



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Professionnalisant
Filière: Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière

Par: Touati Samia
Touati Manal

Thème

***Cryptococcus : Recherche de la levure
dans l'Est Algérien***

Soutenu le : 12/07/2021

Devant le jury :

Président :	Dr. MERADJI ASSIA	M.C.A. CHUC Constantine.
Rapporteur :	Dr AISSAOUI ILHM.	M.C.A. CHUC Constantine.
Examineur :	Dr CHENTLI A.	M.C.B. Université Frères Mantouri Constantine1.

Année universitaire 2020– 2021

Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon encadreur de mémoire, Madame Aissaoui ilhem. Je la remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.

Je remercie le superviseur pour la partie pratique Mr. Moulahem (Professeur en mycologie-CHU de Constantine)

Je désire aussi remercier les professeurs de l'université des frères Mentouri Constantine et le chef de département monsieur Kacem chaouiche généralement et madame Benhamdi en particulier pour m'avoir apporté un soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

Je tiens particulièrement à remercier ma maman et mon papa pour m'avoir soutenu tout au long de mon parcours académique et grâce à eux j'en suis arrivé là où j'en suis maintenant.

Je remercie mes sœurs Sarah et Amira et mes frères Mohamed, Yassin et Abdalkader pour leurs encouragements et les aime.

Enfin, je voudrais exprimer ma reconnaissance envers les amis et collègues de groupe de spécialité microbiologie et hygiène hospitalier qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

Dédicaces

Toutes les lettres ne peuvent pas trouver les mots justes... Tous les mots ne peuvent pas exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la gratitude... Aussi, c'est juste

Dédicaces

A ma chère maman :

Beaucoup de phrases, aussi expressives soient-elles, ne peuvent pas montrer le degré d'amour et d'affection que j'ai pour vous. Tu m'as rempli de ta tendresse et de ton affection tout au long de mon voyage. Elle n'a jamais cessé de me soutenir et de m'encourager tout au long de mes années scolaires, toujours à mes côtés pour me reconforter en cas de besoin. En ce jour inoubliable, pour vous et moi, considérez ce travail comme un signe de ma profonde appréciation. Que Dieu vous accorde santé, bonheur et longue vie afin que je puisse remplir mon rôle pour vous.

Dédicaces

A mon cher père :

De nombreuses phrases et expressions, aussi éloquentes soient-elles, ne peuvent exprimer ma gratitude. Vous m'avez inculqué le sens de responsabilité, l'optimisme et la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers le succès. Votre patience infinie, votre compréhension et vos encouragements sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois qui je suis aujourd'hui et qui je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et vous ne serez jamais déçu. Que Dieu Tout-Puissant vous protège, vous bénisse avec la santé, le bonheur et la tranquillité d'esprit, et vous protège de tout mal.

Dédicaces

A mes chères *sœurs Sarah et Amira* :

En souvenir d'enfance où nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments. Pour toute la complicité et la compréhension qui nous unissent et le soutien continu de notre part, je vous souhaite réussite et succès.

Dédicaces

A mes chers *petites frères Mohamed, Yassin et Abdalkader*:

Pour votre amour constant pour nous et votre bonheur avec notre réussite, et avec toute votre spontanéité et votre enthousiasme chaleureux, je vous dédie ce travail et vous souhaite de réussir dans votre cheminement académique.

Que Dieu vous accorde tous vos meilleurs vœux

Table des matières

Liste des tableaux	II
Liste des figures :	III
Liste des abréviations	V
Introduction :	
Partie théorique :	2
Définition :	2
I. Cryptococcus	3
1. Classification et espèces de Cryptococcus :	3
2. Morphologie et structure biochimique :	5
3. Habitat naturel :	6
4. Cycle de la vie :	6
5. Mode de contamination :	8
6. Données épidémiologique :	9
7. Facteurs de virulence :	20
8. Réponse de l'hôte et Pathogenèse :	21
II. Cryptococcose	23
1. Population à risque :	23
2. Symptomatologie clinique :	26
3. Le Diagnostic	29
3.1. Diagnostic mycologique :	29
3.2. Diagnostic indirect : recherche de l'antigène circulant :	29
4. Traitement et prophylaxie.....	30
III. Partie pratique	31
1. Objectif de l'étude :	31
2. Cadre de l'étude :	31
3. Méthodes :	31
3.1. Prélèvements :	31
3.2. Mise en culture des prélèvements de l'environnement :	31
3.3. Examen macroscopique :	32
3.4. Examen microscopique à l'encre de chine :	32
3.5. Identification biochimique :	32
3.5.1. Galerie API 20 C AUX :	32
3.5.2. Test à l'uréase sur milieu d'urée indole :	33
4. Les prélèvements.....	33
5. Résultats	38
Discussion :	50
Conclusion :	52
Références bibliographiques :	53
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Nomenclature du génotype adoptée par les principales techniques de typagemoléculaire et correspondance avec la nomenclature standard.

Tableau 02 : le nombre des prélèvements.

Tableau 03 : Sites des prélèvements.

Tableau 04: Dates des échantillons pour l'enquête environnementale.

Tableau 05 : Résultats de culture.

Tableau 06 : Résultat de l'identification.

Tableau 07 : Résultat général de l'identification des champignons.

Tableau08 : Répartition des champignons isolés de l'environnement.

Liste des figures

Figure 1: Photomicrographie de *Cryptococcusneoformans*.

Figure 2 : *Cryptococcusneoformans*.

Figure 3 : *Cryptococcusgatti*.

Figure 4 : Représentation d'une cellule de *Cryptococcusneoformans*.

Figure 5 : États sexuels et asexués de *Cryptococcusneoformans*.

Figure 6 : États sexuels et asexués de *Cryptococcusgatti*.

Figure 7: Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgatti* provenant de sources cliniques et environnementales.

Figure 8 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgatti* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotype ou du type moléculaire.

Figure 9 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgatti* provenant de sources cliniques et environnementales.

Figure 10 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgatti* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotype ou du type moléculaire.

Figure 11 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et *Cryptococcusneoformans* provenant de sources cliniques et environnementales

Figure 12 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgatti* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotype ou du type moléculaire.

Figure 13 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgatti* provenant de sources cliniques et environnementales

Figure 14 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgattii* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotype ou du type moléculaire.

Figure 15: Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgatti* provenant de sources cliniques et environnementales.

Figure 16 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgatti* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotype ou du type moléculaire

Figure 17 : Voie de la méningo-encéphalite *cryptococcique*.

Figure 18 : Des photos des échantillons de l'enquête environnementale.

Figure 19 : Photo des sites de prélèvement a) arbre de l'agrume, b) arbre d'eucalyptus (au niveau du laboratoire de bactériologie et en face de l'arrêt de bus des étudiants CHUC).

Figure 20 : Photos des sites de prélèvement : arbres d'eucalyptus (au niveau du service des maladies infectieuses et à côté du CHUC).

Figure 21 : Photo des Site de fiente de pigeon.

Figure 22: Photo d'observation microscopique de levure *40.

Figure 23 : Photos des observation Macroscopique de *Cryptococcusterrus*.

Figure 24 : Photo d'observation Macroscopique de *CryptococcusUniguttulatus*.

Figure 25: Photo de Observation Macroscopique de la levure *Candida glabrata*.

Figure 26: Photo de Observation macroscopique de la levure de *Candida parapsilosis*.

Figure 27: Photo de Observation macroscopique d'une culture à *Aspergillus Niger*.

Figure 28: Photo de Observation Macroscopique de *champignon filamenteux* (type mucore).

Figure 29 : Photo de Résultat de galerie après l'incubation.

Figure 30 : Photo de Logiciel de galerie API20 C AUX *Cryptococcus terreus* 99,8%.

Figure 31 : Photo de Logiciel de galerie API20 C AUX *Cryptococcus terreus* 79,2%.

Figure 32: Photo de Logiciel de galerie API 20C AUX *Cryptococcus terreus* 97,4%.

Figure 33 : Photo de Logiciel de galerie API 20C AUX *Cryptococcus Uniguttulatus* 74,4%.

Figure 34 :Photo de Logiciel de galerie API 20 C AUX *Candida glabrata* 99,7%.

Figure 35 : Photo de Logiciel de galerie API 20 C AUX *Candida parapsilosis* 97,9%.

Figure 36 : Photo de Logiciel de galerie API 20 C AUX *Candida Albicans* 99,8%.

Figure 37 : Photo de Résultat de test uréase.

Figure 38 : Résultats détaillés de l'identification.

Liste des abréviations

ATCC: American Type Culture Collection.

CBS: CentraalbureauvoorSchimmelcultures.

WM: Westmead Millennium Institute, Sydney, Australia.

Bt: isolate from Botswana.

VIH : virus de l'Immunodéficience Humaine.

Introduction

Cryptococcus est un genre de champignons ayant une distribution mondiale. Ce sont des organismes unicellulaires, appelés levures. Plusieurs espèces provoquent la cryptococcose, une maladie potentiellement mortelle principalement *C. neoformans*, en particulier chez les individus dont le système immunitaire est affaibli. Les formes sexuelles (téléomorphes) de *Cryptococcus* sont des champignons filamenteux du genre *Filobasidiella*.

Bien que la cryptococcose ait été identifiée en 1894, elle n'a été reconnue comme une menace majeure pour la santé humaine qu'avec le début de la pandémie du sida dans les années 1980. Les récentes éclosions de cryptococcose chez des individus par ailleurs en bonne santé en Amérique du Nord et au Canada (connue sous le nom d'épidémie du Pacifique Nord-Ouest) ont amené le genre à attirer encore plus l'attention (16).

La source environnementale de *C. neoformans* était inconnue jusqu'à ce qu'Emmons isole *C. neoformans* du sol collecté en Virginie en 1951, signalant que l'agent pathogène était abondant dans les nids de pigeons et les excréments (Emmons 1951 , 1955). Il a fallu près de 40 ans de plus pour découvrir la source environnementale de *C. gattii* sous forme d'arbres lorsque Ellis a signalé l'isolement de souches de sérotypes B d' *Eucalyptus camaldulensis* en Australie en 1990 (10).

Les principaux objectifs de ce travail sont :

- connaître l'épidémiologie environnementale de *Cryptococcus* et sa distribution géographique dans 02 foyers de l'est Algérien : Constantine et Biskra.
- appliquer et introduire les techniques de recherche environnementale de la levure *Cryptococcus* dans laboratoire de parasitologie mycologie du CHU de Constantine.

Partie Théorique

Définition

La cryptococcose est l'une des maladies fongiques les plus graves chez les animaux dans le monde, affectant une grande variété de mammifères (y compris les humains) et, occasionnellement, les oiseaux, les reptiles et les amphibiens. La maladie est causée par des pathogènes levure basidiomycète encapsulée, formant de la mélanine, du genre *Cryptococcus*, avec des complexes d'espèces *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gatti* (15).

Cryptococcus est un champignon environnemental unique. Parmi les plus de trois douzaines d'espèces de *Cryptococcus*, seuls *C. neoformans* et *C. gatti* causent fréquemment des maladies. Bien que bon nombre de ces infections surviennent chez des patients immunodéprimés.

C. Gatti a récemment attiré l'attention du public en raison d'une épidémie de maladie dévastatrice chez des personnes immunocompétentes(4). Cette famille comporte 3 variétés et 4 sérotypes: *C. neoformans* (sérotypes A), *var. Gatti* (sérotypes B et C) et *var. neoformans* (sérotypes D), ancienne classification (2).

Cryptococcus vit comme une simple levure (voir figure 1), ne trouvant que rarement un partenaire sexuel qui le transforme pour devenir la forme fongique parfaite appelée *Filobasidiella*. *Cryptococcus* a été isolé pour la première fois à partir d'échantillons de jus de pêche par F. Sanfelice en 1894. Le sol contaminé par des excréments de pigeons est la principale source environnementale de *Cryptococcus neoformans*, et les eucalyptus et les creux en décomposition des arbres vivants sont le principal réservoir de *Cryptococcus gatti*. *Cryptococcus* est le seul agent pathogène eucaryote qui produit une capsule de polysaccharide, qui sert de facteur de virulence majeure. Cette capsule se compose de glucuronoxylomannane (GXM) et de galactoxylomannane (GalXM), ainsi que de mannoprotéines. GXM est le principal polysaccharide capsulaire; les différences structurelles de son polymère sont la base antigénique du système de classification des sérotypes de *C. neoformans*. Morphologiquement, la capsule de polysaccharide n'est pas facilement visible au microscope optique. La visualisation est réalisée à l'aide d'encre de Chine ou par immunofluorescence(4).

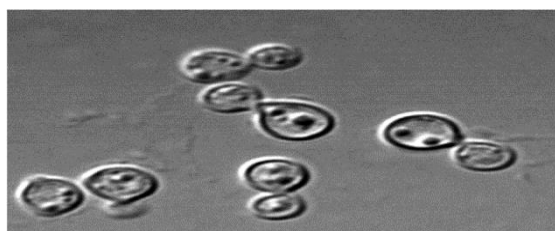


Figure 1 : Photomicrographie de *Cryptococcus neoformans*.

Partie Théorique

Les cellules fongiques produisent des stérols uniques qui sont la cible de liaison de l'amphotéricine B ainsi que des vésicules extracellulaires qui sont sécrétées à travers la paroi cellulaire. Le GXM est emballé dans ces vésicules et exporté vers le milieu extracellulaire avec d'autres molécules associées à la survie fongique et à la pathogénicité de l'hôte, y compris l'uréase et la phosphatase acide. Le pigment mélanine offre une protection contre les mécanismes oxydatifs de défense de l'hôte. La chitine est un autre composant important de la paroi cellulaire fongique qui contribue à sa force et à son intégrité (4).

I. *Cryptococcus*

1. Classification des espèces de *Cryptococcus*

La classification des espèces est basée sur des concepts évolutifs, reproductifs ou morphologiques(6).

- La levure du genre *Cryptococcus* appartient au :
- Règne : Fungi
- Groupe : Eucaryotes
- Sous-groupe : Mycophytes
- Phylum : Basidiomycota
- Sous-phylum : Agaricomycotina
- Classe : Tremellomycètes
- Ordre : Tremellales
- Famille : Tremellaceae
- Genre : *Cryptococcus*.

Il existe environ 37 espèces de *Cryptococcus* qui ont été identifiées. Cependant, comme ce genre est d'un intérêt extrême, sa taxonomie est constamment réévaluée. La plupart des espèces colonisent le sol et ne sont pas nocives pour l'homme. Néanmoins, les espèces pathogènes sont répandues et présentent un danger pour de nombreuses personnes dans le monde. Voici une liste de quelques-uns d'entre elles:

- *Cryptococcus terreus* est un type de champignon. Il est unique dans son espèce car il peut utiliser du glucose, du lactose, du galactose et du nitrate de potassium. Les cellules sont de forme ovale avec des capsules muqueuses. La culture a commencé lorsqu'elle a pris une couleur crème mais est devenue bronzée avec une surface de peau "dure". Il n'y a pas de champignons. Cette espèce est très similaire à *C. albidus* à l'exception notable de l'incapacité à fermenter le saccharose(16).

- *Cryptococcus neoformans* : L'espèce de *Cryptococcus* la plus connue et la plus pertinente sur le plan médical. C'est un pathogène animal et humain majeur, mieux connu pour provoquer des formes sévères de méningite et de méningo-encéphalite (voir figure 2).

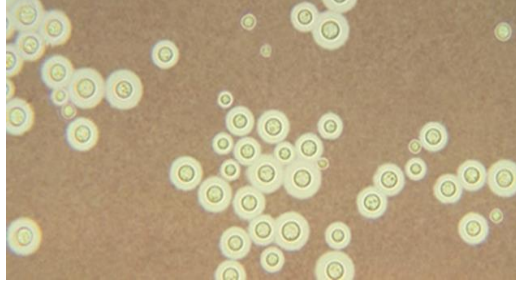


Figure 2 : *Cryptococcus neoformans*.

- *Cryptococcus gattii* : Anciennement une variante de *C. neoformans*, il a récemment été séparé en une espèce distincte. *C. gattii* est capable de provoquer des maladies même chez les personnes en bonne santé non immunodéprimées. On le trouve principalement dans les climats tropicaux, mais des cas ont été décrits dans le nord-ouest du Pacifique (voir figure 3).

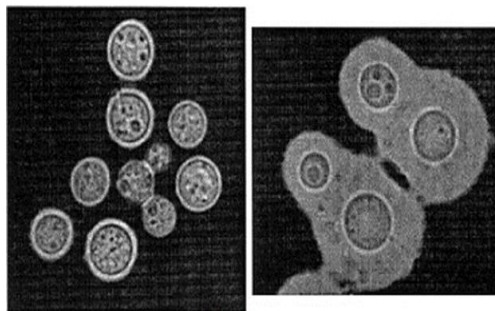


Figure 3 : *Cryptococcus gattii*.

- *Cryptococcus albidus* : Bien que n'étant pas un pathogène humain fréquent, *C. albidus* provoque une cryptococcose pulmonaire et une méningite chez les personnes dont le système immunitaire est incompetent, comme les personnes atteintes de lymphome, du VIH / SIDA et de la leucémie.

- *Cryptococcus laurentii* : Tout comme *C. albidus*, il conduit également à une maladie modérée à grave chez les personnes immunodéprimées telles que le VIH / SIDA et les patients atteints de cancer.

- *Cryptococcus Uniguttulatus* : La première espèce de *Cryptococcus* non *néoformane* à affecter les êtres humains. Il est moins fréquemment rencontré chez l'homme que *C. albidus* et *C. laurentii*. Il est connu pour provoquer une méningite et répond bien à l'amphotéricine B.

Partie Théorique

• Non infectieuses d'autres espèces comprennent *C. aquaticus*, *C. bhutanensis*, *C. adeliensis*, *C. phenolicus*, *C. consortionis*, *C. vishniacci*, *C. ater* et bien d'autres(16).

2. Morphologie et structure biochimique

La forme parasite est une levure ronde, ovoïdes ou allongées, de 3 à 8 (12 μm) de diamètre, entourée d'une capsule polysaccharidique, sans mycélium ni pseudomycélium. La levure se reproduit par bourgeonnement multilatéral. In vivo, dans la variété *neoformans*, les levures sont parfaitement rondes ou globuleuses, de taille très variable, alors qu'elles sont plus ovoïdes, voire allongées dans la var. *gattii*. Le facteur de virulence caractéristique de *Cryptococcusneoformans*, puisqu'il est le seul champignon à en posséder une, est certainement la capsule polysaccharidique. Le principal composant de la capsule est un polysaccharide, le glucuronoxylomannane (GXM). Il est sécrété au cours de la croissance et donc de l'infection, et sa présence est utilisée pour le diagnostic de la cryptococcose. Le rôle de la capsule dans la virulence de *Cryptococcusneoformans* a été établi, in vitro et in vivo. Le polysaccharide induit de nombreux effets délétères pour l'hôte, allant de l'œdème cérébral entraînant une hypertension intracrânienne à laquelle est lié le pronostic vital, à des effets immunomodulateurs nombreux (inhibition de la phagocytose, inhibition du chimiotactisme, déplétion en complément, dérégulation de la sécrétion de cytokines, paralysie humorale, induction de cascades de suppresseurs, stimulation de la réplication du VIH in vitro, inhibition de la prolifération des lymphocytes T, interférence avec la présentation de l'antigène). La mélanine et d'autres composés (mannitol, inositol), la calcineurine, les protéinases, de *Cryptococcusneoformans* ont été impliqués dans la virulence (11). La figure 4 illustre la structure de *C. neoformans*(4).

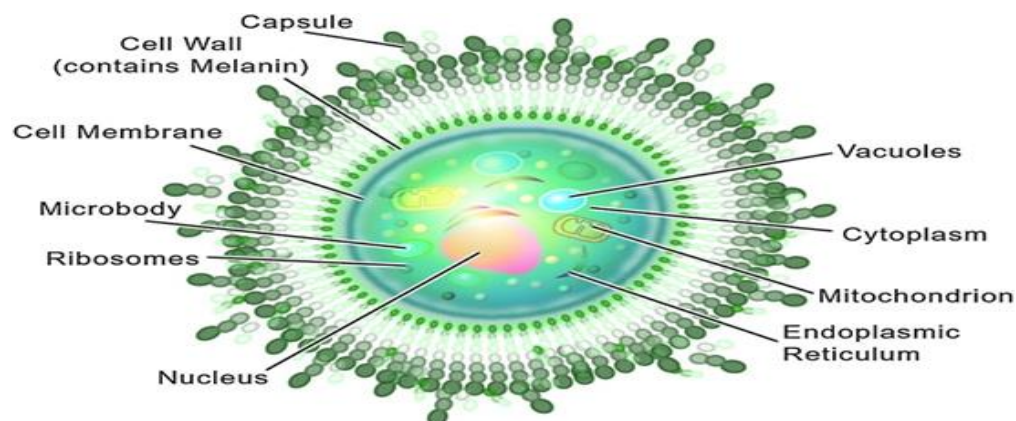


Figure 4 : Représentation d'une cellule de *Cryptococcusneoformans*.

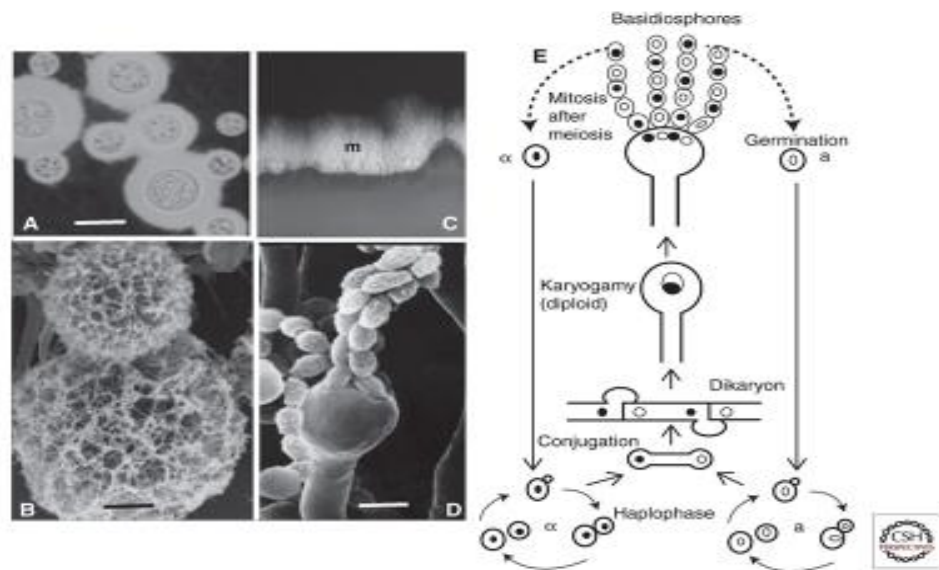
3. Habitat naturel

Cryptococcus est une levure encapsulée. Suite à sa première identification dans la nature à partir d'échantillons de jus de pêche, les principales sources environnementales de *Cryptococcus neoformans* se sont avérées être soit des sols contaminés par des excréments de pigeons (*Cryptococcus neoformans*), soit des eucalyptus et du bois en décomposition formant des creux dans les arbres vivants (*Cryptococcus gatti*). *Cryptococcus gatti* a également été isolé chez des chèvres atteintes d'une maladie pulmonaire(6).

4. Cycle de la vie :

C. neoformans (Fig. 5) et *C. gatti* (Fig. 6) sont toutes deux des levures haploïdes hétérothalliques qui existent en deux types d'accouplement, *MAT* α et *MAT* a. Cependant, les souches *MAT* α sont prédominantes dans la nature et, par conséquent, la grande majorité des isolats cliniques sont des souches *MAT* α) et les raisons de la rareté de *MAT*a souches ne sont pas claires. Les cellules haploïdes se propagent de manière asexuée par bourgeonnement jusqu'à ce que les souches de type d'accouplement opposé entrent en contact sur des substrats propices à l'accouplement. Les cellules des souches *MAT* a sécrètent la phéromone MFa et les cellules *MAT* α sécrètent la phéromone MF α ; en réponse à la phéromone de partenaire d'accouplement, le *MAT* a les cellules subissent une croissance isotrope, alors que la *MAT* cellules de former des tubes de conjugaison pour permettre la fusion et produisent des hyphes dicaryotique) avec raccords à pince à fusible (Fig. 5 E). Au cours du processus d'accouplement précoce, les mitochondries du *MAT* .Les partenaires α sont éliminés par les fonctions du facteur de transcription Mat2 et du complexe protéique homéodomaine Sxi1 α / Sxi2a et seuls *MAT* une mitochondrie sont hérités par la suite par la descendance issue de l'accouplement Dans la partie terminale enflée du baside, les deux noyaux de types d'accouplement opposés fusionnent pour former un seul noyau diploïde transitoire qui subit un cycle de division méiotique produisant quatre noyaux haploïdes .Ces produits méiotiques subissent ensuite à plusieurs reprises une division mitotique pour bourgeonner basipétalement quatre longues chaînes de basidiospores (spores sexuelles) constituées de spores de type *MAT* α et *MAT* a dans un rapport égal. Ces basidiospores peuvent provoquer une infection chez un modèle murin tout aussi efficacement que les cellules végétatives de levure et peuvent jouer le rôle de particules infectieuses(10).

Sexual and asexual states of *Cryptococcus neoformans*.



Kyung J. Kwon-Chung et al. Cold Spring Harb Perspect Med 2014;4:a019760

©2014 by Cold Spring Harbor Laboratory Press

Figure 5: États sexuels et asexuels de *Cryptococcus neoformans*. (A) Cellules de levure colorées par l'encre de Chine montrant des cellules globuleuses encapsulées. Barre d'échelle, 5 μm . (B) Micrographie électronique à balayage de cellules de levure en herbe Barre d'échelle, 1 μm . (C) Production d'hyphes dikaryotes (m) au bord des souches accouplées entre JEC20 (MAT a) X JEC21 (MAT α). (D) Micrographie électronique à balayage des chaînes portant des basides de basidiospores ovales à elliptiques. Barre d'échelle, 5 μm . (E) Cycle de vie de *Cryptococcus neoformans*. α , cellules de MAT type α ; a, cellules de MAT un type.

Sexual and asexual states of *Cryptococcus gattii*

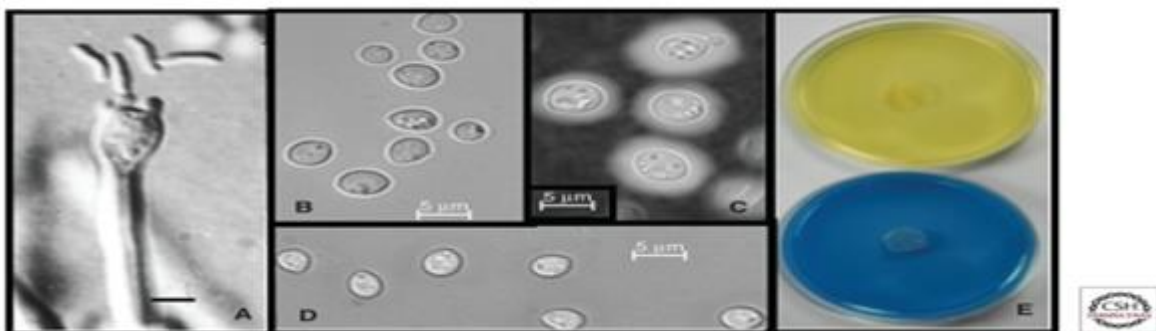


Figure 6 : États sexuels et asexuels de *Cryptococcus gattii* (réf). (A) Basidia et basidiospores. Barre d'échelle, 5 μm . (B) Cellules de levure globuleuses à ovales de R265 (type VGII). (C) Cellules de levure colorées à l'encre de Chine de NIH319 (type VGIII). (D) Cellules de levure ovales à larmes de R-1407 (type VGIV). (E) Gélose CGB pour la différenciation de *C. neoformans* (pas de réaction) de *C. gattii* (bleu de cobalt).

Partie Théorique

L'accouplement bipolaire traditionnel de cellules de types d'accouplement opposés n'est pas le seul cycle sexuel disponible pour *C. neoformans*. Chez cette espèce, la reproduction unisexuée a également été décrite dans les souches *MAT a* qui se traduit par les quatre chaînes de basidiospores morphologiquement indiscernables des basidiospores formées par des partenaires de deux types d'accouplement opposés au lieu de se former lorsque les partenaires sont de types d'accouplement opposés. Contrairement à l'accouplement traditionnel, au cours de ce processus, les connexions de serrage restent non fusionnées et, par nécessité, les mitochondries sont héritées d'un *MAT d'* un parent. Plus intrigant, les cascades développementales des deux modes de reproduction se sont avérées contrôlées par les mêmes circuits génétiques, démontrant que les spores produites lors de la reproduction unisexuée sont également le résultat de la méiose. De plus, un rapport récent indique que la production d'hyphes monocaryotes non liée à la reproduction unisexuée peut être induite par l'arrêt à haute température du cycle cellulaire de la levure au stade G_2 . La question de savoir si les circuits génétiques qui contrôlent la formation d'hyphes monocaryotes induite par l'arrêt du cycle cellulaire à haute température chevauchent avec ceux de la reproduction sexuée est une question incontournable qui reste à déterminer (10).

5. Mode de contamination

La contamination se fait principalement par inhalation de spores (primo-infection pulmonaire latente), de levure qui vit dans le milieu extérieur en saprophyte sur les fientes de pigeons ou le guano de chauve-souris, beaucoup plus rarement par inoculation transcutanée. Après pénétration dans les alvéoles pulmonaires, les levures entreraient en dormance (restent à l'état quiescent) probablement dans les macrophages alvéolaires et, ce, pendant de nombreuses années. Lors de l'apparition d'un déficit immunitaire, elles pourraient se « réveiller », se multiplier dans les poumons provoquant une pneumopathie. Dans la majorité des cas, le pathogène passe alors dans la circulation sanguine et dissémine dans l'organisme provoquant une méningoencéphalite et l'infection d'autres tissus chez les patients fortement immunodéprimés et tous les organes peuvent être touchés à l'origine de cryptococcose disséminée (peau, foie, rein, ect). Ainsi, la méningite cryptococcique serait donc due le plus souvent à la réactivation d'une infection latente avec une longue période de latence entre l'exposition et diagnostic. L'infection ne se transmet pas d'homme à homme, sauf dans de rares cas de greffe d'organes contaminés. De même, il n'y a pas de transmission de l'animal à l'homme (5).

6. Données épidémiologique

Un total de 68 811 isolats de *C. neoformans* et *C. gattii*, rapportés par des centaines d'études de recherche mondiales, ont été analysés. La recherche de données a été effectuée dans la base de données Pub Med.

Chaque référence de la liste de références résultante a été sélectionnée si elle rapportait des données concernant l'isolement d'un ou plusieurs *Cryptococcus* isolats complexes d'espèces. Les isolats signalés sans code d'identification ou sans citation ont été considérés comme de nouveaux isolats et inclus dans l'analyse, tandis que les isolats signalés dans plus d'un article n'ont été pris en compte qu'une seule fois. Ensuite, tous les isolats ont été analysés sur la base de leur origine géographique, source d'isolement, niveau d'identification, espèce et type moléculaire(9).

6.1. En Afrique

L'isolement de 19 753 souches de *C. neoformans* et *C. gattii* a été signalé dans 25 des 58 pays africains et principalement en Afrique du Sud (79 %). Des enquêtes environnementales, menées dans huit pays (Tunisie, Égypte, Nigéria, République démocratique du Congo, Burundi, Zimbabwe, Botswana et Afrique du Sud), n'ont récupéré que 1% du total des isolats signalés (Figures 7 et 8). *C. neoformans* a non seulement été isolé des excréments de pigeons et d'autres oiseaux, mais également du sol et de la poussière domestique, ainsi que d'arbres tels que l'Eucalyptus camaldulensis, le mopane et le baobab. *C. gattii* a été isolé du sol, d'eucalyptus camaldulensis et d'amandier. Deux isolats vétérinaires ont également été rapportés à partir de deux cas de cryptococcose affectant des guépards sud-africains. La majorité des études n'ont rapporté que les espèces des isolats (68%), 19% ont été signalés comme un complexe d'espèces de *Cryptococcus* et 11% comme une variété ou un sérotype (figure8). Des techniques de typage moléculaire ont été appliquées pour identifier 2 % des isolats (n=505). Parmi ceux-ci, 68 % étaient des VNI de type moléculaire. VNII et VNIII représentent respectivement 11 % et 1 % des isolats et n'ont été signalés qu'en Ouganda et en Afrique du Sud. Treize pour cent des isolats africains appartiennent au type moléculaire VNB, qui était initialement considéré comme endémique du Botswana mais qui est également présent en Afrique du Sud, au Rwanda et en République démocratique du Congo. De plus, une population cohérente du type moléculaire rare VGIV a été isolée au Botswana et au Malawi. Un seul isolat appartenant au VGII et quatre appartenant au type moléculaire VGI ont été rapportés au Sénégal et en République Démocratique du Congo, respectivement, alors que le VNIV était totalement absent parmi les isolats africains inclus dans la présente étude (9).

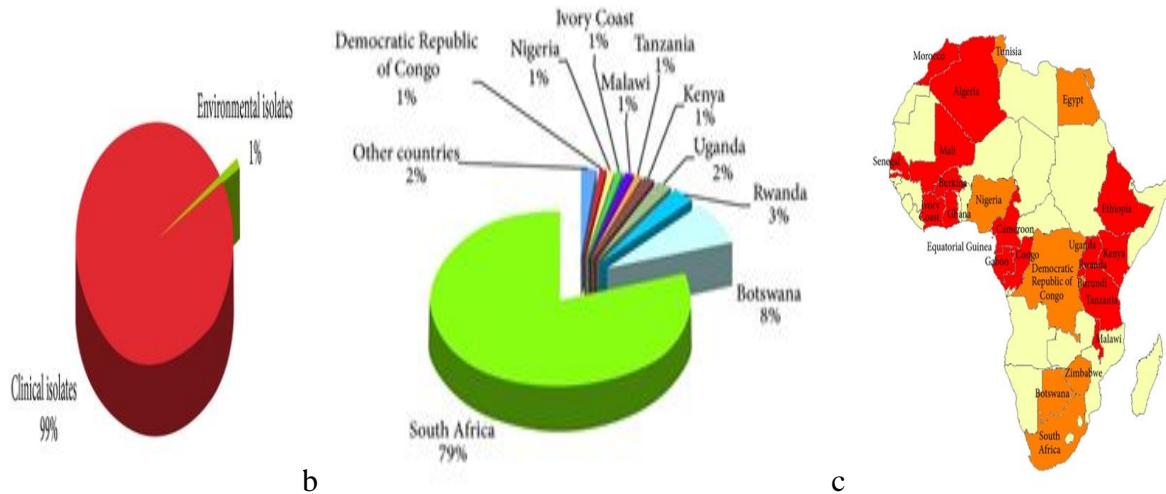


Figure 7: Pourcentage d'isolats de *Cryptococcus neoformans* et de *Cryptococcus gattii* provenant de sources cliniques et environnementales (a). Répartition des isolats de *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gattii* dans les différents pays africains (b). Carte de répartition géographique des isolats de *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gattii* en Afrique (c). Des isolats cliniques ont été signalés dans des pays de couleur rouge, tandis que des isolats cliniques et environnementaux ont été signalés dans des pays de couleur orange n=19 n=211.

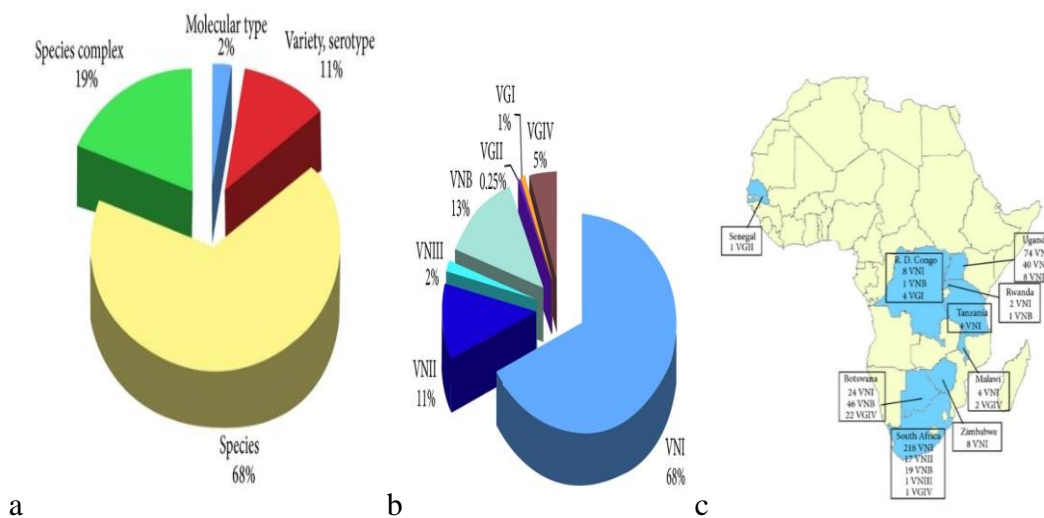


Figure 8 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcus neoformans* et de *Cryptococcus gattii* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotype ou du type moléculaire (a). Prévalence des différents types moléculaires VN et VG parmi les isolats identifiés au niveau du type moléculaire (b). Distribution géographique des types moléculaires identifiés en Afrique (c). Les données de typage moléculaire ont été combinées à partir des références suivantes : Sénégal, République Démocratique du Congo, Ouganda, Rwanda, Tanzanie, Malawi, Zimbabwe, Botswana et Afrique du Sud.

6.2. En Algérie

L'augmentation du nombre de cas de cryptococcose est liée au Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) qui fait suite à l'épidémie du SIDA dans les années 1980.

Partie Théorique

La cryptococcose est d'ailleurs considérée comme une infection définissant le stade SIDA selon la classification du CDC et le consensus sur la cryptococcose en 2008.

Selon le ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière et l'Institut National de Santé Publique (INSP 2017), l'Algérie aurait enregistré plus de 12 000 cas de VIH/SIDA depuis l'apparition de la maladie dans le pays en 1985, jusqu'au 30 septembre 2017, soit une moyenne de 700 à 800 cas annuellement (INSP 2017). Cette augmentation de cas de SIDA est liée aux modifications dans les comportements, notamment par un nombre accru de partenaires sexuels, la toxicomanie et les voyages à l'étranger, contribuant ainsi à la propagation du VIH et à des infections opportunistes telles que la cryptococcose.

Selon une étude Algérienne, présentée et validée à Alger par des experts de l'association AIDS Algérie en Mai 2018, 51% des jeunes âgés entre 15 et 24 ans ont reconnu qu'ils n'utilisaient pas de préservatifs lors des rapports sexuels, et que le premier rapport sexuel d'un jeune se fait à partir de l'âge de 17 ans.

L'enquête réalisée entre 2002 et 2015 au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Mustapha, et qui a montré que la cryptococcose est survenue chez 18/24 patients infectés par le VIH (75 %) et 25 % chez les non VIH.

De même, Karaouzène. M et al, en 2012, à Alger, avaient retrouvé sur une série de 77 cas de cryptococcose neuro-méningée que le VIH/SIDA représentait le facteur de risque numéro1 avec 77,9 % des cas. Les autres pathologies sous-jacentes rapportées sont la transplantation rénale, les maladies systémiques, le diabète et les hémopathies malignes, la coinfection avec *Cryptococcus* à savoir un diabète décompensé (n = 2) et un lymphome. Cependant, mais sur une petite série, Aissat.F.Z. et al. 2012, lors d'une journée internationale d'infectiologie, ont présenté 4 cas de cryptococcose neuro-méningée documentées chez des patients séronégatifs pour le VIH. Trois (3) des 4 patients présentaient une pathologie favorisant (n = 1). Le quatrième patient ne présentait aucun facteur de risque et donc d'apparence immunocompétent (7).

6.3.En Europe

La carte de la figure09 montre les pays européens signalant l'isolement d'au moins une souche du complexe d'espèces *Cryptococcus*. Les données manquaient pour certains pays des Balkans et d'Europe de l'Est. La majorité des isolats ont été signalés en France, en Espagne, en Italie et au Royaume-Uni, représentant 82 % du total (736). Neuf pour cent des isolats ont été détectés à partir de sources environnementales et vétérinaires (figure09).

Partie Théorique

C. neoformans non seulement isolé dans les excréments de pigeons et d'autres oiseaux, mais aussi dans les excréments de guano de chauve-souris et de renard roux [65, 191, 192 n=8]. Les isolats vétérinaires comprennent des souches récupérées de chat, de chien, de pie et certains isolats de souris à herbe rayée et de dégu vivant dans un zoo. Peu de souches de *C. neoformans* ont été isolées d'arbres, à savoir d'*Eucalyptuscamaldulensis* et de chêne. La plupart des isolats naturels de *C. gattii* provenaient d'*Eucalyptuscamaldulensis*, de douglas, de caroubier et de pin parasol, tandis que des infections animales à *C. gattii* ont été signalées chez un furet et chez certaines chèvres(10).

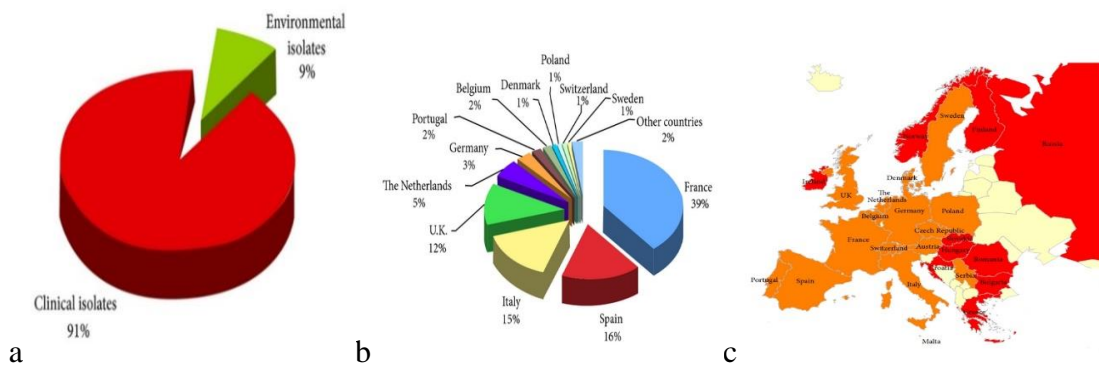


Figure 9 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcus neoformans* et de *Cryptococcus gattii* provenant de sources cliniques et environnementales. (a) Répartition des isolats de *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gattii* dans les différents pays européens (b). Carte de répartition géographique des isolats de *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gattii* en Europe (c). Des isolats cliniques ont été signalés dans des pays de couleur rouge, tandis que des isolats cliniques et environnementaux ont été signalés dans des pays de couleur orange.

La variété ou le sérotype a été déterminé dans 34 % des isolats européens, les espèces dans 25%, le type moléculaire dans 15 %, tandis que les 26 % ont été signalés comme étant un complexe d'espèces *Cryptococcus* (Figure 10). Au total, 6 371 isolats ont été identifiés comme *C. neoformans* et 94 comme *C. gattii*(9).

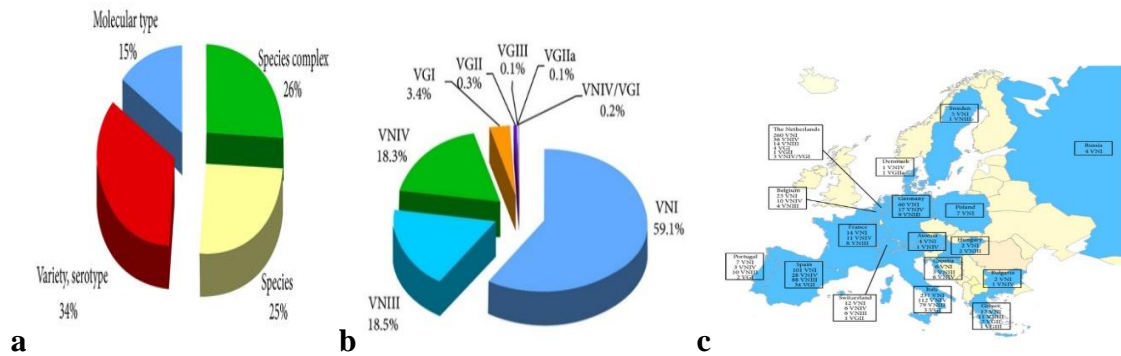


Figure 10 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcus neoformans* et de *Cryptococcus gattii* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotype ou du type moléculaire (a). Prévalence des différents types moléculaires VN et VG parmi les isolats identifiés au niveau du type moléculaire (b). Distribution géographique des types moléculaires identifiés en Europe (c). Les données de typage moléculaire ont été combinées à partir des références suivantes : Portugal, Espagne, France, Belgique, Pays-Bas, Suisse, Autriche, Italie, Allemagne, Danemark, Suède, Bulgarie, Russie, Grèce, Croatie, Hongrie et Pologne.

Les données européennes de typage moléculaire sont présentées à la figure 10. La majorité des isolats appartiennent au type moléculaire VNI (59 %), bien que les types moléculaires VNIII et VNIV aient également été signalés dans la plupart des pays représentant respectivement 18,5 % et 18,3 %. La distribution des types moléculaires de *C. gattii* en Europe n'est pas encore bien définie. Le VGI est le type moléculaire prédominant, avec 43 isolats signalés au Portugal, en Espagne, en Italie et aux Pays-Bas. Peu d'isolats de VGII ont été signalés en Grèce, en Suisse, aux Pays-Bas et au Danemark, et un seul isolat de VGIII a été trouvé en Grèce. Une observation pertinente est l'absence de résultats de typage du Royaume-Uni, malgré le fait que 12% des isolats européens ont été signalés dans ce pays (Figure 10).

6.4. En Amérique centrale et du sud

Parmi les 10 548 isolats du complexe d'espèces *Cryptococcus* signalés en Amérique centrale et du Sud, les 53 % ont été signalés au Brésil, 22 % en Colombie, 15 % en Argentine et un pourcentage plus faible dans d'autres pays. Au total, 8 590 (81 %) souches ont été isolées à partir de sources cliniques et 1 958 (19 %) à partir de sources environnementales et vétérinaires (Figure 11). Des isolats naturels de *C. neoformans* ont été détectés dans les excréments de pigeons et d'autres oiseaux, le sol, la poussière et les habitations contaminées, ainsi que dans l'*eucalyptus*, l'amandier, le kassod, l'arbre rose, *Caesalpinia peltophoroides*, et *Anadenanthera peregrina*. Certains isolats ont également été récupérés chez des insectes, des taureaux et des moutons. *C. gattii* a été isolé du sol, de la poussière et des excréments d'oiseaux

Partie Théorique

psittaciformes , et d' *Eucalyptus camaldulensis* , d'amandier, de kassod, d'arbre de poterie, d'arbre de la jungle, de *Corymbiaficifolia* et de *Cephalocereusroyenii* .Une infection animale due à *C. gatti* a été signalée chez un guépard, une chèvre et certains oiseaux psittacidés(09).

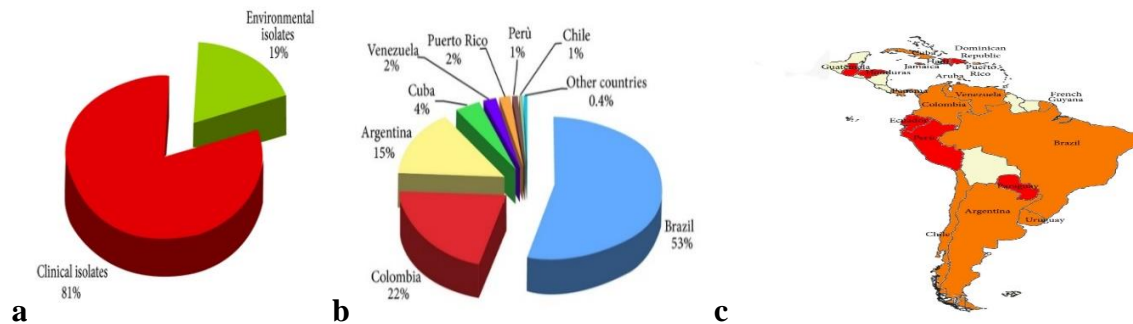


Figure 11 :Pourcentage d'isolats de *Cryptococcusneoformans* et de *Cryptococcusgatti* provenant de sources cliniques et environnementales (a). Répartition des isolats de *Cryptococcusneoformans* et *Cryptococcusgatti* dans les différents pays d'Amérique centrale et du Sud (b). Carte de la répartition géographique des isolats de *Cryptococcusneoformans* et *Cryptococcusgatti* en Amérique centrale et du Sud (c). Des isolats cliniques ont été signalés dans des pays de couleur rouge, tandis que des isolats cliniques et environnementaux ont été signalés dans des pays de couleur orange n=8n=11.

Soixante-dix-sept pour cent des isolats ont été identifiés au moins au niveau de l'espèce (32 % en tant que variété ou sérotype, 23 % en tant qu'espèce et 22 % en tant que type moléculaire) et 23 % ont été signalés comme étant un complexe d'espèces *Cryptococcus* (Figure12). *C. neoformans* a été reconnu dans 6 665 isolats et *C. Gatti* dans 1 464 isolats. L'analyse combinée des données de typage moléculaire rapportées au Brésil (1 439 isolats) a montré que tous les types moléculaires, à l'exception du VGIV, sont représentés dans ce pays. La majorité des isolats au Brésil appartiennent au type moléculaire VNI suivi du VGII (n=1033n=266), tandis que VNII, VNIV, VGI et VGIII se sont produits dans un pourcentage inférieur mais similaire. Deux isolats de VNIII ainsi qu'un hybride VNI/VGII ont également été signalés. En Colombie (542 isolats), la prévalence des types moléculaires était similaire à celle observée au Brésil, à l'exception du VGIII, qui s'est produit dans un pourcentage plus élevé que le VNII, le VGI et le VGIV, ainsi que le VNIV, qui n'a été reconnu que dans un isolat. Les hybrides VNIII AD semblent absents en Colombie. Les données de l'Argentine (94 isolats) ont montré que le type moléculaire VGI est le génotype prédominant parmi les isolats de *C. Gatti*, contrairement à celui observé au Brésil et en Colombie, où il s'agit du VGII. A Cuba, 198 isolats VNI ont été détectés, alors qu'un seul isolat était VGI. Au contraire, dans le proche Porto Rico, seul *C. gatti* isolats (16 VGII et un VGIV)

Partie Théorique

ont été signalés (Figure 12). Enfin, les quatre types moléculaires de *C. neoformans* ont été signalés au Chili, mais aucun isolat de *C. gattii* a été trouvé (9).

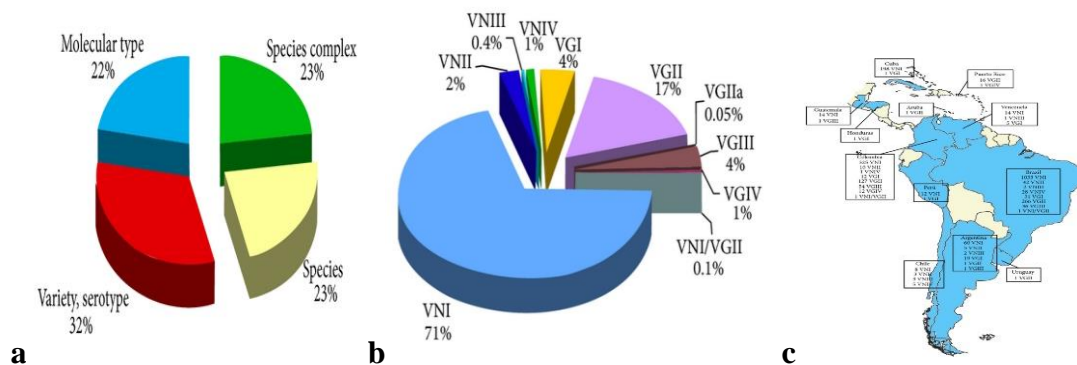


Figure 12 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcus neoformans* et de *Cryptococcus gattii* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotypage ou du type moléculaire (a). Prévalence des différents types moléculaires VN et VG parmi les isolats identifiés au niveau du type moléculaire (b). Distribution géographique des types moléculaires identifiés en Amérique centrale et du Sud (c). Les données de typage moléculaire ont été combinées à partir des références suivantes : Guatemala, Honduras, Cuba, Porto Rico, Aruba, Venezuela, Colombie n=10n=2, Pérou, Uruguay, Brésil, Argentine, et Chili.

6.5. En Amérique du Nord

Un total de 7 922 isolats de *C. neoformans* et *C. gattii* ont été signalés aux États-Unis (79 %), au Canada (15 %) et au Mexique (6 %). Quarante-vingt pour cent des isolats provenaient de sources cliniques, tandis que 20 % provenaient de l'environnement et d'animaux (figure 13). Les fientes de pigeon ont été la principale source d'isolement de *C. neoformans*, bien qu'au Mexique, elle ait également été isolée à partir de fruits et légumes. Trois isolats de *C. neoformans* (deux au Canada et un aux États-Unis) ont causé une infection chez les furets. Isolement de *C. gattii* provenant de l'environnement et des animaux a été largement signalé au Canada pendant la surveillance de l'éclosion de *C. gattii* sur l'île de Vancouver. Le sol, les arbres et les animaux vivant sur l'île de Vancouver (chiens, chats, chevaux, furets et oiseaux) ont été colonisés ou infectés par ce pathogène. À l'extérieur du Canada, des isolats de VGIIa ont été trouvés dans l'environnement et chez les animaux (air, eau, sol, arbres, chats, chiens, alpagas et perroquets) en Oregon et dans l'État de Washington, et une souche de VGI a été isolée d'*Eucalyptus camaldulensis* au Mexique.

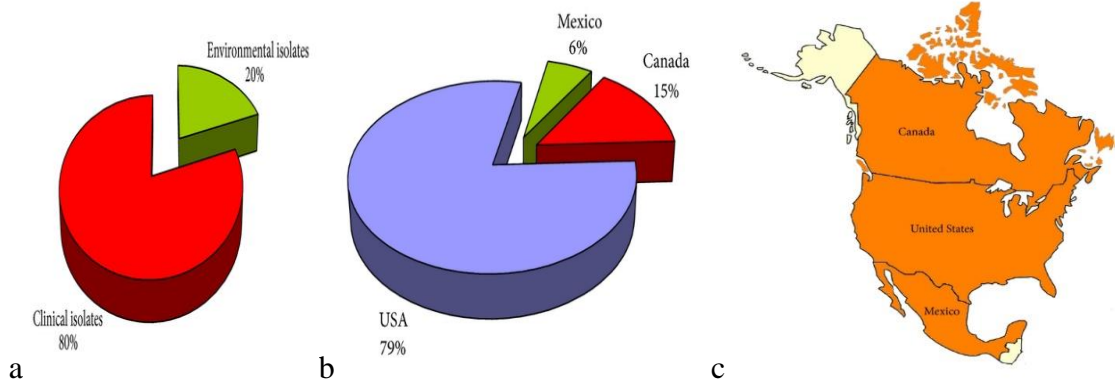


Figure 13 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcus neoformans* et de *Cryptococcus gatti* provenant de sources cliniques et environnementales (a). Répartition des isolats de *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gatti* dans les différents pays d'Amérique du Nord (b). Carte de la répartition géographique des isolats de *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gatti* en Amérique du Nord (c). Des isolats cliniques ont été signalés dans des pays de couleur rouge, tandis que des isolats cliniques et environnementaux ont été signalés dans des pays de couleur orange n=6n=1.

Près de la moitié des isolats (49 %) signalés en Amérique du Nord ont été identifiés uniquement comme un complexe d'espèces de *Cryptococcus*, 10 % ont été identifiés au niveau de l'espèce, tandis que la variété ou le sérotype a été signalé pour 21 %. Le type moléculaire a été déterminé dans 20% des isolats (Figure 14). Malgré le fait que *C. neoformans* a été plus fréquemment isolé en Amérique du Nord que *C. Gatti* (3 148 contre 885 isolats, resp.), 39 % des isolats identifiés par les techniques moléculaires appartiennent au type moléculaire VGIIa. Cela est dû aux efforts considérables déployés pour découvrir la cause de l'épidémie de l'île de Vancouver qui, à l'heure actuelle, comprend 473 isolats VGIIa, 57 VGIIb et 70 VGI. De plus, une étude récente a rapporté l'infection d'un patient canadien par une souche hybride interspécifique VNI/VGI AB [122 n=1]. Le VNI était le type moléculaire le plus répandu aux États-Unis et au Mexique, où le VNII, le VNIII, le VNIV et le VGI sont également présents dans des pourcentages inférieurs. Les types moléculaires VGII et VGIIa *C. gattii* ont été signalés sur la côte nord-ouest du Pacifique des États-Unis, tandis que VGIII a été signalé plus fréquemment au Mexique et en Californie du Sud. Cinq isolats de VGIV ont été signalés au Mexique, bien que ce type moléculaire soit absent au Canada et aux États-Unis(9).

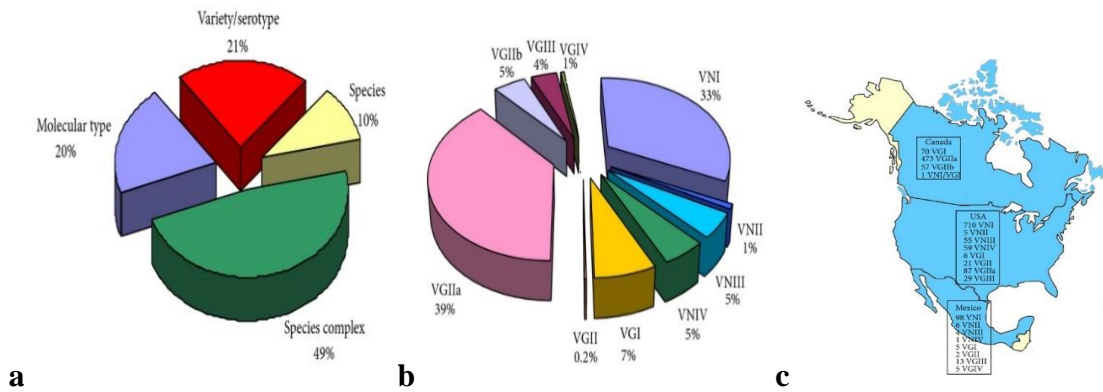


Figure 14 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcus neoformans* et de *Cryptococcus gattii* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotipe ou du type moléculaire (a). Prévalence des différents types moléculaires VN et VG parmi les isolats identifiés au niveau du type moléculaire (b). Distribution géographique des types moléculaires identifiés en Amérique du Nord (c). Les données de typage moléculaire ont été combinées à partir des références suivantes : Mexique, Canada, États-Unis, n=7n=1(9).

6.6. En Asie

L'analyse combinée incluant tous les pays asiatiques a montré qu'un total de 19 651 isolats de *C. neoformans* et *C. gattii* ont été signalés. La Chine, l'Inde et la Thaïlande, ensemble, ont principalement contribué à l'étude rapportant 80 % des isolats asiatiques. Six pour cent des isolats ont été récupérés dans l'environnement ou sur des animaux en Turquie, en Israël, en Iran, en Inde, au Népal, en Chine, en Thaïlande, en Malaisie, à Taïwan, en République de Corée et au Japon (Figure 15). Dans la plupart des études environnementales, *C. gattii* a été isolé à partir d'échantillons d'arbres, à savoir : *Syzygiumcumini*, *Mimusopselengi*, *Azadirachtaindica*, *Acacianilotica*, *Cassiafistola*, *Manikarahexandra*, *Polyalthialongifolia*, *Eucalyptus amaldulensis*, *Tamarindusindica*, *Cassia marginata* et *Mangiferaindica*, tandis que les dix seuls isolats d'origine animale ont été récupérés sur des koalas vivant dans deux zoos différents au Japon. Au contraire, *C. neoformans* était principalement isolé des excréments de pigeons et d'autres oiseaux et moins fréquemment d'arbres tels que l'*eucalyptus*, *Tamarindusarjuna*, *Tamarindusindica*, *Cassiaistola*, *Syzygiumcumini* et *Ficus religiosa*, ainsi que de certains légumes et fruits (tomate, carotte, banane, aubergine, papaye, pomme et goyave). Parmi les animaux, quelques isolats de *C. neoformans* ont été isolés de chat et de chien et un d'un bandicoot (9).

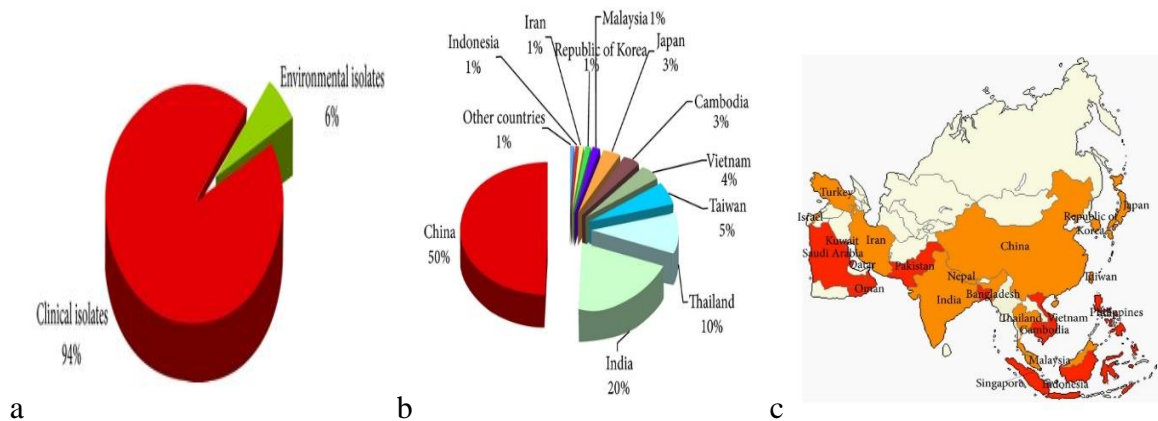


Figure 15: Pourcentage d'isolats de *Cryptococcus neoformans* et de *Cryptococcus gatti* provenant de sources cliniques et environnementales (a). Répartition des isolats de *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gatti* dans les différents pays asiatiques (b). Carte de répartition géographique des isolats de *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gatti* en Asie (c). Des isolats cliniques ont été signalés dans des pays de couleur rouge, tandis que des isolats cliniques et environnementaux ont été signalés dans des pays de couleur orange n=18n=1.

La majorité des isolats asiatiques (74 %) ont été identifiés uniquement au niveau du complexe d'espèces, 7 % au niveau de l'espèce et 11 % au niveau de la variété/sérotype, tandis que le type moléculaire n'a été déterminé que dans 8 % (Figure 16). *C. neoformans* était l'espèce prédominante isolée en Asie étant *C. gattii* environ dix fois moins fréquemment isolée n=1n=5n=682(9).

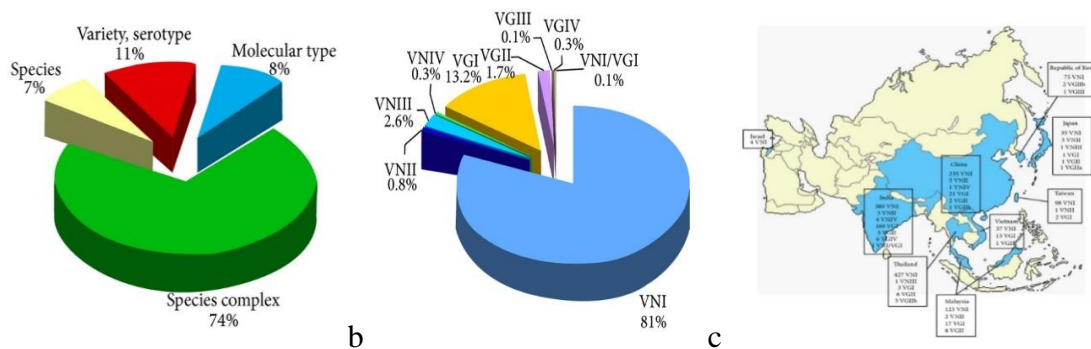


Figure 16 : Pourcentage d'isolats de *Cryptococcus neoformans* et de *Cryptococcus gatti* identifiés au niveau du complexe d'espèces, de l'espèce, de la variété/sérotype ou du type moléculaire (a). Prévalence des différents types moléculaires VN et VG parmi les isolats identifiés au niveau du type moléculaire (b). Distribution géographique des types moléculaires identifiés en Asie (c). Les données de typage moléculaire ont été combinées à partir des références suivantes : Inde, Chine, Thaïlande n=19n=1, Malaisie, Vietnam, Taïwan, Japon, République de Corée et Israël.

Quatre-vingt-un pour cent des isolats appartiennent au type moléculaire VNI et 13,2 % au type moléculaire VGI. Le type moléculaire VGII est également représenté, bien qu'en faibles

Partie Théorique

pourcentages, dans tous les pays asiatiques inclus dans l'analyse, à l'exception d'Israël et de Taïwan. Les types moléculaires VNIII et VNIV sont présents en Chine et en Inde, ainsi qu'un isolat de VNIII a été signalé en Thaïlande, alors qu'ils sont absents dans les autres pays asiatiques. Des isolats appartenant au type moléculaire VGIV et un hybride interspécifique VN1/VG1 n'ont été signalés qu'en Inde (Figure 16). VGIII semble être très rare ou absent en Asie puisqu'un seul isolat a été détecté en République de Corée (9).

Bien que de nombreuses techniques moléculaires aient été appliquées aux souches de sous-type *C. neoformans* et *C. gattii*, seules trois méthodes se sont avérées produire des résultats comparables : empreintes PCR, AFLP et MLST, comme le montre tableau suivant:

Tableau 01: Nomenclature du génotype adoptée par les principales techniques de typage moléculaire et correspondance avec la nomenclature standard(9).

Species/variety	Standard nomenclature	PCR-fingerprinting M13	PCR-fingerprinting (GACA) ₄	AFLP	MLsT	Reference strains
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i>	VNI	VNI	VN6	AFLP1	VNI	ATCC MYA-4564
	VNII	VNII	VN6	AFLP1A or AFLP1B	VNII	ATCC MYA-4565
	VNB	VNI or VNII	VN6	AFLP1A or AFLP1B	VNB	bt1, bt131, bt100
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	VNIV	VNIV	VN1	AFLP2	—	ATCC MYA-4567
Inter-varietal AD hybrids	VNIII	VNIII	VN3 or VN4	AFLP3	—	ATCC 32045
<i>C. gattii</i>	VGI	VGI	—	AFLP4	VGI	ATCC MYA-4560

Partie Théorique

	VGII	VGII	—	AFLP6	VGII	ATCC MYA- 4561
	VGIII	VGIII	—	AFLP5	VGIII	ATCC MYA- 4562
	VGIV	VGIV	—	AFLP7	VGIV	ATCC MYA- 4563
Inter-species hybrids	VNI/VGI	VNI/VGI	—	AFLP9	—	CBS 10496
	VNIV/VGI	VNIV/VGI	—	AFLP8	—	CBS 10488
	VNI/VGII	VNI/VGII	—	—	—	WM 05- 272

7. Facteurs de virulence

La capsule polysaccharidique est le principal facteur de virulence de *Cryptococcus*. La capsule est également antiphagocytaire et interfère donc avec l'absorption de l'organisme nécessaire à l'activation, à la maturation et au traitement antigénique des cellules dendritiques (DC). Par conséquent, la capsule interfère avec la fonction des lymphocytes T. De plus, GalXM induit l'apoptose des cellules T humaines et, par ce mécanisme, inhibe directement l'immunité à médiation cellulaire. Le GXM peut inhiber directement la prolifération des lymphocytes T et l'apoptose induite par GalXM et GXM des macrophages. En dépit de ces mécanismes puissants d'évasion immunitaire, la capsule contient également des mannoprotéines, qui sont les principaux antigènes des cellules T qui déclenchent l'immunité de l'hôte. Un examen complet des effets de la capsule sur les défenses de l'hôte est disponible ailleurs.

La mélanine est un autre composant de virulence important de *Cryptococcus*. En plus d'être antigénique, la mélanine a une résistance physique et chimique élevée qui la rend résistante à la dégradation. Il s'ensuit que ses propriétés redox lui confèrent la capacité de neutraliser les radicaux libres. Des études *in vitro* et *in vivo* ont démontré que la mélanine peut se lier à de nombreuses substances, telles que les antibiotiques et les métaux lourds, et un certain

Partie Théorique

nombre de protéines, ainsi que des peptides antimicrobiens normalement produits par l'hôte. La laccase, nécessaire à la production de mélanine, est également l'un des principaux facteurs de virulence de *C. neoformans*. Elle est presque exclusivement localisée sur la paroi cellulaire du cerveau, suggérant un rôle plus prédominant de l'enzyme lors de l'infection du cerveau, et peut expliquer dans une certaine mesure le tropisme du cerveau. Cependant, la mélanine peut également représenter une cible thérapeutique car les anticorps contre la mélanine peuvent inhiber la croissance *in vitro* de *Cryptococcus* et protéger les souris de l'infection.

La capacité de *Cryptococcus* à croître à 37 ° C est un autre facteur de virulence. Des études de mutation ont montré qu'une faible croissance dans un milieu minimum à 37 ° C est corrélée à une faible infectivité. Le type d'accouplement de *Cryptococcus* peut également être un facteur de virulence; le type α -mating représente jusqu'à 99,9% des isolats cliniques et environnementaux. *C. neoformans* est capable de changer de phénotype *in vivo*, ce qui provoque la production d'une colonie gélatineuse *in vitro* et facilite sa persistance dans les tissus.

C. Gatti est également capable de subir un changement phénotypique qui favorise la dissémination vers le SNC. Le mécanisme par lequel la commutation phénotypique améliore la pathogénèse n'est pas bien compris, mais peut être en produisant une réponse inflammatoire excessive de l'hôte.

La cryptococcique phospholipase B1 est impliquée dans la virulence de *C. neoformans*. La phospholipase B1 est une enzyme multifonctionnelle contenant les activités de la phospholipase B, de la lysophospholipase et de la lysophospholipasetransacylase. Les deux *in vitro* et *in vivo* les expériences ont établi que la phospholipase B1 facilite l'adhérence à l'épithélium du poumon, de l'établissement de l'infection pulmonaire interstitielle, la survie et la reproduction des *Cryptococcus* dans les macrophages, et la diffusion du poumon par le système lymphatique et le sang.

L'uréasecryptococcique est un autre facteur de virulence majeur pour *C. neoformans*. Il a été démontré qu'il augmente l'accumulation de cellules dendritiques immatures et induit également une réponse immunitaire Th2 puissante, mais non protectrice, chez la souris (4).

8. Réponse de l'hôte et Pathogénèse

La cryptococcose commence par l'inhalation de cellules de levure desséchées en suspension dans l'air, ou éventuellement de basidiospores produites sexuellement, dans les poumons (Fig.17). Les propagules étant petites (1,5 à 3,5 μm), elles atteignent les voies respiratoires distales et entrent en contact avec les macrophages alvéolaires. Les preuves

Partie Théorique

sérologiques indiquent que l'infection cryptococcique chez l'homme est répandue mais la maladie est rare. Les macrophages alvéolaires activés recrutent d'autres cellules immunitaires par le biais de cytokines et de chimiokines et provoquent une réponse Th1 appropriée et une inflammation granulomateuse. Donc la réponse de l'hôte aux cryptocoques est principalement basée sur des données animales et les lecteurs sont renvoyés à une revue récente pour obtenir des informations détaillées sur la réponse de l'hôte dans les poumons (10).

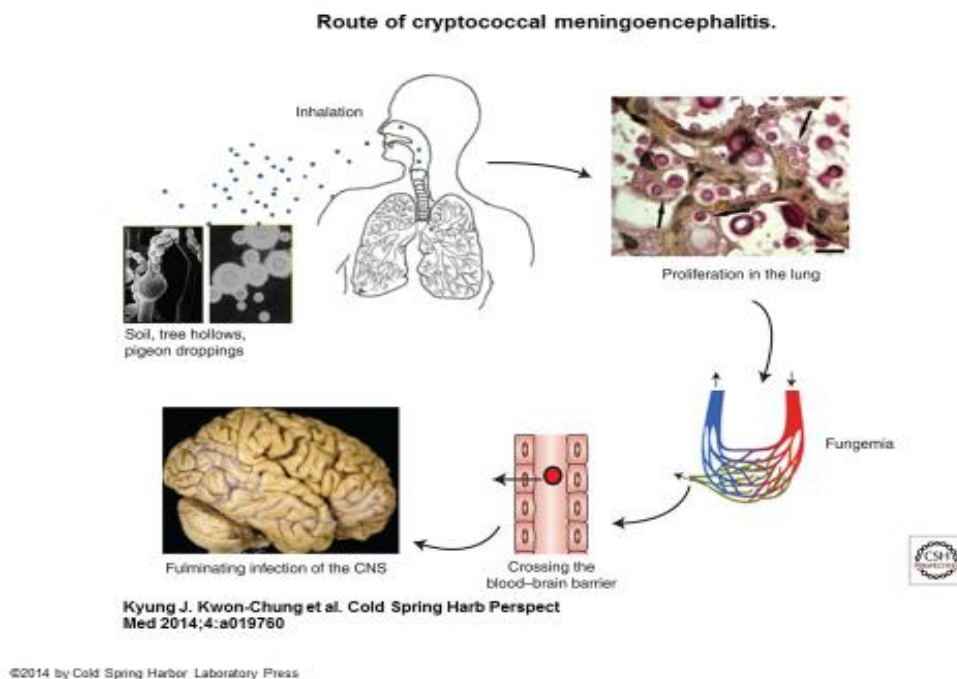


Figure 17 :Voie de la méningo-encéphalite cryptococcique.

Les cellules cryptococciques aéroportées sont inhalées par l'hôte et prolifèrent dans les poumons avant de se disséminer de manière hématogène vers le cerveau (10).

Chez un hôte normal, une réponse immunitaire efficace élimine la plupart des cryptocoques inhalés. En revanche, chez un hôte immunodéprimé, les cellules cryptococciques prolifèrent, se diffusent de manière hématogène vers le cerveau en traversant la barrière hémato-encéphalique, et s'adaptent aux niveaux sous-optimaux d'oxygène et aux conditions nutritionnelles. Du cerveau à se multiplier et à provoquer une méningo-encéphalite. Bien que pratiquement tous les organes du corps puissent être impliqués, l'infection du système nerveux central (SNC) est la manifestation clinique la plus courante de la cryptococcose et la cause la plus fréquente de décès. Une infection du SNC non traitée est uniformément mortelle. Une autre infection cryptococcique fréquente est la formation d'un petit complexe poumon-lymphe où les

Partie Théorique

levures restent viables mais dormantes et ces patients restent cliniquement asymptomatiques jusqu'à la perte de l'immunité locale résultant de diverses causes telles qu'un traitement corticostéroïde, la progression d'une infection par le VIH ou d'autres conditions immunosuppressives. Lors de cette perte d'immunité, les cellules de levure dormantes sont activées et commencent à se multiplier dans le complexe pulmonaire-ganglion lymphatique et à se disséminer dans les sites extrapulmonaires. Cette réactivation de l'infection latente a été observée principalement avec l'infection à *C. neoformans* comme l'incidence la plus courante chez les patients atteints du SIDA, contribuant à la définition de la cryptococcose comme une maladie définissant le SIDA (10).

En revanche, l'infection causée par *C. Gatti* survient plus souvent chez les patients immunocompétents avec ou sans pathologie sous-jacente connue. Bien que *C. neoformans* se présente principalement sous forme de méningo-encéphalite, l'infection pulmonaire est considérablement plus fréquente avec l'infection à *C. Gatti*. Les études animales ont confirmé ces différences dans les principaux organes cibles entre les deux espèces; les souris infectées par *C. neoformans* ont succombé à l'infection par une infection du SNC, tandis que les souris infectées par *C. Gatti* sont mortes d'une infection pulmonaire (10).

II. . Cryptococcose

1. Population à risque

Les patients à risque sont tous ceux souffrant d'un déficit de l'immunité cellulaire ou les malades « débilisés ».

1.1. Les patients atteints du VIH stade SIDA

Depuis le début des années 80, les patients porteurs du VIH sont les plus exposés au risque de cryptococcose.

1.2. Les patients atteints de néoplasies

Les patients porteurs de cancers solides (poumon, foie, tractus intestinal ou génito-urinaire) ou d'hémopathies malignes telles que les lymphomes malins Hodgkinien ou non, constituent la deuxième population à risque.

L'immunosuppression dans ce cas est secondaire à la maladie néoplasique elle-même mais aussi au traitement par chimiothérapie. Certains sont particulièrement fragilisants. Par exemple, la fludarabine, analogue de la purine, utilisée dans le traitement de certains lymphomes malins non hodgkinien entraîne une altération quantitative et qualitative des lymphocytes T, notamment les CD4, chez les patients traités, les rendant alors plus vulnérables

Partie Théorique

aux infections opportunistes. Les cas de cryptococcose associés au cancer sont de 23% aux USA, 32% en France et 35% en Australie chez les VIH négatifs.

1.3. Les transplantés d'organes

Ils sont fragilisés par les traitements immunosuppresseurs dont ils sont dépendants, notamment la corticothérapie. En France, 19% des cryptococcoses chez les personnes non infectées par le VIH sont diagnostiqués chez des greffés. La proportion n'est que de 13% en Australie et 4% aux USA. Ce sont principalement des greffés rénaux, des greffés hépatiques et très rarement des greffés cardiaques ou coeur-poumons. Sur une cohorte de 157 transplantés rénaux suivis de 1 à 23 mois, quatre cas de cryptococcose ont été diagnostiqués, soit 2,5%. Le risque de cryptococcose chez les transplantés hépatiques varie de 1 à 6% selon les auteurs.

1.4. Les patients sous corticothérapie

La corticothérapie est un facteur de risque majeur retrouvé chez 33% des malades séronégatifs pour le VIH qui développent une cryptococcose en France, 30% en Australie et 18% aux USA.

Elle peut être administrée par voie orale ou même par inhalation comme pour le traitement d'asthme au long cours ou de bronchopathie chronique obstructive.

1.5. Les désordres auto-immuns

La sarcoïdose, le lupus érythémateux disséminé et les autres maladies immunologiques peuvent être prédisposant par les troubles immunitaires qu'ils engendrent, mais c'est surtout la corticothérapie prolongée et les thérapies immunomodulatrices nécessaires à leur traitement qui sont les plus fragilisantes.

1.6. Le diabète

Il est souvent cité comme facteur favorisant, pourtant les études épidémiologiques à grande échelle sont plutôt contradictoires: En Australie et Nouvelle-Zélande, l'étude prospective de la population de 1994 à 1997 retrouve 8 patients diabétiques et atteints de cryptococcose, soit 3,7%, ce qui est peu différent de l'incidence du diabète dans ces pays.

Aux USA, l'équipe de Hajjeh retrouve le diabète au deuxième rang des facteurs de risque chez les sujets non-VIH. Cependant, sur trente patients diabétiques, seize ont au moins un autre facteur de risque et le diabète à lui seul n'est pas associé de façon significative à la cryptococcose. D'autres publications rapportent des observations où le diabète est considéré

Partie Théorique

comme un facteur favorisant, mais il existe d'autres facteurs associés comme un traitement immunosuppresseur pour une greffe d'organes ou une corticothérapie.

1.7. La grossesse

Comme le diabète, elle est considérée comme favorisante et quelques cas sont publiés. En France, entre 1985 et 1993, sur 1013 cas de cryptococcose aucun n'est rapporté chez une femme enceinte. Aux USA, de 1992 à 1994 seulement deux cas ont été observés. En Australie, sur 42 femmes atteintes et en âge de procréer, 4 étaient enceintes mais ce taux n'est pas significativement plus important que dans la population féminine du même âge.

1.8. Autres

Des cryptococcoses ont été décrites associées à des lymphocytopenies idiopathiques, des lymphopénies transitoires, des déficits congénitaux en CD4, des insuffisances rénales et dialyses, des cirrhoses et des hypoglobulinémies.

• Tabac

Dans leur étude cas-contrôle sur la cryptococcose chez les patients VIH-positifs aux États-Unis, Hajjeh et al. Trouvent par analyse multivariable que le fait d'être un fumeur habituel double le risque de cryptococcose. En effet, le tabac inhibe la clearance mucociliaire et altère l'épithélium endobronchique. Il réduirait le fongistatisme des cellules bronchoalvéolaires envers les cryptocoques, en particulier chez les séropositifs pour le VIH. Ce phénomène est expliqué par une accumulation du fer contenu dans la fumée au niveau des macrophages alvéolaires qui perdent leur capacité fongistatique. Une cryptococcose systémique est rapportée par Sampaio chez une femme immunocompétente mais fumeuse.

• Sexe

Plusieurs études montrent une atteinte plus fréquente chez les sujets de sexe masculin. Cette prédominance serait due à une exposition environnementale supérieure, une influence génétique et hormonale. En effet, certains auteurs suggèrent que les oestrogènes pourraient avoir un effet protecteur. L'analyse multivariée de l'équipe australienne montre un risque accru d'infection avec la variété Gatti chez l'homme immunocompétent. Aux USA, l'étude cas-témoins ne montre pas un taux significativement supérieur chez l'homme dans la population séropositive. Pour le reste de la population, il existe un taux légèrement supérieur mais non significatif. Au contraire, en France, le ratio reste en faveur d'une prédominance de l'infection chez l'homme dans les deux populations.

Partie Théorique

•Age

La cryptococcose peut survenir quel que soit l'âge du patient. Il existe cependant quelques variations suivant les populations. Les patients VIH-positifs ont une moyenne d'âge significativement inférieure. L'âge moyen du diagnostic chez les patients séronégatifs est de 49 ans en France et 55 ans aux États-Unis. La cryptococcose est plus fréquente chez les sujets âgés suggérant que l'immunodéficience associée à l'âge est un facteur de risque. Les cas pédiatriques de cryptococcoses sont rares (8/1013 en France; 4/1083 aux États-Unis et 2/312 en Océanie). Une étude rétrospective de 33 cas de cryptococcose chez des enfants séropositifs pour le VIH ne montre pas de différence clinique ou paraclinique par rapport aux adultes infectés mais l'incidence est beaucoup plus faible, de l'ordre de 1,4%. Une explication possible serait la moindre fréquence de leur exposition aux réservoirs environnementaux et la latence entre infection et maladie.

• Les activités de plein air

Elles sont un facteur favorisant retrouvé dans l'étude américaine. En Australie, le risque est augmenté pour les populations vivant en milieu rural ou semi rural comme les aborigènes.

• Le contact avec les pigeons

Bien que *Cryptococcus neoformans* soit retrouvé fréquemment dans les fientes de pigeons, le contact avec ces oiseaux ou d'autres volatiles est rarement identifié comme facteur de risque. Hajjeh et al. ne retrouvent pas de risque accru dans leur étude cas-témoins mais ils ne recherchaient un contact que dans le mois précédent le début de la maladie. Or, on sait que le délai entre la contamination et le développement de l'infection peut être très long.

Par contre, certains cas sont bien documentés: Un fermier suédois a été contaminé suite au nettoyage de nids d'étourneaux dans sa ferme. L'analyse génomique de la souche isolée chez le malade et de celle des nids était similaire. La même souche de *C. neoformans* a été isolée du LCR d'une femme greffée rénale et des excréments de son cacatoès. D'autres cas signalent un contact avec des pigeons voire des blessures infligées par ces oiseaux mais les comparaisons des souches ne sont pas établies. Dans ces exemples, des lésions cutanées sont souvent retrouvées (1).

2. Symptomatologie clinique

2.1. Cryptococcose pulmonaire

Le portage asymptomatique de *Cryptococcus* a été signalé dans les voies respiratoires, en particulier les expectorations et de la peau chez les personnes en bonne santé en tant que résultat d'une exposition environnementale normale. De plus, les patients atteints de maladies

Partie Théorique

chroniques. Les maladies pulmonaires, telles que la bronchite et la bronchectasie, peuvent également avoir une colonisation asymptomatique, les *Cryptococcus* étant isolés de leur crachats pendant de nombreuses années :

- La cryptococcose subclinique peut résulter d'une exposition environnementale, normale les personnes peuvent souffrir d'une pneumonie spontanément résolutive accompagnée d'une sensibilisation. La plupart des infections primaires de ce type n'ont pas de symptômes et ne sont généralement découvertes que par une radiographie pulmonaire de routine. Lorsque présents, les symptômes comprennent la toux, une fièvre légère et des douleurs pleurétiques.

- Une cryptococcose pulmonaire invasive peut survenir chez certains patients lorsque les infections primaires peuvent ne pas se résoudre facilement chez certains patients, ce qui entraîne une pneumonie chronique progressant lentement sur plusieurs années. Les patients peuvent devenir afebrile et s'accompagner d'une toux, quel que soit le nombre de lésions pulmonaires. Les lésions pulmonaires sont souvent asymptomatiques, surtout lorsqu'elles sont chroniques des granulomes se forment. La cryptococcose pulmonaire chronique augmente également le risque de dissémination vers le système nerveux central(12).

Les résultats tomodensitométriques les plus courants chez les patients immunocompétents atteints de cryptococcose sont des nodules pulmonaires. Les nodules sont le plus souvent multiples, plus petits que 10 mm de diamètre et bien définis avec des marges lisses. Les nodules impliquent généralement moins de 10 % du parenchyme et ont tendance à être distribués périphériquement au milieu et Zones supérieures. Lorsqu'il y a plusieurs nodules, ils sont généralement bilatéraux. Associée la cavitation peut être observée dans jusqu'à 40% des cas(12).

2.2. Système nerveux central

La dissémination vers le cerveau et les méninges est la forme clinique la plus courante manifestation de la cryptococcose et comprend la méningite, la méningo-encéphalite ou *Cryptococcus* en expansion :

2.2.1. La méningite

C'est la forme clinique la plus courante, représentant jusqu'à 85 % des nombres total de cas, cependant les signes cliniques sont rarement dramatiques. Les symptômes se développent généralement lentement sur plusieurs mois et comprennent initialement des maux de tête, suivi de somnolence, vertiges, irritabilité, confusion, nausées, vomissements, nuque raideur

Partie Théorique

et défauts neurologiques focaux, tels que l'ataxie. Diminution de l'acuité visuelle et le coma peut également survenir à des stades ultérieurs de l'infection. Les cas à début aigu peuvent se produire également, en particulier chez les patients atteints d'une maladie étendue, et ces patients peuvent se détériorer rapidement et mourir en quelques semaines(12).

2.2.2. La méningo-encéphalite

Elle est due à l'invasion du cortex cérébral, du tronc cérébral et du cervelet est une infection fulminante rare et rapide, conduisant souvent au coma et à la mort en peu de temps. Les symptômes comprennent une réponse lente au traitement et des signes d'œdème cérébral ou d'hydrocéphalite, en particulier l'œdème papillaire.

2.3. Cryptococcose cutanée

Chez les patients atteints du SIDA, les manifestations cutanées représentent le deuxième site le plus fréquent de cryptococcose disséminée. Les lésions surviennent souvent sur la tête et le cou et peuvent se présenter sous forme de papules, nodules, plaques, ulcères, abcès, plaques ulcérées cutanées, lésions herpétiformes, lésions simulant à la fois le molluscum contagiosum et le sarcome de Kaposi. Une ulcération anale peut également survenir.

2.3.1. Cryptococcose cutanée primitive

Elle se présente sous forme de lésions ulcérées ou de cellulite survient occasionnellement, en particulier chez les patients immunodéprimés. Ces lésions peuvent disparaître spontanément ou avec un traitement antifongique systémique. Cependant, tous les patients présentant des lésions cutanées doivent être surveillés attentivement pour une éventuelle dissémination vers le système nerveux central.

2.3.2. Cryptococcose cutanée secondaire

Elle survient chez jusqu'à 15 % des patients atteints de cryptococcose disséminée et indique souvent un mauvais pronostic. Les lésions commencent généralement par de petites papules qui s'ulcèrent par la suite, mais peuvent également se présenter sous forme d'abcès, de nodules érythémateux ou de cellulite.

2.3.3. Autre localisation

- Infection cryptococcique des os et des articulations,
- Péritonite cryptococcique,
- Cryptococcose prostatique,
- Cryptococcose oculaire,

-Endocardite cryptococcique (12).

3. Diagnostic

3.1. Diagnostic mycologique

3.1.1. Examen direct des prélèvements

L'examen direct recherche la présence de levures rondes, capsulées, parfois bourgeonnantes après centrifugation, dans le LCR, les urines, les produits du lavage broncho-alvéolaire, le pus, les biopsies.

Le test à l'encre de Chine réalisable pour les liquides biologiques : met en évidence la capsule spécifique du genre *Cryptococcus* en particulier dans le LCR. Ce dernier est clair, en général, avec une formule mixte ou lymphocytaire (10 à 100 éléments/mm³) associé à une hypoglycorachie et une hyperprotéinorachie. Cependant, il peut être normal sur le plan cellulaire et chimique chez le sidéen.

Pour les biopsies on peut utiliser la coloration au Muci-carmin, bleu Alcian ou Fontana-Masson. Ces colorations colorent la capsule (à la différence du MGG).

- **Culture et identification**

La culture est indispensable pour l'identification de l'espèce et repose sur le milieu de Sabouraud sans Actidione® (cycloheximide) auquel le genre *Cryptococcus* est constamment sensible. La levure pousse généralement en 3 à 5 jours sous la forme de colonies d'aspect muqueux, coulant et de couleur beige.

Les critères d'identification mycologique associent :

- * présence d'une capsule (si elle est réduite, repiquer sur milieu maltosé)
- * croissance à 37°C (pour les deux variétés de *C. neoformans*)
- * test à l'uréase positif en 3 heures, déterminant.

3.1.2. Diagnostic indirect : recherche de l'antigène circulant :

L'antigène capsulaire peut être mis en évidence dans le LCR, le sérum, les urines ou le LBA par un test d'agglutination au latex ou immunoenzymatique. Le test d'agglutination utilise des particules de latex sensibilisées par des anticorps anticryptocoques (anticorps polyclonaux de lapin dirigés contre des polysaccharides capsulaires des 4 sérotypes de *C. neoformans*). Ce test est fait systématiquement chez les sidéens (CD4 = 50 mm³). Il permet la surveillance des rechutes. La recherche des anticorps manque de fiabilité, en particulier chez les patients sont immunodéprimés. Elle n'est donc pas contributive au diagnostic (14).

4. Traitement et prophylaxie

La cryptococcose nécessite la mise en place d'un traitement antifongique dans les plus brefs délais. Ce dernier est composé d'amphotéricine B et de 5-fluorocytosine pendant 15 jours pour les méningo-encéphalites et les pneumopathies sévères, suivi de 10 semaines de fluconazole. En cas d'hypertension intracrânienne, des ponctions évacuatrices peuvent compléter la prise en charge. L'amélioration clinique est lente. Elle nécessite généralement une voire deux semaines. La guérison demande, quant à elle, au minimum 6 semaines de traitement. A noter que des séquelles (cécité, surdité) peuvent persister après la guérison lorsqu'un nerf crânien a été touché. Chez un patient atteint du sida, un traitement prophylactique est systématique tant que son état immunitaire n'est pas amélioré (7).

La prophylaxie repose sur :

- Hygiène générale :

- Réduction de l'exposition aux poussières (aération, ventilation, humidification du sol avant nettoyage).

- Nettoyage et désinfection des locaux et des matériels

- Formation et information des salariés :

- Risques liés à la cryptococcose, hygiène, mesures collectives et individuelles de prévention.

- Respecter les règles d'hygiène

- Mise en place de moyens appropriés, notamment :

- Eau potable, savon, moyens d'essuyage à usage unique (essuie-tout en papier...) et trousse de première urgence (contenu défini avec le médecin du travail).

- Armoires-vestiaires distinctes (vêtements de ville/vêtements de travail), pour éviter la contamination des effets personnels.

- Vêtements de travail et équipements de protection individuelle : appropriés, en bon état, propres et bien entretenus.

- En cas d'immunodépression :

- Suivre l'avis du médecin traitant sur la poursuite de l'activité professionnelle.

- Éviter par principe toute activité exposant à la dispersion de poussières, notamment de fientes.

- Si, après avis médical (médecin traitant et médecin du travail), il y a maintien des activités, évalué avec le médecin du travail les activités nécessitant le port d'une protection respiratoire (3)

III. Partie Pratique :

1. Objectif de l'étude

Connaitre l'épidémiologie environnementale de *Cryptococcus* et sa distribution géographique dans 02 foyers de l'est Algérien : Constantine, Biskra par la recherche dans les fientes de pigeons, les feuilles et les graines d'eucalyptus, les feuilles d'agrumes et les sols.

2. Cadre de l'étude

Il s'agit d'une étude prospective de l'enquête environnemental faite entre 28/04/2021 et 09/05/2021 qui a été réalisée au laboratoire parasitologie et mycologie du CHU à Constantine.

3. Méthodes :

3.1. Prélèvements

Les prélèvements de l'environnement, 25 au total, ont concerné essentiellement les fientes de pigeons, les feuilles et les graines d'Eucalyptus sp et les sols, dans les régions Constantine et Biskra.

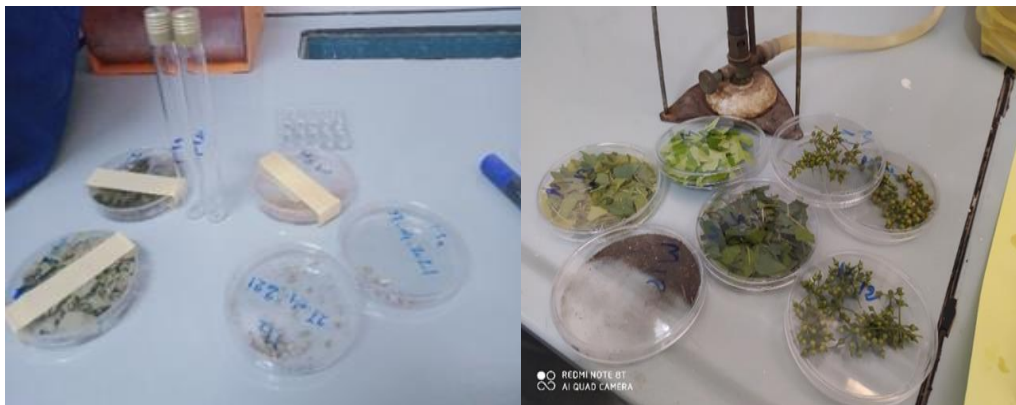


Figure 18 : Des photos des échantillons de l'enquête environnementale.

3.2. Mise en culture des prélèvements de l'environnement

3.2.1. Traitement et Mise en culture des fientes selon le protocole de MariatF

Les prélèvements de fientes ont été traités par une méthode inspirée de celle de Mariat pour l'isolement de *Sporothrix schenckii* des poussières du sol. On pèse 400 mg de fientes, qui seront broyées dans un mortier et que l'on met, ensuite en Suspension dans 10 ml d'eau distillée stérile, contenue dans un tube.

Les suspensions sont agitées au Vortex pendant 15 mn, puis on les laisse sédimenter pendant 15 mn. On ensemence à l'aide d'une pipette Pasteur avec laquelle on étale 0,5 ml de

Partie Pratique

surnageant sur un tube à essai contenant un milieu de Sabouraud sans Chloramphénicol. On incube les cultures à 37°C pendant 48 heures.

3.2. 2. Mise en culture des feuilles et de graines d'Eucalyptus sp, des feuilles d'agrumes et les prélèvements de terre

Concernant les feuilles et les graines d'Eucalyptus et d'agrumes, environ 5 g ont été fragmentée à l'aide d'un mortier, puis mis en suspension dans 50 ml d'eau distillée stérile et agitée au vortex Pendant 2 minutes. Par la suite on laisse les sédiments décanter pendant 15 à 20 minutes. 100µl de la suspension est ensuiteensemencée sur milieu de Sabouraud et incubée à 37°C pendant au moins 10 jours Pour les prélèvements de sol, 5 g de terre a été mise en suspension dans 50 ml d'eau distillée Stérile et mélangée par vortex pendant 2 minutes. On laisse les sédiments décanter pendant 15 minutes puis on prélève 100 µl du surnageant qu'on ensemence sur milieu de Sabouraud et on Incube à 37°C pendant au moins 10 jours.

3.3. Examen macroscopique

Un examen macroscopique nous permet de noter l'aspect et la couleur des colonies de la culture.

3.4. Examen microscopique à l'encre de chine

On met une colonie de culture dans une goutte d'encre de chine diluée au 1/3 ou 1/5^e sur lame.

3.5. Identification biochimique

3.5.1. Galerie API 20 C AUX

- Préparation de la galerie
 - Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
 - Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation
- Préparation de l'inoculum :
 - Ouvrir une ampoule de Suspension Medium (ou un tube d'eau distillée stérile)
 - A l'aide d'une pipette Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu Sabouraud sans chloramphénicol
 - Réaliser une suspension de levure faible de turbidité égale à 2 de McFarland.
 - Mettre 100 UI de suspension de levure dans une ampoule de Suspension Medium.
- Inoculation de la galerie

Partie Pratique

- Remplir les cupules avec 200ul de la suspension obtenue dans API C Medium. Eviter la formation de bulles en posant la pointe de la pipette sur le côté de la cupule.

- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 48-72 heures à 27°C.

➤ Lecture de galerie

- Après l'incubation observe la croissance des levures comparativement à la cupule 0; témoin négative. Une cupule plus trouble que le témoin indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultat.

➤ Interprétation

- Avec le tableau d'identification : comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau : chaque cellule de ce tableau contient les pourcentages de positivité

- Avec le profil numérique : Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1, 2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre à 7 chiffres qui sert de code d'identification

- Avec un logiciel API20 C AUX d'identification

3.5.2. Test à l'uréase sur milieu d'urée indole

➤ Principe de la technique

Les levures du complexe d'espèces *C. neoformans*/*C. gattii* sécrètent une uréase qui dégrade l'urée en ion ammonium et gaz carbonique. Le milieu d'urée d'indole contient de l'urée et un indicateur de pH, le rouge phénol. L'hydrolyse de l'urée conduit à la libération de l'ammoniaque qui alcalinise le milieu ce qui se traduit par un virage de l'indicateur du pH.

➤ Modalité technique : on prélève une colonie de levure avec une anse de platine, qu'on met en suspension dans 1 ml de milieu d'urée indole. On mélange puis on incube la suspension à 37°C pendant 3 heures.

➤ Résultat : l'hydrolyse de l'urée se traduit par un virage de la couleur du milieu qui passe de l'orange au rose foncé.

4. Prélèvement

4.1. Nature et nombre de prélèvement :

Les prélèvements de l'environnement, 25 au total, ont concerné essentiellement les fientes de pigeons (10), les feuilles et les graines d'Eucalyptus (10) ainsi que les sols (04).

Partie Pratique

Les 25 prélèvements sont répartis comme (Tableau 02) :

Tableau 02 : le nombre des prélèvements.

Les prélèvements	Nombre
Les Fientes	10
Feuilles d'Eucalyptus sp	07
Graines d'Eucalyptus sp	03
Feuilles d'agrumes	01
Sols	04

4.2. Site des prélèvements

Comme le montre de (Tableau 03) les sites des prélèvements de l'enquête environnementale.

Tableau 03 : Sites des prélèvements de l'enquête environnementale.

Prélèvement Et numéro Endroit	Les Fientes		Feuilles d'Eucalyptus sp		Graines d'Eucalyptus sp	Feuilles d'agrumes	Sols		Totale
Biskra à Ouled Djalal			01	E1			01	E2	02
Khroub à rue bradai hessin n °04 de constantine	06	E3	01	E9			01	E10	08
		E4							
		E5							
		E6							
		E7							
		E8							
Zouaghi Slimane à constantine	01	E11	01	E12			01	E13	03

Partie Pratique

Cité universitaire mantourià Constantine		01	E14					01	
Ziadia	01	E15						01	
Saint-géant à Constantine (Centre-ville)	02	E16						02	
		E17							
En face du service en des maladies infectieuses au CHU de Constantine		01	E18	01	E19			02	
En face du laboratoire de bactériologie au CHU de Constantine						01	E20	01	
A côté du CHU de Constantine		01	E21	01	E22		01	E23	03
En face de l'arrêt de bus des étudiants proche du CHU de Constantine		01	E24	01	E25			02	

Partie Pratique

Les photos suivant présenté les sites des prélèvements 28, 29, 30, 31, 32)



Figure 19: Photo des sites de prélèvement a) arbre de l'agrume, b) arbre d'eucalyptus (au niveau du laboratoire de bactériologie et en face de l'arrêt de bus des étudiants CHUC).



Figure 20 : Photos des sites de prélèvement : arbres d'eucalyptus (au niveau du service des maladies infectieuses et à côté du CHUC).



Figure 21 : Photo des Site de fiente de pigeon.

Partie Pratique

4.3. Déroulement de la pratique du laboratoire

Comme le montre de (tableau 04) les dates des échantillons de l'enquête environnementale.

Tableau 04: dates des échantillons pour l'enquête environnementale

Date les échantillons	Prélèvement	Manipulation dans le laboratoire	Résultat de culture	Examen direct +identification	Résultat de l'identification
E1	23/04/2021	28/04/2021	09/05/2021		
E2	23/04/2021	28/04/2021	09/05/2021		
E3	26/04/2021	28/04/2021	02/05/2021	02/05/2021	04/05/2021
E9	27/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		
E10	26/04/2021	28/04/2021	09/05/2021		
E4	05/05/2021	07/05/2021	09/05/2021		
E5	05/05/2021	07/05/2021	09/05/2021		
E6	05/05/2021	07/05/2021	09/05/2021		
E7	05/05/2021	07/05/2021	09/05/2021	09/05/2021	11/05/2021
E8	05/05/2021	07/05/2021	09/05/2021	09/05/2021	11/05/2021
E11	27/04/2021	02/05/2021	04/05/2021	04/05/2021	07/05/2021
E12	27/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		
E13	27/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		
E14	27/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		
E15	27/04/2021	02/05/2021	06/05/2021	06/05/2021	09/05/2021
E16	25/04/2021	28/04/2021	06/05/2021	06/05/2021	09/05/2021
E17	25/04/2021	28/04/2021	06/05/2021	06/05/2021	09/05/2021
E18	29/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		
E19	29/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		
E20	29/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		
E21	29/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		
E22	29/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		
E23	29/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		

Partie Pratique

E24	27/04/2021	28/04/2021	09/05/2021		
E25	29/04/2021	29/04/2021	09/05/2021		

5. Résultats :

Tous les prélèvements traités ont été mis en culture sur milieu Sabouraud Le tableau 05 montre que les résultats de culture macroscopique et microscopique : E1, E2 obtenu *Champignon filamenteux (mucor)*, E10, E13, E20, E23 obtenu *Aspergillus Niger*, E3, E7, E8, E11, E15, E16, E17 obtenu les levures et pour les restes cultures négatives.

Tableau 05 : Résultats de culture

Résultats Les prélèvements	Culture (macroscopique +microscopique)
E1	<i>Champignon filamenteux (mucor)</i>
E2	<i>Champignon filamenteux (mucor)</i>
E3	Levure en capsulée par l'encre de chine
E9	Négative
E10	<i>Aspergillus Niger</i>
E4	Négative
E5	Négative
E6	Négative
E7	Présence de levure
E8	Levure en capsulé par l'encre de chine
E11	Levure en capsulé par l'encre de chine
E12	Négative
E13	<i>Aspergillus Niger</i>
E14	Négative
E15	Présence de levure
E16	Présence de levure
E17	Levure en capsulée par l'encre de chine
E18	Négative

Partie Pratique

E19	Négative
E20	<i>Aspergillus Niger</i>
E21	Négative
E22	Négative
E23	<i>Aspergillus Niger</i>
E24	Négative
E25	Négative

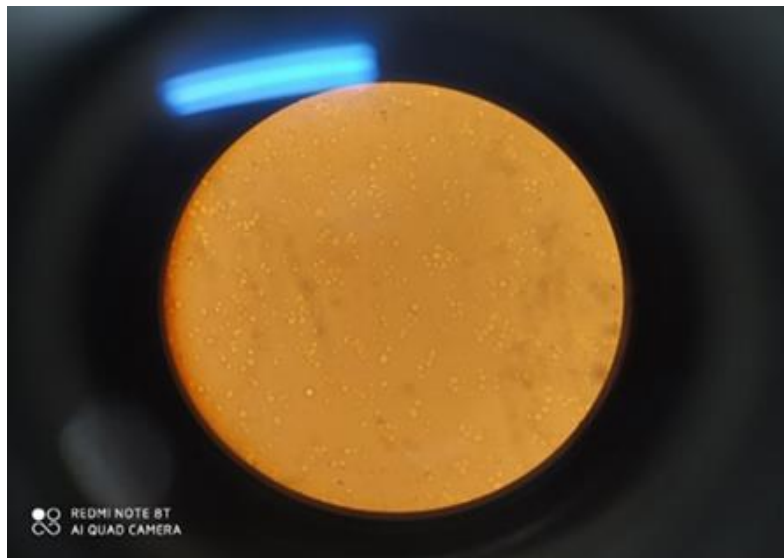


Figure 22:Photo d'observation microscopique de levure *40.

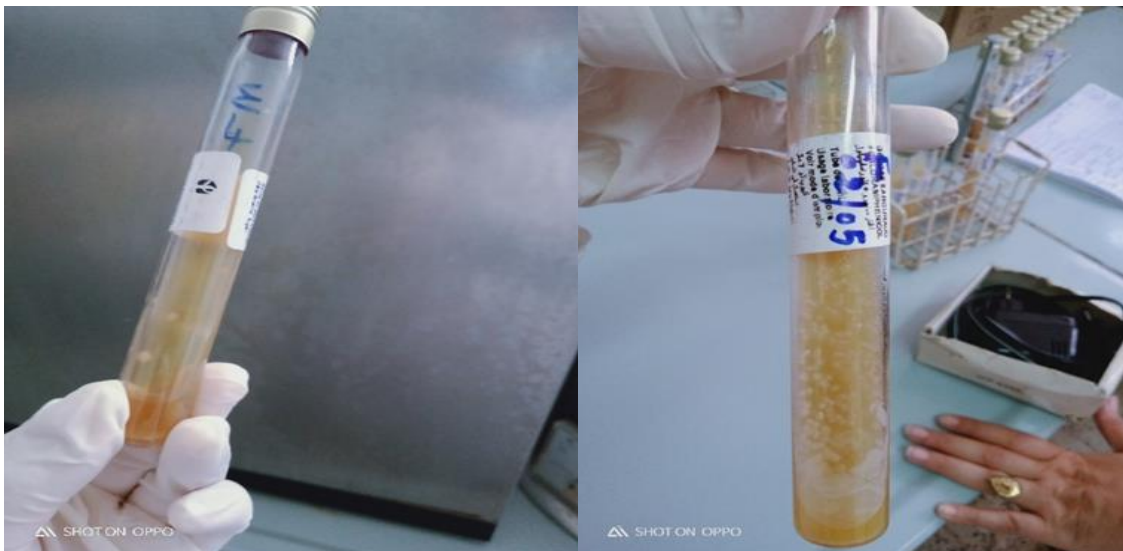


Figure 23 : Photos des observation Macroscopique de *Cryptococcus terrus*

➤ **Interprétation** : On observe des colonies des levures rondes et beige crème
Test uréase positive (+) et Galerie API C AUX 20 : 84.3% *Cryptococcus terrus*.

➤ **Caractère général de *Cryptococcus terrus***

- Levures de forme variable rondes à allongées.
- Reproduction par bourgeonnement multilatéral.
- Présence d'une capsule polysaccharidique autour de la paroi.
- Levures pigmentées en beige à ocre.
- Absence de pseudomycélium.
- Ne fermentent pas les sucres.
- Assimilent l'inositol.
- Sont uréase (+).



Figure 24: Photo de observation Macroscopique de *Cryptococcus Uniguttulatus*.

➤ **Interprétation :** on trouve *Cryptococcus Uniguttulatus* dans les fientes de pigeons (l'aspect de culture forme levure ronde en beige).

➤ **Caractères général de *Cryptococcus Uniguttulatus***

- Levures de forme variable, rondes à allongées.
- Reproduction par bourgeonnement multilatéral.
- Présence d'une capsule polysaccharidique autour de la paroi.
- Levures pigmentées en beige à ocre.
- Absence de pseudomycélium.
- Ne fermentent pas les sucres.
- Assimilent l'inositol.
- Test uréase positive (+)



Figure 25: Photo de Observation Macroscopique de la levure *Candida glabrata*.

➤ **Interprétation** : on observe les colonies rondes en beige Galerie API C AUX 20 indique *Candida glabrata* et test uréase négative.

➤ **Caractères général de *Candida glabrata***

- Levures de forme variable rondes à allongées.
- Reproduction par bourgeonnement multilatéral.
- Le pseudomycélium peut être absent, rudimentaire ou abondant.
- Parfois présence de vrai mycélium.
- Levures non pigmentées. Fermentation + ou (-). Uréase (-).
- Inositol non assimilé. Créatinine non assimilée.



Figure 26: Photo de Observation macroscopique de la levure de *Candida parapsilosis*.

➤ **Interprétation** : on observe colonies ronde et beige c'est indicateur de levure

Résultat de test uréase négative et galerie *Candida parapsilosis* (peut être due à la contamination de culture ou mal manipulation).

➤ **Caractères générale de *Candida parapsilosis*** :

- Levures de forme variable rondes à allongées.
- Reproduction par bourgeonnement multilatéral.
- Le pseudomycélium peut être absent, rudimentaire ou abondant.
- Parfois présence de vrai mycélium. Levures non pigmentées.
- Fermentation + ou (-). Uréase (-). Inositol non assimilé. Créatinine non assimilée.



Figure 27: Photo de Observation macroscopique d'une culture à *Aspergillus Niger*.



Figure 28: Photo de Observation Macroscopique de *champignon filamenteux* (type mucore).

➤ **Interprétation** : on observe les colonies en forme cotonneux blanc envahissant filamenteux.

Tous les prélèvements traités ont été identifiés après la culture et le tableau 06 montre que *Cryptococcus terreus* 99,8% pour E3, *Candida Albicans* 99,8% pour E7, *Cryptococcus terreus* 97,4% pour E8, *Cryptococcusterreus* 79,2% pour E11, *Candida glabrata* 99,7% pour E15, *Candida parapsilosis* 97,9% pour E16, *Cryptococcus Uniguttulatus* 74,4% pour E17 et pour les restes cultures sont négatives. Ainsi que le test uréase pour tous les cultures sont négatives.

Tableau 06 :Résultat de l'identification

Résultats Les prélèvements	d'identification par galerie API 20 C AUX	test uréase
E1		
E2		
E3	<i>Cryptococcusterreus</i> 99,8%	Négative
E9		
E10		
E4		

Partie Pratique

E5		
E6		
E7	Candida Albicans 99,8%	
E8	Cryptococcusterreus 97,4%	
E11	Cryptococcusterreus 79,2%	Négative
E12		
E13		
E14		
E15	Candida glabrate 99,7%	
E16	Candida parapsilosis 97,9%	
E17	CryptococcusUniguttulatus 74 ,4%	Négative
E18		
E19		
E20		
E21		
E22		
E23		
E24		
E25		

Partie Pratique

Et les résultats de galerie API 20 C AUX sont résumés dans les tableaux et figures ci-dessous :



Figure 29 : Photo de Résultat de galerie après l'incubation.

Cryptococcus laurentii	100	15	92	100	100	69	76	100	84	53	76	92	96	99	92	99	92	96	99	0	2,37E+25	0,0%	9,66E+38	-1,72	-
Cryptococcus neoformans	100	1	100	24	95	71	1	97	97	100	99	88	40	0	100	100	75	97	88	0	5,97E+23	0,0%	1,58E+39	-2,08	-
Cryptococcus terreus	100	0	100	76	100	0	0	45	36	100	0	90	95	36	9	9	54	0	0	0	4,58E+34	99,8%	6,55E+38	0,17	Cryptococcus terreus
Cryptococcus uniguttulatus	100	12	100	100	100	12	0	1	99	50	87	95	0	0	100	100	62	10	25	0	1,23E+26	0,0%	1,31E+39	-1,61	-
Geotrichum candidum	100	10	0	0	100	0	0	100	0	66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	3,08E+29	0,0%	5,94E+39	-1,06	-
Geotrichum penicillatum	100	100	0	0	100	0	0	83	0	88	0	5	0	0	0	0	0	0	0	100	4,98E+27	0,0%	6,94E+39	-1,43	-
Kloeckera apis/apiculata	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	66	1,00E+30	0,0%	6,60E+39	-0,96	-
Kloeckera japonica	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	66	1,00E+28	0,0%	6,60E+39	-1,36	-
Rhodotorula glutinis	100	50	12	87	87	50	37	62	0	37	25	0	0	0	87	100	87	87	100	4	9,21E+24	0,0%	1,94E+38	-1,66	-

Figure 30 : Photo de Logiciel de galerie API20 C AUX *Cryptococcus terreus* 99,8%.

Cryptococcus albidus 1	100	0	98	96	100	6	12	18	81	93	81	18	100	43	100	100	82	98	43	0	7,45E+24	0,0%	8,34E+38	-1,81	-
Cryptococcus albidus 2	100	0	97	96	100	0	6	0	68	75	50	0	100	0	100	100	93	93	68	0	5,49E+23	0,0%	1,31E+39	-2,08	-
Cryptococcus laurentii	100	15	92	100	100	69	76	100	84	53	76	92	96	99	92	99	92	96	99	0	2,37E+23	0,0%	9,66E+38	-2,12	-
Cryptococcus neoformans	100	1	100	24	95	71	1	97	97	100	99	88	40	0	100	100	75	97	88	0	3,14E+22	0,0%	1,58E+39	-2,34	-
Cryptococcus terreus	100	0	100	76	100	0	0	45	36	100	0	90	95	36	9	9	54	0	0	0	4,58E+32	79,2%	6,55E+38	-0,23	Cryptococcus terreus
Cryptococcus uniguttulatus	100	12	100	100	100	12	0	1	99	50	87	95	0	0	100	100	62	10	25	0	1,23E+24	0,0%	1,31E+39	-2,01	-
Geotrichum candidum	100	10	0	0	100	0	0	100	0	66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	3,08E+27	0,0%	5,94E+39	-1,46	-
Geotrichum penicillatum	100	100	0	0	100	0	0	83	0	88	0	5	0	0	0	0	0	0	0	100	4,98E+25	0,0%	6,94E+39	-1,83	-

Figure 31: Photo de Logiciel de galerie API20 C AUX *Cryptococcus terreus* 79,2%.

Partie Pratique

Cryptococcus albidus 1	100	0	98	96	100	6	12	18	81	93	81	18	100	43	100	100	82	98	43	0	3,40E+27	0,0%	8,34E+38	-1,28	-
Cryptococcus albidus 2	100	0	97	96	100	0	6	0	68	75	50	0	100	0	100	100	93	93	68	0	5,48E+27	0,0%	1,31E+39	-1,28	-
Cryptococcus laurentii	100	15	92	100	100	69	76	100	84	53	76	92	96	99	92	99	92	96	99	0	2,08E+24	0,0%	9,66E+38	-1,93	-
Cryptococcus neoformans	100	1	100	24	95	71	1	97	97	100	99	88	40	0	100	100	75	97	88	0	8,15E+22	0,0%	1,58E+39	-2,26	-
Cryptococcus terreus	100	0	100	76	100	0	0	45	36	100	0	90	95	36	9	9	54	0	0	0	5,07E+33	97,4%	6,55E+38	-0,02	Cryptococcus terreus
Cryptococcus uniguttulatus	100	12	100	100	100	12	0	1	99	50	87	95	0	0	100	100	62	10	25	0	6,46E+24	0,0%	1,31E+39	-1,86	-
Geotrichum candidum	100	10	0	0	100	0	0	100	0	66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	3,08E+31	0,6%	5,94E+39	-0,66	-
Geotrichum penicillatum	100	100	0	0	100	0	0	83	0	88	0	5	0	0	0	0	0	0	0	100	9,46E+28	0,0%	6,94E+39	-1,17	-

Figure 32: Photo de Logiciel de galerie API 20C AUX *Cryptococcus terreus* 97,4%.

Cryptococcus albidus 1	100	0	98	96	100	6	12	18	81	93	81	18	100	43	100	100	82	98	43	0	4,22E+30	0,4%	8,34E+38	-0,66	-
Cryptococcus albidus 2	100	0	97	96	100	0	6	0	68	75	50	0	100	0	100	100	93	93	68	0	1,65E+28	0,0%	1,31E+39	-1,18	-
Cryptococcus laurentii	100	15	92	100	100	69	76	100	84	53	76	92	96	99	92	99	92	96	99	0	4,02E+27	0,0%	9,66E+38	-1,28	-
Cryptococcus neoformans	100	1	100	24	95	71	1	97	97	100	99	88	40	0	100	100	75	97	88	0	8,87E+31	8,0%	1,58E+39	-0,45	-
Cryptococcus terreus	100	0	100	76	100	0	0	45	36	100	0	90	95	36	9	9	54	0	0	0	2,35E+31	2,1%	6,55E+38	-0,49	-
Cryptococcus uniguttulatus	100	12	100	100	100	12	0	1	99	50	87	95	0	0	100	100	62	10	25	0	8,21E+32	74,4%	1,31E+39	-0,24	Cryptococcus uniguttulatus
Geotrichum candidum	100	10	0	0	100	0	0	100	0	66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	5,94E+25	0,0%	5,94E+39	-1,80	-
Geotrichum penicillatum	100	100	0	0	100	0	0	83	0	88	0	5	0	0	0	0	0	0	0	100	3,65E+24	0,0%	6,94E+39	-2,06	-
Kloeckera anis/aniculata	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	66	1,00E+20	0,0%	6,60E+39	-2,96	-

Figure 33: Photo de Logiciel de galerie API 20C AUX *Cryptococcus uniguttulatus* 74,4%.

API 20 AUX V2.0	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	HYPH	P(taxon / profil)	P(taxon n/ profil)	P(plus typique)	S	taxons
profil	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-				1,00E-05	
Candida albicans 1	100	14	99	2	95	94	96	100	0	94	85	99	0	0	100	97	97	4	0	100	2,54E+22	0,0%	5,11E+39	-2,46	-
Candida albicans 2	100	0	100	0	90	1	75	100	0	70	0	100	0	0	90	0	5	0	0	90	3,71E+27	0,0%	3,60E+39	-1,40	-
Candida ciferrii	100	80	80	100	100	70	60	100	100	50	0	100	60	0	95	100	100	0	100	100	4,80E+19	0,0%	7,66E+38	-2,84	-
Candida colliculosa	100	60	100	0	0	0	20	1	0	90	0	0	0	0	100	85	0	75	0	6,73E+31	0,0%	2,73E+39	-0,52	-	
Candida farmata	100	98	100	60	80	100	90	100	0	100	99	99	98	70	100	100	99	80	95	1	9,50E+13	0,0%	2,12E+39	-4,07	-
Candida glabrata	100	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	94	0	0	1	7,82E+37	99,7%	7,74E+39	0,60	Candida glabrata
Candida guilliermondii	100	100	88	90	93	94	99	99	0	97	96	99	99	0	94	100	99	94	95	46	1,08E+15	0,0%	2,78E+39	-3,88	-
Candida humicola	100	82	100	100	100	36	64	100	100	95	100	100	91	100	100	82	99	95	100	100	1,66E+12	0,0%	2,24E+39	-4,43	-
Candida inconspicua	100	77	57	0	0	0	0	2	0	0	0	43	0	0	0	0	0	0	0	3	5,52E+34	0,1%	2,38E+39	0,07	-

Figure 34 : Photo de Logiciel de galerie API 20 C AUX *Candida glabrata* 99,7%.

Partie Pratique

Candida maris	100	66	0	0	66	16	83	100	0	83	0	16	0	0	0	0	0	0	16	8,26E+23	0,0%	1,78E+39	-2,07	-	
Candida norvegensis	100	75	0	0	0	0	2	0	0	0	0	95	0	0	0	0	0	100	7,50E+16	0,0%	6,98E+39	-3,59	-		
Candida parapsilosis	100	95	91	96	96	95	3	99	0	99	93	99	0	0	100	100	97	99	3	99	3,28E+34	97,9%	6,11E+39	-0,05	Candida parapsilosis
Candida pelliculosa	100	100	0	0	67	2	9	56	0	89	100	2	78	0	93	100	97	98	48	86	1,23E+29	0,0%	9,00E+38	-0,97	-
Candida rugosa	100	74	0	5	79	5	44	100	0	99	0	55	0	0	0	0	0	0	100	8,47E+25	0,0%	1,61E+39	-1,66	-	
Candida tropicalis 1	100	2	99	0	98	99	23	99	1	100	96	99	24	0	100	100	99	99	1	99	1,04E+30	0,0%	4,93E+39	-0,94	-
Candida tropicalis 2	100	6	10	0	100	99	4	100	0	100	0	100	0	0	48	4	100	0	0	100	1,11E+28	0,0%	4,01E+39	-1,31	-
Candida zeylanoides	100	100	95	0	0	5	0	1	0	100	0	100	0	0	0	0	74	0	0	100	6,68E+25	0,0%	6,61E+39	-1,80	-

Figure 35 : Photo de Logiciel de galerie API 20 C AUX *Candida parapsilosis* 97,9%.

API 20 AUX V2.0	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	HYPH	P(taxon / profil)	P(taxon n/ profil)	P(plus typique)	S	taxons
profil	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-					1,00E-05	
Candida albicans 1	100	14	99	2	95	94	98	100	0	94	85	99	0	0	100	97	97	4	0	100	1,04E+38	99,8%	5,11E+39	0,26	Candida albicans
Candida albicans 2	100	0	100	0	90	1	75	100	0	70	0	100	0	0	90	0	5	0	0	90	2,13E+28	0,0%	3,60E+39	-1,25	-
Candida ciferrii	100	80	80	100	100	70	60	100	100	50	0	100	60	0	95	100	100	0	100	100	1,28E+30	0,0%	7,66E+38	-0,76	-
Candida colliculosa	100	60	100	0	0	0	20	1	0	90	0	0	0	0	100	85	0	75	0	100	1,53E+22	0,0%	2,73E+39	-2,45	-
Candida farmata	100	98	100	60	80	100	90	100	0	100	99	99	98	70	100	100	99	80	95	1	5,03E+31	0,0%	2,12E+39	-0,52	-
Candida glabrata	100	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	94	0	0	1	7,82E+15	0,0%	7,74E+39	-3,80	-
Candida guilliermondii	100	100	88	90	93	94	99	99	0	97	96	99	99	0	94	100	99	94	95	46	1,75E+31	0,0%	2,78E+39	-0,64	-

Figure 36 : Photo de Logiciel de galerie API 20 C AUX *Candida Albicans* 99,8%.

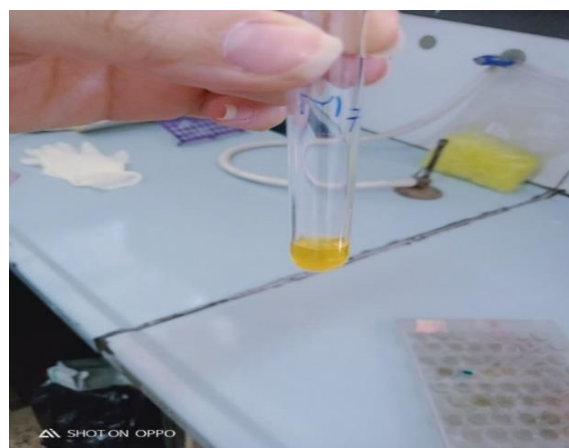


Figure 37 : Photo de Résultat de test uréase.

Partie Pratique

➤ Interprétation

On n'observe pas virage de couleur (test négative) : n'est pas la sécrétion de l'uréase qui dégrade l'urée en ion ammonium et gaz carbonique qui alcalinise le milieu alors l'absence de levure *Cryptococcus sp.*

Test uréase négative malgré que on trouve *Cryptococcus* dans la culture due à peut-être la date de milieu utilisée (urée d'indole) est périmée ou mal manipulation.

Le tableau 07 montre que les résultats généraux de l'identification des champignons : le taux 48% représente les résultats négatifs et le taux 52% représente les champignons obtenus.

Tableau 07 : Résultats général de l'identification des champignons.

Résultats	Nombre	Pourcentage
Négative	12	48%
Les champignons	13	52%

Le tableau 08 montre que le taux 24% représenté *Champignon filamenteuse (Aspergillus Niger)*, le taux 12% représenté *Cryptococcus terreus et autres les levures*, le taux 4% représenté *Cryptococcus Uniguttulatus* et pour le taux 48% représenté les résultats négatifs.

Tableau 08: Répartition des champignons isolés de l'environnement

Champignons	Nombre	%
<i>Cryptococcus terreus</i>	3	12
<i>Cryptococcus Uniguttulatus</i>	1	4
Les levures(<i>candida glabrata, candida parapsilosis, candida albicans</i>)	3	12
<i>Champignon filamenteuse (Aspergillus Niger)</i>	6	24
Négative	12	48

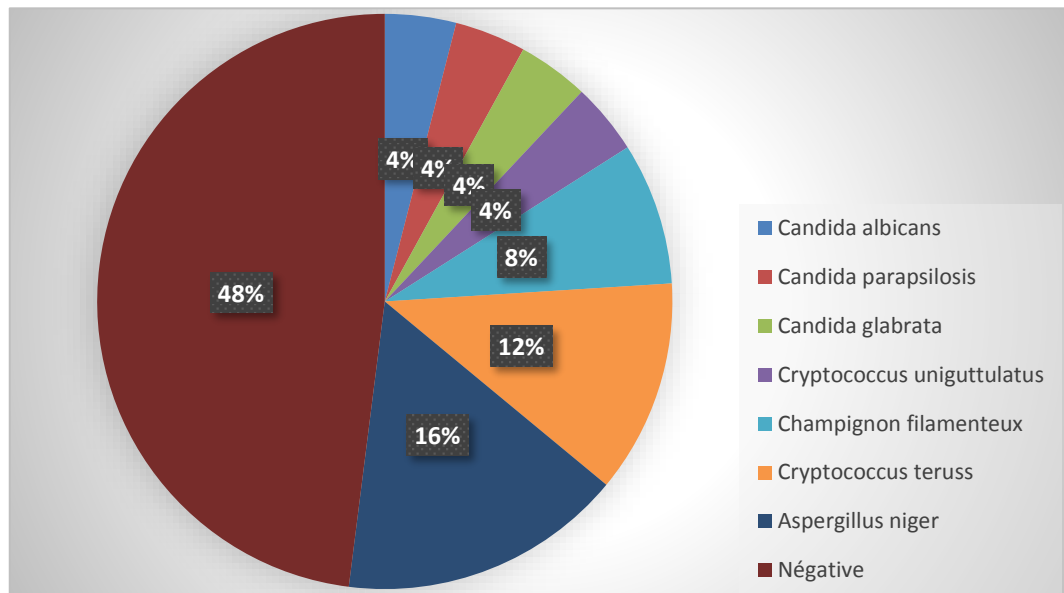


Figure 38 : Résultats détaillés de l'identification.

Discussion

La cryptococcose est une infection fongique opportuniste provoquée par une levure encapsulée. C'est une maladie associée à une forte morbidité et mortalité.

La cryptococcose n'étant pas une maladie à déclaration obligatoire dans notre pays, aucune donnée sur l'incidence réelle de cette pathologie n'est disponible. Très peu de données relatives à sa fréquence et d'autres facteurs épidémiologiques sont disponibles. Le diagnostic de la cryptococcose est confirmé, lorsque l'examen direct et /ou la culture est positive révélant la présence de levures encapsulées.

Afin d'apporter un éclairage sur la situation de la cryptococcose en Alger, nous avons réalisé une enquête environnementale à la recherche de *Cryptococcus* dans différents prélèvements.

Notre enquête nous a permis étudié 25 prélèvements différents dont 04 soit 16% de *Cryptococcus*, 03 soit 12% de levure (*candida albicans*, *candida parapsilosis*, *candida glabrata*), 06 soit 24% des champignon filamenteuse (*aspergillus Niger*) et 12 soit 48% aucun résultat.

La prédominance des champignon (24%) pourrait s'expliquer par la pousse très rapide sur milieux de Sabouraud, rendant l'isolement les autres des levures très difficiles malgré la surveillance régulière des cultures. Les 04 isolats de *Cryptococcus* (16%) sont répartis en 03 *Cryptococcus terreus* (12%) et 01 *Cryptococcus Uniguttulatus* (4%).

Les 03 souches de *Cryptococcus terreus* ont été isolées des fientes de pigeons à Constantine l'une au Zouaghi Slimane et les autre à Khrob à rue bradai hessin n°4. Une souche de *Cryptococcus Uniguttulatus* est isolée des fientes de pigeons à Constantine au saint- geant.

Aucun *Cryptococcus* ou autres levures n'a été retrouvé au niveau des feuilles, les graines d'Eucalyptus, ni au niveau de la terre, ni au niveau les feuilles d'agrumes, les cultures ont été rapidement envahis par les Champignons.

Nos résultats sont comparables à ceux de l'étude de Dr Hamroune Zohra réalisée en 25 juin 2020 et qui a Concernant l'enquête environnementale, son travail était axé essentiellement sur les fientes de pigeons qui constituent le biotope le plus important pour *Cryptococcus neoformans*. Les fientes ont été récoltées dans les wilayas d'Alger, Blida, Tlemcen, Boumerdès, et Tizi-Ouzou, avec une prédominance de prélèvements dans la wilaya d'Alger.

Au niveau Maghrébin une étude Tunisienne réalisée en 2011 rapporte les résultats suivants. L'enquête a concerné les prélèvements de fientes de pigeons et de la matière végétale de différentes régions de Sfax en Tunisie. Concernant les fientes de pigeons, *C. neoformans* a été retrouvé dans 26 isolats soit 10,4% et plus fréquemment à partir de crottes sèches (9,2%) que de crottes humides (1,2%). Sur 700 échantillons testés, prélevés à partir de 100 arbres, seuls

Discussion

5 isolats du complexe d'espèces *C. neoformans* ont été identifiés (0,6%). Il s'agit de 2 isolats de *C. gattii* et un isolat de *C. neoformans* isolés du bois d'E. Camaldulensis et deux isolats de *C. gattii* du bois d'amandier (8).

La source de contamination de la cryptococcose est probablement l'environnement par inhalation de spores ou de levures de *Cryptococcus* responsable le plus souvent d'une méningo-encéphalite cause majeure de mortalité chez les patients immunodéprimés.

On observe que les espèces de *Cryptococcus* qu'elle les a trouvés dans son étude diffèrent des espèces de *Cryptococcus* que nous avons trouvées dans notre étude, et cela est dû aux différentes régions d'où elles ont été prélevées, ce qui signifie que la température et l'humidité ont un rôle dans l'émergence, la reproduction et transmission de ces espèces. Aussi plus le nombre des échantillons est élevé, plus la chance que *Cryptococcus* est apparait. Ainsi que le manque de matériels et les réactifs ont un grand rôle dans l'obtention des résultats.

Conclusion

La cryptococcose est une mycose cosmopolite évoluant sur un mode subaiguë chronique. Elle est due à une levure (*champignon levuriforme*) capsulée (encapsulée) appartenant au genre *Cryptococcus*, principalement *Cryptococcus neoformans*. Parmi les cryptococques, *Cryptococcus neoformans* est en effet l'espèce qui présente le comportement opportuniste le plus marqué.

Vivant dans les arbres et le sol, *Cryptococcus* libère ses spores dans l'air. Les gens qui les respirent sont infectés ainsi que, parfois, les animaux sauvages ou domestiques. Toutefois, la cryptococcose ne se transmet pas de l'animal à l'homme, ni de l'homme à l'animal. Les personnes infectées ne sont pas non plus contagieuses.

A travers notre étude ; qui a concerné 25 échantillons différents dont 04 (16%) de *Cryptococcus*, 03 (12%) de levure (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*), 06 (24%) des champignons filamenteux (*Aspergillus Niger*) et 12 (48%) aucun résultat. La prédominance des champignons (24%) pourrait s'expliquer par la pousse très rapide sur milieux de Sabouraud, rendant l'isolement des autres des levures très difficiles malgré la surveillance régulière des cultures.

Les 04 isolats de *Cryptococcus* (16%) sont répartis en 03 *Cryptococcus terreus* (12%) et 01 *Cryptococcus Uniguttulatus* (4%). Les 04 souches de *Cryptococcus Sp* ont été isolées des fientes de pigeons. Aucun *Cryptococcus* ou autres levures n'a été retrouvé au niveau des feuilles, les graines d'Eucalyptus, ni au niveau de la terre, ni au niveau des feuilles d'agrumes, les cultures ont été rapidement envahies par les Champignons.

Le traitement consiste en 6 à 12 mois de médicaments antifongiques. On peut guérir cette maladie dans la plupart des cas. Dans ce contexte, nous proposons la création de laboratoire de référence avec des plateformes de diagnostic et de caractérisation moléculaire de tous les isolats afin de mieux maîtriser notre épidémiologie.

Références Bibliographiques

- 1) Sas-nicolas, C. 2001. manifestations cutanees des cryptococcoses: a propos de quatre observations chez des patients seropositifs pour le vih. Thèse de docteur en medecine. nancy : universitehenripoincare, nancy 1, ,146p.
- 2) Poli, M.Renou, P. Vital,A. Sibon,I.2011. Cryptococcose cérébro-méningée à présentation pseudo-vasculaire. *La Lettre du Neurologue*,15: 177-179.
- 3) la cryptococcose. (2008, janvier). Jacques GUILLOT, 1 2.
- 4) Li, S.S. and Mody, C.H. 2010. Cryptococcus. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 7 : 186-196.
- 5) Heitman, J. Kozel, Kown Chung, K.J., Perfect, J.R. and Casadevall A. 2011. ASM Press (ed). Washington. USA.
- 6) Drfungus., 2017. Cryptococcus Species. Disponible sur : <https://drfungus.org/knowledge-base/cryptococcus-species/>
- 7) Charline, D., 2019. Cryptococcose : Diagnostic et traitement. Disponible sur : <https://www.sante-sur-le-net.com/maladies/pneumologie/cryptococcose/diagnostic-traitement/>
- 8) Hamroune, Z. 2020. Epidémiologie de la cryptococcose en Algérie. Thèse de doctorat. Université Benyoucef Benkhada d'Alger. Algérie.
- 9) Cogliati M., 2013. Global MolecularEpidemiology of Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii : An Atlas of the Molecular Types.*Scientifica*. ID 675213 : 1-23.
- 10) Kwon-Chung, K. J., Fraser, J. A., Doering, T. L., Wang, Z. A., Janbon, G. and Idnurm, A. 2014. Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii, the Etiologic Agents of Cryptococcosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. doi: 10.1101.
- 11) Gullot, J. 2008. La cryptococcose. Disponible sur : <https://agriculture.gouv.fr/telecharger/118857?token=4c548c906066baae7ebb8b34dfe69481f5553c01deb18d08366a1b9f50e22819>
- 12) Refai, M., El-Hariri, M. and Alarous, R., 2017. *Monograph on Cryptococcus and Cryptococcosis In man, animals and birds A guide for postgraduate students in developing countries*. *European Journal of AcademicEssays*, 4 : 202-223.
- 13) Dinulos J.G.H. 2019. *Molluscum contagiosum*. Disponible sur :<https://www.msmanuals.com/fr/professional/troubles-dermatologiques/maladies-virales-cutan%C3%A9es/molluscum-contagiosum>.
- 14) Revankar S.J. 2021. *Cryptococcose*. Disponible sur : <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/mycoses/cryptococcose>
- 15) Singh, K. Ilkit, M. Shokohi T., Toloee T., Malik R., Seyedmousavi S. 2018. Cryptococcosis : Emergence of Cryptococcus gattii in Animals and Zoonotic potential.*Emerging and Epizootic Fungal Infections in Animals*. DOI: 10.1007/978-3-319-72093-7_12.
- 16) Ward, J. 2019. *Cryptococcus : Species, Symptoms, Infection and Treatment*. Disponible sur: <https://www.bustmold.com/resources/mold-library/cryptococcus/>

Annexe 01 : Fiche de renseignement.

des Prelevement	date de Prelevement	date de Manipulation	Région	Examen Microscopie	date de l'identification	date de Resultat	date de Resultat finale
M ₁ (fiente)	25/04/21	28/04/21	constantine centre ville	levure	06/04/21	candida Parapsilosis	02/05/21
M ₂ (fiente)	25/04/21	28/04/21	constantine centre ville	levure	06/04/21	cryptococcus neoformans	02/05/21
M ₃ (Poa feuille)	23/04/21	28/04/21	Biskra	championignon & laminaire	/	/	/
M ₄ (Poa feuille)	27/04/21	28/04/21	constantine	Negative	/	/	/
M ₅ (sol)	23/04/21	28/04/21	Biskra	championignon & laminaire	/	/	/
M ₆ (sol)	26/04/21	28/04/21	Kherouba	Aspergillus Niger	/	/	/
M ₇ (fiente)	26/04/21	28/04/21	Kherouba	levure capsule	28/04/21	cryptococcus terreus	09/05/21
M ₈ (sol)	26/04/21	28/04/21	Zouaghi Slimane	Aspergillus Niger	/	/	/
M ₉ (feuille)	27/04/21		City Moutanin	Absence de levure	/	/	/
M ₁₀ (feuille)	27/04/21		Kherouba city 1039	Negative	/	/	/
M ₁₁ (feuille)	27/04/21	Zouaghi Slimane		Negative	/	/	/
M ₁₂ (grain)	29/04/21	29/04/21	CHU en face service Parasitologie	Negative	/	/	/
M ₁₃ (feuille d'eucalyptus)	29/04/21	29/04/21	CHU en face Parasitologie	Negative	/	/	/
M ₁₄ (grain)	29/04/21	29/04/21	en face Pâtes de bois	Negative	/	/	/
M ₁₅ (feuille d'agrumes)	29/04/21	29/04/21	CHU en face bactériologie	Aspergillus Niger	/	/	/
M ₁₆ (feuille)	29/04/21	29/04/21	CHU en face bactériologie	Negative	/	/	/
M ₁₇ (grain)	29/04/21	29/04/21	//	Negative	/	/	/
M ₁₈ (sol)	29/04/21	29/04/21	//	Aspergillus Niger	/	/	/
M ₁₉ (fiente)	27/04/21	05/05/21	Zouaghi Slimane	levure	06/04/21	cryptococcus terreus	
M ₂₀ (fiente)	27/04/21	05/05/21	City Zaidra			candida glabrata	
		05/05/21	Kherouba	levure	10/05/21	cryptococcus + ...	

Annexe 02 : Notice de galerie API 20C AUX.

API 20 C AUX

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

API 20 C AUX est un système d'identification précise des levures les plus couramment rencontrées. La liste complète des espèces qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'identification en fin de notice.

PRINCIPE

La galerie API 20 C AUX est constituée de 20 cupules d'effectuer 19 tests d'assimilation. Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-solécité et les levures poussent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

La lecture de ces réactions se fait par comparaison aux données de croissance et d'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

PRESENTATION (coffret de 25 tests)

- 25 galeries API 20 C AUX
- 25 boîtes d'incubation
- 25 ampoules d'API C Medium
- 25 fiches de résultats
- 1 notice

COMPOSITION

Galerie

La composition de la galerie API 20 C AUX est reportée dans la liste des tests ci-dessous :

TESTS	SUBSTRATS	QTE (mg/STP)
GLU	D-Glucose	1,2
GLY	Glycérol	1,2
2KG	2-céto-glucoside	1,2
ARA	L-ARAbiose	1,2
ADO	D-ADOnose	1,2
XYL	D-XYLOSE	1,2
ALA	D-ALanine	1,2
INO	D-INositol	2,36
SCA	D-SCArbine	1,2
MDG	Méthyl-D-Galactosamine	1,2
NAG	N-Acetyl Glucosamine	1,2
CEL	D-CELLulose	1,2
LAC	D-LACTose	1,2
MAL	D-MALtose	1,2
SAC	D-SACcharose	1,2
TRE	D-TREHalose	1,2
MLZ	D-MOLtose	1,2
RAF	D-RAFtose	1,2

Reactifs / Instrumentation

- API Suspension Medium, 2 ml (Ref. 70 700) ou API NACI 0,85 % Medium, 2 ml (Ref. 20 070)
- Zabourenki Medium (Ref. 42 026 ou 43 071 ou équivalent)
- Morfield Standard (Ref. 70 600), point 2
- Catalogue Analytique API 20 C AUX (Ref. 20 260), logiciel d'identification **apiweb™** (Ref. 40 011) et automate ATBM ou **mini API®** (consultez bioMérieux) RAT Medium (Riz Agar Tween)

Matériel

- Pipettes ou PIPettes
- Portoir pour ampoules
- Équipement général de laboratoire de bactériologie

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic *in vitro* et pour contrôle microbiologique.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et du statut sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer, ne pas inhaler).
- Les prélèvements, cultures de levures et produits ensémençés, doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation des levures doivent être respectées tout au long de la manipulation. Se référer à "CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections, Approved Guidelines Révision en vigueur".

API 20 C AUX

Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.

- Ne pas utiliser les reactifs après la date de péremption.
- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de l'emballage et des composants.
- Ne pas utiliser de galeries ayant subi une altération physique, cupule déformée.
- Ouvrir les ampoules délicatement comme suit : Placer l'ampoule dans le protège-ampoule. Tenir l'ensemble verticalement dans une main (bouchon blanc vers le haut). Bien enfoncer le bouchon. Exercer une pression horizontale avec le pouce sur la partie striée du bouchon de façon à casser l'extrémité de l'ampoule. Retirer l'ampoule du protège-ampoule et conserver le protège-ampoule pour une utilisation ultérieure. Enlever délicatement le bouchon.
- Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.
- L'interprétation des résultats ou tests doit être faite en tenant compte du contexte clinique ou autre, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier de l'antibiogramme.

CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries et milieux se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

ÉCHANTILLONNAGE (PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION)

API 20 C AUX ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autres. Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPÉRATOIRE

Préparation de la galerie

- Rincer fond et couvercle d'une boîte d'incubation et repartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée (ou toute eau sans additif ou dérivé susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂, ...)) dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte (ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Retirer la galerie de son emballage individuel et la déposer dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'Inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API Suspension Medium (2 ml) ou une ampoule d'API NACI 0,85 % Medium (2 ml) comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" de la notice d'usage, utiliser un tube contenant 2 ml de la même solution sans additif.
- À l'aide d'une pipette, prélever une fraction de culture par aspiration ou par touches successives. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).
- Réaliser une suspension de levures de turbidité égale à 2 de McFarland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
- Ouvrir une ampoule d'API C Medium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" et y transférer environ 100 µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec pipette en évitant la formation de bulles.

Inoculation de la galerie

- Remplir les cupules avec la suspension obtenue dans la boîte de la pipette sur le côté de la cupule. Veiller à jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Refermer la boîte d'incubation et incubier 48-72 heures (à 6 heures) à 29°C ± 2°C.

LECTURE ET INTERPRÉTATION

Lecture de la galerie

Après 48 heures d'incubation, ou 72 heures (si les tests, en particulier le glucose, ne sont pas très nets après 48 heures), observer la croissance des levures comparativement à la cupule 0, témoin négatif. Une cupule **plus trouble** que le témoin indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats. Afin d'éviter toute contamination lors d'une relecture, ôter le couvercle uniquement pendant la période de lecture.

Test Morphologique

Déterminer la présence d'hyphes (mycélium) ou pseudohyphes (pseudohyphes) à l'aide du milieu RAT (Riz Agar Tween).

Déposer 1 goutte de la suspension obtenue dans API Suspension Medium ou API NACI 0,85 % Medium sur le milieu RAT ou suivre les recommandations du fabricant. Ce test constitue le "21^e" test de la galerie. Il est considéré positif en cas de mise en évidence de hyphes ou pseudohyphes.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du profil numérique.

- Détermination du profil numérique.
- Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique.
- Identification : Elle est réalisée à partir de la base de données (V4.0) à l'aide du Catalogue Analytique :
 - Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.
 - À l'aide de l'automate ATBM, du **mini API®**, ou du logiciel d'identification **apiweb™**.
 - Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

Annexe 03 : Logiciel de galerie API 20 C AUX.

API 20 AUX V2.0	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	ALA	INO	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	HYPH	P(taxon / profil)	P(taxon / profil)	P(plus typique)	S	taxons	nombre d'incompatibilités		
profil																					1,00E-05					
Candida albicans 1	100	14	99	2	95	94	96	100	0	94	85	99	0	100	97	97	4	0	100	1,00E+00	2,3%	5,11E+39	-6,94	Candida albicans	0	
Candida albicans 2	100	0	100	0	90	1	75	100	0	70	0	100	0	90	0	5	0	0	90	1,00E+00	2,3%	3,60E+39	-6,91	Candida albicans	0	
Candida ciferrii	100	80	80	100	100	70	60	100	100	50	0	100	60	95	100	100	0	100	100	1,00E+00	2,3%	7,66E+38	-6,78	Candida ciferrii	0	
Candida colliculosa	100	60	100	0	0	0	20	1	0	90	0	0	0	0	100	85	0	75	0	1,00E+00	2,3%	2,73E+39	-6,89	Candida colliculosa	0	
Candida farmata	100	98	100	60	80	100	90	100	0	100	99	99	98	70	100	100	99	80	95	1	1,00E+00	2,3%	2,12E+39	-6,87	Candida farmata	0
Candida glabrata	100	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	94	0	0	1	1,00E+00	2,3%	7,74E+39	-6,98	Candida glabrata	0	
Candida guilliermondii	100	100	88	90	93	94	99	99	0	97	96	99	99	94	100	99	94	95	46	1,00E+00	2,3%	2,78E+39	-6,89	Candida guilliermondii	0	
Candida humicola	100	82	100	100	100	36	64	100	100	95	100	100	91	100	100	82	99	95	100	100	1,00E+00	2,3%	2,24E+39	-6,87	Candida humicola	0
Candida inconspicua	100	77	57	0	0	0	0	0	2	0	0	43	0	0	0	0	0	0	3	1,00E+00	2,3%	2,30E+39	-6,88	Candida inconspicua	0	
Candida kefyr 1	100	69	0	31	91	4	47	10	0	39	0	0	8	99	0	1	0	100	89	1,00E+00	2,3%	9,71E+38	-6,80	Candida kefyr 1	0	
Candida kefyr 2	100	86	7	0	7	0	71	100	0	100	86	0	71	84	100	100	93	100	84	40	1,00E+00	2,3%	1,27E+39	-6,82	Candida kefyr 2	0
Candida kruzei	100	87	0	0	0	0	0	0	0	0	36	0	0	0	0	0	0	0	95	1,00E+00	2,3%	5,29E+39	-6,94	Candida kruzei	0	
Candida lambica	100	70	0	0	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	1,00E+00	2,3%	5,99E+39	-6,96	Candida lambica	0	
Candida lusitana	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,00E+00	2,3%	3,41E+38	-6,91	Candida lusitana	0	

+ ☰ Rapid20E ▾ API NH 2.0 ▾ API Coryne 2.0 ▾ API Candida ▾ API Campylo ▾ API20 AUX ▾ ID 32 A ◀ ▶

Abstract

Abstract

Cryptococcus is a cosmopolitan yeast responsible for serious disease in the immunocompromised, knowledge of its geographical distribution is of paramount importance for the control of infectious risk. Our study is a prospective environmental survey which took place in the parasitology-mycology laboratory of the CHU in Constantine with the aim of knowing the environmental epidemiology of Cryptococcus and its geographical distribution in 02 homes in eastern Algeria: Constantine, Biskra .apply and introduce the techniques of environmental research of the Cryptococcus yeast in the mycology parasitology laboratory of the University Hospital of Constantine through research in pigeon droppings, eucalyptus leaves and seeds, citrus leaves and soils. Out of 25 environmental samples, are distributed as follows : Droppings (10), Leaves of Eucalyptus sp (07), Seeds of Eucalyptus sp (03), Citrus leaves (01), Soils (04) with the species: *Cryptococcus terreus* (03), *Cryptococcus Uniguttulatus* (01), *Candida glabrata* (01), *Candida parapsilosis* (01), *Candida albicans* (01), *Aspergillus Niger* (04) and Filamentous fungus in mucus type (02) which constitute a risk for immunocompromised patients.

Key words: Cryptococcus; the environmental epidemiology of Cryptococcus; Environmental samples.

ملخص

المكورات الخفية هي خميرة عالمية مسؤولة عن مرض خطير في نقص المناعة، معرفة توزيعها الجغرافي لها أهمية قصوى للسيطرة على المخاطر المعدية. دراستنا عبارة عن مسح بيئي مستقبلي تم إجراؤه في مختبر علم الطفيليات وعلم الفطريات في المستشفى الجامعي قسنطينة بهدف معرفة الوبائيات البيئية للمكورات الخفية وتوزيعها الجغرافي في منطقتين من شرق الجزائر: قسنطينة، بسكرة. تطبيقها وتقديمها تقنيات البحث البيئي لخميرة *Cryptococcus* في مختبر علم الطفيليات الفطري في مستشفى جامعة قسنطينة من خلال البحث في فضلات الحمام وأوراق وبذور الكاليتوس وأوراق الحمضيات والتربة. من بين 25 عينة بيئية، توزعت على النحو التالي: (10) فضلات الحمام، (07) أوراق الكاليتوس، بذور الكاليتوس (03)، أوراق الحمضيات (01)، التربة (04) فكانت النتيجة *Cryptococcus terreus* (03)، *Candida glabrata* (01)، *Candida parapsilosis* (01)، *Cryptococcus Uniguttulatus* (01)، *Aspergillus Niger* (04)، *albicans* (01) والتي تشكل خطراً على المرضى الذين يعانون من نقص المناعة. هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات الأكبر لفهم التوزيع الجغرافي لـ *Cryptococcus* في الجزائر بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية: المكورات الخفية ; الوبائيات البيئية للمكورات الخفية ; عينة بيئية.

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

**Mémoire présenté par : Touati Samia
Touati Manal**

Date de soutenance : 12/ 07/2021

**En vue de l'obtention du diplôme de Master professionnalisant en Microbiologie et Hygiène
Hospitalière**

Thème :*Cryptococcus* : « Recherche de la levure dans l'est Algérien »

Résumé

Cryptococcus est une levure cosmopolite responsable d'une affection grave chez l'immunodéprimé, la connaissance de sa distribution géographique est d'une importance primordiale pour la maîtrise risque infectieux. Notre étude est une enquête environnementale prospective qui s'est déroulée au laboratoire parasitologie-mycologie du CHU à Constantine ayant comme objectif connaître l'épidémiologie environnementale de *Cryptococcus* et sa distribution géographique dans 02 foyers de l'est Algérien : Constantine, Biskra. Appliquer et introduire les techniques de recherche environnementale de la levure *Cryptococcus* dans laboratoire de parasitologie mycologie du CHU de Constantine par la recherche dans les fientes de pigeons, les feuilles et les graines d'eucalyptus, les feuilles d'agrumes et les sols. Sur 25 prélèvements de l'environnement, sont répartis comme suit : Les Fientes (10), Feuilles d'Eucalyptus sp (07), Graines d'Eucalyptus sp (03), Feuilles d'agrumes (01), Sols (04) avec les espèces *Cryptococcus terreus* (03), *Cryptococcus Uniguttulatus*(01), *Candida glabrata* (01), *Candida parapsilosis* (01), *Candida albicans* (01), *Aspergillus Niger* (04) et *Champignon filamenteuse* en type mucore (02) identiques et qui constituent un risque pour les patients immunodéprimés. D'autres études de plus grande envergure sont nécessaires afin de mieux connu la distribution géographique de *Cryptococcus* en Algeria.

Mots clés : *Cryptococcus* ; l'épidémiologie environnementale de *Cryptococcus* ; prélèvements de l'environnement.

Jury d'évaluation:

Président:	DrMeradjiAssia.	M.C.A. CHU Constantine.
Rapporteur :	Dr Aissaoui Ilham.	M.C.A. CHU Constantine.
Examinatrice :	DrChentliAmira.	M.C.A. CHU Constantine.

Année universitaire : 2020-2021