<i>Scopulariopsis sp.</i>	2	-	-	-	-	-	-	-

- : absence de colonie

## **DISCUSSION**

Notre étude, qui s'est intéressée à l'évaluation environnementale d'un milieu hospitalier à haut risque (réanimation infantile) (Meunier *et al.*, 2005), sert à confirmer, s'il y a lieu, l'existence de la contamination fongique. De même, l'étude permet de localiser les sites où croissent les moisissures et d'estimer l'ampleur de cette contamination. Le risque à la santé est accru en milieu hospitalier étant donné la présence d'une population à risque augmenté d'infections opportunistes (antibiothérapie, cathéter, neutropénie, etc...) (Halewyn *et al.*, 2003).

En effet, plusieurs enquêtes se sont intéressées à l'étude de la qualité fongique de l'air ambiant des immeubles ((King *et al.*, 2002 ; Halewyn *et al.*, 2003 ; Halewyn *et al.*, 2002; De Blay, 2002). Cependant peu d'investigations concernent le milieu hospitalier, surtout la réanimation. Toutefois, des enquêtes similaires à cette étude ont montré un faible taux de coopération des services de réanimation (Dupont, 2001). Les raisons sont multiples : la crainte que l'enquête ne recouvre un processus d'évaluation critique de la qualité des soins et de leur conformité aux recommandations ou la réticence de la « culture » médicale vis-à-vis de ce type de travail et d'un scepticisme quant à leur utilité pratique. Ce qui n'est pas le cas du service de Réanimation néonatale A de l'HER où cette étude a été effectuée au Maroc.

L'analyse quantitative et qualitative des spores fongiques dans l'air utilise des techniques gravimétriques, telle celle qui est utilisée dans ce travail et des techniques volumétriques qui permettent de préciser la quantité de spores dans un volume d'air connu, en un temps donné. De nombreux appareils sont utilisés : appareils d'ANDERSON, de CASELLA et autres. L'air aspiré est projeté à la surface d'une lame, d'un film ou d'un milieu de culture (Abed Benamara, 1986).

La composition la flore fongique a connu un changement notable entre les deux saisons d'étude, à savoir hiver et printemps : la prévalence des moisissures était plus

importante durant le printemps, saison où les degrés de température (37°C) et d'humidité (>85%) sont favorables au développement des moisissures, avec l'apparition des genres *Alternaria*, *Fusarium* et *Mucor*, non décelés durant l'hiver.

En effet, la mycoflore a été particulièrement bien étudiée au Maroc, dans la ville de Rabat par Chabert et Nicot (1968) qui ont établi un catalogue des Micromycètes de l'air. En France, une étude similaire a été réalisée par Charpin et Jordan (1990). Tous les travaux aéromycologiques montrent que la distribution des moisissures est universelle et que la mycoflore est relativement homogène. Les principaux champignons filamenteux recensés par tous les auteurs sont *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Penicillium*. Les *Cladosporium* viennent en tête dans presque toutes les statistiques en aéromycologie, ce qui est en accord avec notre étude. Ils subissent des fluctuations saisonnières, leur sporulation maximale se situe en été. Shelton *et al.* (2002) mettent en évidence des variations saisonnières même parmi les espèces d'*Aspergillus*.

Les études qui tentent de définir la composition fongique de l'air inhalé dans les espaces clos sont encore très insuffisantes et les résultats souvent incomplets et inexploitable. En effet, bon nombre de moisissures ne se développent que sur des milieux spécifiques et la température d'incubation introduit une sélection qui biaise totalement les résultats. De plus, les méthodes de prélèvement par sédimentation sont encore utilisées trop souvent (boîtes de Pétri simplement ouvertes et exposées à l'air) et ne donnent qu'un aperçu sommaire de la mycoflore car nombreuses sont les spores qui ne sédimentent pas dans ces conditions.

L'exposition à ces agents fongiques surtout *Aspergillus*, *cladosporium* et *Alternaria* est simple. Elle peut se faire par inhalation ou dans une moindre mesure, par contact cutané ou plus rarement encore, par ingestion et peuvent être responsables de mycoses opportunistes, à l'origine d'infections localisées ou invasives, d'allergies ou de

mycotoxicoses (Meunier *et al.*, 2005). Depuis le début des années 1990, les données des études épidémiologiques montrent que *Candida sp.* se classe entre le 3<sup>o</sup> et le 5<sup>o</sup> rang des agents infectieux responsables d'infections nosocomiales. *Candida albicans* est l'espèce isolée dans 60 à 80 % des cas (Shelton *et al.*, 2002). Mais dans les dix dernières années, il est apparu une émergence de souches de *Candida non albicans* (Dupont, 2001 ; Gauzit, 2001 ; Abi Said *et al.*, 1997). Dans certains services, *Candida non albicans* peut représenter jusqu'à 70 % des souches isolées.

### **Conclusion**

Les spores asexuées des moisissures sont les particules vivantes les plus nombreuses et les plus diversifiées de l'air que nous respirons. Plusieurs milliers de moisissures sont capables de disséminer leurs spores par voie aérienne et, en zone tempérée, plusieurs centaines d'espèces occupent, en permanence, notre environnement direct. L'inhalation de spores fongiques entraîne l'apparition de pathologies allergiques et risque d'infections opportunistes chez des terrains particuliers. La surveillance et l'étude de l'écologie fongiques des services cliniques devraient permettre une meilleure compréhension de la physiopathologie de ces infections et une anticipation des phénomènes épidémiques.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abed benamara M. (1986)** : « Contribution à l'étude des acariens, moisissures et parasites responsables d'allergies respiratoires ». Thèse d'état en sciences médicales, université d'Alger. Département de Pharmacie, 230 p.
- Abi-Said D., Anaissie E., Uzun O., Raad I., Pinzcowski H. & Vartivarian S. (1997)** : « The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species ». Clin.Infect.Dis., 24 : 1122-1128.
- Berche P., Gaillard J.L., Simmonet L. (1988)** : «Les bactéries des infections humaines ». Ed. Flammarion ; 649p.
- Chabert J. & Nicot J. (1968)** : « Notes d'aérobiologie. II-Micromycètes de l'air de Rabat- Contribution à l'établissement d'un catalogue mycologique du Maroc». Bull. Tri. Soc. Myco, 84 : 475-483.
- Charpin A. & Jordan D. (1990)** : « *Catalogue floristique de la Haute Savoie* ». Scientific Article #1181. Journal: Mémoires de la Société Botanique de Genève, 2, 1 : 1-183.
- De Blay P. (2002)** : « Les allergies respiratoires ». ITEM 115, Faculté de Médecine, ULP Strasbourg, France.
- Dupont H. (2001)** : « Infections fongiques en réanimation. Enquête transversale». Ann. Fr. Anesth. Réanim., 20 : 413-417.
- Gauzit R. (2001)** : « Epidémiologie et facteurs de risque des candidoses systémiques en réanimation». Ann.Fr.Anesth.Réanim, 20 : 394-399.
- Golliot F., Baffoye N., Astagneau P., Brucker G. (1998)** : « Les infections nosocomiales chez les patients opérés : résultats de l'enquête de prévalence dans l'Inter région de Paris nord ». Bull. Epid. Heb., 29 : 1-6.
- Halewyn M.A., Leclerc J.M., King N., Belanger M., Legris M. & Frenette Y. (2003)** : «Moisissures en milieu intérieur et risques pour la santé». Bulletin d'information en santé environnementale, 14 : 1.

- Halewyn M.A., Leclerc J.M., King N., Belanger M., Legris M. & Frenette Y. (2002)** : «Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur». Rapport scientifique – Institut National de la Santé Publique du Québec, 166p.
- Jarvis BB. (2002)** : « Chemistry and toxicology of molds isolated from water-damaged building». *Adv Exp Med biol.*, 504: 43-52.
- King N, Party L, Auger P. (2002)** : « Les moisissures : une préoccupation grandissante». *Prévention en pratique médicale.*
- Meunier A., Rivière D., Lecoq R. (2005)** : « Le plan régional Santé- Environnement : Qualité de l'air en milieu hospitalier-traitement de l'air». Drass et DDASS Des Pays de la Loire, Santé Publique, Prévention, 4.
- Ottmani S., et Amrani J.F. (1994)** : « Enquête de prévalence des infections nosocomiales au niveau de 24 hôpitaux du Maroc » Direction des hôpitaux, Rabat, Maroc, 103 p.
- Parat S. (2002)** : « Mesure de l'aérobiocontamination dans les bâtiments des secteurs résidentiel et tertiaire : état des connaissances et des pratiques». Etude réalisée pour l'ADEME (marché n° 01 04 018).
- Questel C., Boulestreau H., Castel O., Fenot M., Marty N., Mounier M., Rogues A.M., Rogues C., Secher I., Tamarelle C. & Verdeil X. (1998)** : « Contrôles microbiologiques en hygiène hospitalière – Conseils pratiques », Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales, - CCLIN Sud-Ouest, version1, 30 p.
- Shelton B.G., Kirkland K.H., Flanders W.D. & Morris G.K.(2002)** : « Profiles of Airborne Fungi in Buildings and Outdoor Environments in the United States». *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 4 : 1743-1753.
- Vidal J.L., Merian B.L., Devaux F., Lagrave A.C., Brossard D., Carlier A. (1992)** : « Recommandations de la pharmacopée en stérilisation hospitalière». *La pharmacie hospitalière Française*, 101 : 1850-1851.