

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche
Scientifique

Université mouloud Mammeri de Tizi Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biologie Animale et Végétale

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Parasitologie appliquée aux organismes animaux et végétaux

Thème :

RECHERCHE D'ANTIGÈNES CANDIDOSIQUES CHEZ LES PATIENTS À HAUT RISQUES AU NIVEAU DU C.H.U. DE TIZI-OUZOU

Présenté par : *Mme Dif Hayet* & *Melle Edjekouane Massisilia*

Soutenue devant le jury composé de :

<i>Président :</i>	<i>Mr Boukhemza Mohamed</i>	<i>Professeur</i>	<i>U.M.M.T.O.</i>
<i>Promotrice :</i>	<i>Mme Boukhemza-Zemmouri Nabila</i>	<i>Professeure</i>	<i>U.M.M.T.O.</i>
<i>Co- Promotrice:</i>	<i>Dr Seklaoui Nacera</i>	<i>Maître assistante</i>	<i>C.H.U.T.O .</i>
<i>Examineurs :</i>	<i>Mme Chaouchi -Talmat Nora</i>	<i>Maître de conférences B</i>	<i>U.M.M.T.O.</i>
	<i>Melle AbdelLaoui Karima</i>	<i>Maître assistante A</i>	<i>U.M.M.T.O.</i>

Promotion 2015-2016

dedicace



A mes parents, qui m'ont toujours soutenu dans mes choix et dans les moments difficiles. Merci maman pour ta présence et tes encouragements qui sont pour moi les piliers fondateurs de ce que je suis devenue. Merci papa pour ton pragmatisme et ton enseignement qui m'ont beaucoup appris.

A ma grand-mère, qui nous a apporté beaucoup d'affection et permis de garder de merveilleux souvenirs.

A la mémoire de mon grand-père qui aurait été heureux de me voir ce jour là où il est.

A mes sœur adorées dihia, hina et Nina Merci pour tout votre amour, votre joie de vivre et tous ces fabuleux souvenirs d'enfance passés ensemble.

A ma chère Hayet qui a partagé mon parcours en master et supporter mes qualités et mes défauts.

Massisilia

dedicace



Joyeuse et fière de dédier mon travail à mes chers parents.

A la mémoire de mon père qui aurait été heureux de me voir ce jour là où il est.

Ma chère et tendre mère pour toute son affection, et son soutien durant toutes mes années d'études qui ont été pour moi une lumière et un appui d'une valeur inestimable.

A mes deux beaux anges adorés Messipsa et Macilès ChemsEddine qui éclairent ma vie je vous adore tellement.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Hayet

Remerciements

*Nous remercions dieu le tout puissant qui nous a donné
Le courage et la volonté de mener à bien notre travail
Nos familles de nous avoir soutenus, supporter pendant
Notre cursus universitaire*

*Nous tenons à remercier Madame boukhemza pour le suivi
Et l'encadrement qu'elle nous à apporter.*

Ainsi que docteur Seklaoui

*Pour son aide et sa disponibilité J'éprouve un profond respect
pour votre travail*

Nos remerciements vont également :

*Aux membres de jury : Mr Boukhemza, Melle Abdellaoui et
Mme Chaouchi, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

A nos professeurs et collègues en parasitologie

*À toutes les personnes qui nous ont aidées de près ou de loin à
réaliser ce travail*

MERCI A TOUS

Figure 1 : Aspect macroscopique des levures en culture	2
Figure 2 : Candidose buccale (muguet)	7
Figure 3 : Perlèche et chéilites	7
Figure 4 : Intertrigo des doigts, avec peau macérée de couleur blanche.....	9
Figure 5 : Rougeur et œdème du repli périunguéal avec déformation et modification du couleur de l'ongle.....	9
Figure 6 : Septicémie à levures	12
Figure 7 : Liste des réactifs	31
Figure 8 : Distribution des sérums	33
Figure 9 : Vortex	34
Figure 10 : Bain marie.....	34
Figure 11 : Centrifugeuse.....	35
Figure 12 : Surnagent obtenu	35
Figure 13 : Incubateur	37
Figure 14 : Laveur.....	38
Figure 15 : Distribution du substrat	38
Figure.16 : Lecteur	39
Figure 17 : Puits et rigoles tracés	40
Figure 18 : Puits évidés et dépôt d'antigène	40
Figure 19 : Cuve d'électrophorèse	41
Figure 20 : Remplissage des rigoles par le sérum.....	42
Figure 21 : Diffusion à température ambiante	42
Figure 22 : Diffusion à 4°C.....	43
Figure 23 : Bain de citrate 5%.....	43
Figure 24 : Tampon de lavage.....	43
Figure 25 : Lames couvertes de papier wattman.....	44
Figure 26 : Coloration (rouge ponceau)	44
Figure 27 : Décoloration (Acide acétique).....	44
Figure 28 : La courbe d'étalonnage.....	45
Figure 29 : Fréquence de cas selon les catégories selon les catégories	47
Figure 30 : Fréquence des cas selon le sexe.....	48
Figure 31 : Fréquence de cas atteints selon les tranches d'âge	49

Liste des figures

Figure 32 : Fréquence des cas de candidose invasive au CHU de Tizi Ouzou selon les services d'admission	50
Figure 33 : Recherche d'anticorps par l'IEP : Présence d'arcs sur la lame	54

Tableau I : Calcule des concentrations des échantillons en mannane en pg /ml	46
Tableau II : Fréquences des cas selon les catégories	47
Tableau III : Répartition de la fréquence des candidoses profondes selon le sexe	48
Tableau IV : Répartition des patients atteints de candidose invasive selon les tranches d'âges	49
Tableau V : Répartition des patients atteints de candidose invasive selon les services d'admission	50
Tableau VI : Fréquence des cas de candidose invasive au CHU de Tizi Ouzou selon leurs signes cliniques	51
Tableau VII : Effectifs des malades neutropéniques	52
Tableau VIII : Fréquences des cas selon le traitement en cours	52
Tableau IX . Résultats de l'hémoculture.....	53
Tableau X : Taux de mortalité en rapport avec la candidose invasive dans les divers services d'admission	53
Tableau XI : Comparaison des taux des cas positifs et intérimaires de candidose invasive	55

- **AC** : Anticorps.
- **AG** : Antigène.
- **AMB** : Amphotericine.
- **API** : Aspergillose pulmonaire invasive.
- **CAL** : Calibrateur
- **CHU** : Centre hospitalier universitaire
- **CN** : Contrôle négatif
- **CP** : Contrôle positif
- **DO** : Densité optique.
- **EDTA** :Ethylène-diamine-tétra acétate.
- **ELISA** :Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
- **ES** : Electrosynèse.
- **IEP** : Immunoélectrophorèse.
- **IST** : Infection sexuellement transmissible.
- **IV** : Intra veineuse.
- **LBA** : Lavage broncho-alvéolaire.
- **LCR** : Liquide céphalorachidien.
- **MGG** : May-Grunwald-Giemsa
- **PAS** : Periodic acide schiff.
- **R** : Réactif.
- **TO** : Tizi Ouzou.
- **VIH** : virus de l'immunodéficience humaine.
- **EIA** :Immuno Enzymatique Assay

- **Anite** : Inflammation de l'anus
- **Antibiotique** : C'est une substance d'origine naturelle ou synthétique ayant la capacité d'arrêter la multiplication des bactéries, mais également d'autres agents infectieux.
- **Antifongique** : Ce sont des médicaments capables de traiter les mycoses, c'est-à-dire les infections provoquées par des champignons microscopiques.
- **Asthénie** : Affaiblissement de l'organisme qui se traduit par la fatigue physique du patient.
- **Blanchâtre** : Qui tire sur le blanc.
- **Cosmopolite** : Qualifie une espèce animale ou végétale distribuée dans le monde entier.
- **Dyspnée** : C'est une gêne respiratoire, elle définit tout écart par rapport au rythme respiratoire normal.
- **Erythème** : Rougeur pathologique de la peau due à la vasodilatation des capillaires.
- **Erythème suintant** : Un érythème à partir duquel coulent des liquides ou des sérosités.
- **Fongémie** : Passage d'un champignon dans le sang.
- **Fréquence** : Caractère de ce qui se répète souvent.
- **Glossite** : Nom générique donné à toutes les lésions et inflammations de la langue.
- **Iatrogène** : Qualifie une maladie ou une complication de maladie due à l'intervention médicale. la cause peut être psychologique (interrogation du patient, angoisse suscitée par un examen) ou somatique (médicament, intervention chirurgicale).

- **Incidence** : Nombres de nouveaux cas d'une maladie apparue durant une période de temps donnée.
- **Inhalé** : Introduire dans les voies respiratoires certaines substances thérapeutiques.
- **Intertrigo** : Atteinte des plis.
- **Kératite** : Nom générique de toutes les inflammations de la cornée.
- **Muguet** : Candidose
- **Mycose** : Maladie causée par un mycète (champignons).
- **Neutropénie** : Diminution du nombre de globules blancs polynucléaires (granulocytes) neutrophiles.
- **Onyxis** : Atteinte de l'ongle
- **Palais** : Cloison séparant la cavité buccale des cavités nasales.
- **Péri-anal** : Autour de l'anus
- **Périonyxis** : Tuméfaction rouge douloureuse entourant la base de l'ongle.
- **Per os** : voie orale.
- **Prévalence** : C'est un outil de mesure statistique médicale, elle renseigne sur le nombre de personnes atteintes par la maladie ou tout autre évènement comme un accident, suicide, au sein d'une population à un moment donné.
- **Prothèse** : Appareil servant à remplacer un organe ou un membre.
- **Pyrosis** : Sensation de brûlures remontant le long de l'œsophage, par reflux du contenu de l'estomac.
- **Récidive** : Réapparition d'une maladie après une guérison en apparence complète en apparence complète et au bout d'un laps de temps quelquefois fort long.
- **Septicémie** : Fongémie (passage d'un champignon dans le sang).
- **Stomatite** : Inflammation de la muqueuse de la bouche.

- **Ubiquitaire** : Qualifie une espèce se rencontre dans une grande variété d'habitats.
- **Unguéal** : Relatif à l'ongle.

SOMMAIRE

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Glossaire.....	
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Rappels bibliographiques sur les candidoses	
1. Généralités.....	2
2. Agent pathogène.....	2
2.1. Classification sexuée.....	3
2.2. Classification asexuée.....	3
3. Morphologie et biologie	3
4. Facteurs favorisant les candidoses.....	4
4.1. Facteurs intrinsèques liés à l'hôte	4
4.2. Facteurs extrinsèques et iatrogènes.....	5
5. Origine de l'infection	6
6. Physiopathologie et principaux aspects cliniques.	6
7. Candidoses superficielles	6
7.1. Candidoses digestives	6
7.2. Candidoses génitales	8
7.3. Candidoses cutanées et unguéales	8
8. Candidoses profondes	10
8.1. Mode de contamination	10

8.2. Prévalence	11
8.3. Classement des candidoses profondes	12
9. Diagnostic biologique	17
9.1. Diagnostic mycologique	
9.2. Diagnostic immunologique indirect	22
9.2.1. Recherche d'antigènes circulants	23
9.2.2. Recherche d'anticorps anti-candida	25
9.3. La biologie moléculaire.....	25
10. Traitement	25
10.1. Molécules antifongiques utilisées	26
10.1.1. Polyènes	26
10.1.2. Les dérivés azolés	26
10.1.3. Les Echinocandines.....	27
10.2. Indications thérapeutiques	27
10.2.1. Prise en charge des Candidoses superficielles	27
10.2.2. Prise en charge des Candidoses profondes	28
a. Traitement prophylactique.....	28
b. Traitement probabiliste.....	28
c. Le traitement curatif	28

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Objectif de l'étude	32
2. Principe du test	32

3. Matériels.....	33
4. Méthodes	35
4.1. Procédure EIA.....	38
4.2. Procédure IEP	40
Chapitre III : Résultats	
1-Résultats de la sérologie.....	45
1.1. Contrôle de qualité (critère de validité)	45
1.2. Tracé de la courbe d'étalonnage	45
1.3. Calcule des concentrations en antigène mannane.	46
1.4. Répartition des échantillons selon les catégories	47
1.5. Répartition de la fréquence de la maladie selon le sexe	48
1.6. Répartition des patients selon les tranches d'âges	49
1.7. Répartition des patients atteints de candidose invasive selon les services d'admission	50
1.8. Répartition des cas de candidose invasive en fonction de quelques facteurs de risques	51
1.8.1. Répartition des cas de candidose invasive selon les signes cliniques	51
1.8.2. La neutropénie prolongée	52
1.8.3. L'antibiothérapie et antifongique	52
1.8.4. Répartition selon les résultats de l'hémoculture et des espèces en cause	53
1.9. Etude des cas de mortalité en rapport avec la candidose invasive	53
2. Résultats de l'immunoélectrophorèse	54
Chapitre IV : Discussion	55

Conclusion générale	60
----------------------------------	-----------

Références bibliographiques.

Les candidoses sont des mycoses cosmopolites provoquées par des champignons levuriformes commensaux ou saprophytes appartenant au genre *Candida*, les plus souvent diagnostiquées chez l'homme dans le monde ; elles représentent un problème de santé public avec une réelle urgence d'intervention et de la prise en charge (**Candolfi, 2013**).

L'épidémiologie des candidoses superficielles ou cutanéomuqueuses est mal connue et relève généralement d'études anciennes, et la majorité des données épidémiologiques actuelle concerne les candidémies, c'est-à-dire les infections liées à la circulation de levures du genre *Candida* dans le sang. Les candidoses systémiques sont des affections nosocomiales demeurant rares, mais elles sont particulièrement redoutées en raison d'un taux de mortalité de l'ordre 40 à 70%. Non traitée, cette affection peut s'étendre et détériorer progressivement et gravement la santé en contribuant à l'affaiblissement du système immunitaire. Selon des statistiques et des études menées dans le monde entier, les candidoses invasives sont la cause d'une mortalité estimée entre 70% et 80% de la population mondiale (**Chabasse et al., 2006**).

Les mycoses sont des pathologies fréquentes, qui menacent des milliers de personnes dans le monde. Parmi ces mycoses nous nous sommes intéressées particulièrement aux candidoses invasives. Pour cela nous avons effectué une étude pratique au niveau du laboratoire de parasitologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou. Des échantillons de sérum ont été prélevés chez des malades hospitalisés au niveau des services d'hématologie adulte et pédiatrique, de réanimation médicale et chirurgicale. L'objectif principal visé par notre étude est de rechercher des antigènes candidosiques chez ces patients à haut risque en particulier le mannane par la technique ELISA, complétée par une recherche d'anticorps par la technique d'immunoélectrophorèse

Notre mémoire est structuré en quatre chapitres. Le premier consiste en une revue bibliographique. Celle-ci est une synthèse des connaissances sur la physiopathologie et les différents aspects cliniques, épidémiologie, diagnostic, et traitements de la candidose. Un second chapitre est dédié à la méthodologie de travail. Toutes les manipulations effectuées sont décrites. Globalement, il s'agit de rechercher des antigènes de *Candida* chez des patients à haut risque à travers des sérums recueillis au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Tizi Ouzou. Les résultats obtenus seront présentés sous forme de tableaux et graphiques dans un troisième chapitre. Un quatrième chapitre est consacré à la discussion des résultats. Enfin le travail se termine par une conclusion générale.

1. Généralités

Les *Candida* sont des levures, micro-organismes endogènes ou exogènes, dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence de facteurs favorisants locaux ou généraux. Les candidoses peuvent donc être des infections opportunistes dont les causes sont très variées.

Le spectre clinique s'étend des formes localisées (cutanées et/ou muqueuses), d'une grande fréquence en médecine générale, aux atteintes invasives rencontrées chez les patients hospitalisés cumulant de nombreux facteurs de risque et dont le pronostic est souvent réservé. La seule présence de ces levures n'est pas synonyme de maladie, car l'isolat responsable de l'infection est le plus souvent celui que le malade héberge spontanément. Les atteintes invasives sont un exemple d'infections nosocomiales résultant des traitements médico-chirurgicaux de plus en plus spécialisés chez des patients de plus en plus fragiles.

Le diagnostic de ces mycoses est difficile et repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques (Anofel , 2014).

1. Agent pathogène :

Les levures du genre *Candida* se présentent sous formes de petites levures rondes ou ovalaires de 2 à 4µ de diamètre, de formes fongiques uni-cellulaires, non pigmentées, non capsulées à bourgeonnement multilatéral (Fig.1). Beaucoup d'espèce produisent des pseudomycéliums, et parfois de vrais filaments mycéliens (Anonyme, 2003).



Fig.1. Aspect macroscopique des levures en culture (Anofel , 2014).

1.1. Classification sexuée :

Régne : Fungi (champignons)

Division : Scomycètes

Classe : Saccharomycètes

Ordre : Saccharomycétales

Famille : Saccharomycétaceae

Genre : *Candida*

2.2. Classification asexuée :

Régne : Fungi (champignons)

Division : Deutéromycètes

Classe : Blastomycètes

Ordre : Cryptococcales

Famille : Cryptococcaceae

Genre : *Candida*

3. Morphologie et biologie

Le genre *Candida* comprend plus de deux cents espèces, mais un nombre restreint, environ une vingtaine, peut être responsable de manifestations pathologiques (**Bouchara, 2010**).

Le *Candida* groupe des levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, produisant sauf pour *C. glabrata* des filaments (**Anofel, 2014**).

Ainsi, *C. albicans*, principale levure impliquée en pathologie humaine, est un commensal des muqueuses digestives et génitales, et ne se retrouve que rarement sur une peau saine. Cette espèce représente

plus de 70% des isolats et est impliquée dans plus de 50% des épisodes de candidémie. A l'inverse, *C. parapsilosis* est une levure fréquente de la peau mais pas du tube digestif, et expose au risque de contaminations manuportées. *Candida glabrata* une écologie proche de *C. albicans* (Anofel, 2014).

L'espèce la plus courante est *Candida albicans*, qui est une levure commensale de la flore des muqueuses (digestives surtout) ; avec une dominance de 60% (Chabasse et al., 1999) elle représente aussi l'espèce la plus souvent isolée en pathologie humaine et animale avec 70 à 80% des souches retrouvées chez les patients infectés (Chabasse et al., 2006). Mais il existe d'autres espèces impliquées en pathologie humaine telles que : *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*...etc (Candolfi, 2013).

Seuls *Candida albicans* et *Candida glabrata* vivent en commensaux dans le tube digestif et les voies génitales de l'homme et de la femme. Les autres espèces, issues le plus souvent du milieu extérieur, peuvent se retrouver occasionnellement sur la peau ou dans l'intestin suite à leur ingestion (*C. krusei*) et être exceptionnellement responsable d'une infection, le plus souvent chez des patients immunodéprimés ou ayant bénéficié d'un geste avec effraction des muqueuses (Anofel, 2014).

Ce sont toutes des levures opportunistes, c'est à dire qu'elles vont profiter d'un dysfonctionnement du système immunitaire ou d'autres facteurs favorisants pour provoquer des candidoses. De nouveaux *Candida* apparaissent comme *Candida dubliniensis*, proches de *Candida albicans* qui semblent émerger depuis l'apparition et la diffusion du VIH.

4. Facteurs favorisants les candidoses :

Les facteurs favorisants peuvent être décomposés en facteurs intrinsèques ou extrinsèques. Pour les candidoses cutanéomuqueuses, les facteurs locaux sont prédominants. Pour les infections invasives, les facteurs de risque sont plus nombreux et varient selon le terrain (immunodéprimés, chirurgie abdominale lourde, patients de réanimation...). (Anofel, 2014)

4.1. Facteurs intrinsèques liés à l'hôte :

◆ Facteurs physiologiques :

Le nouveau-né est très vulnérable, il est en même pour le sujet âgé porteur de prothèse dentaire. Dans ces situations, les candidoses buccales seront très fréquentes.

Chez la femme enceinte, en particulier au troisième trimestre de la grossesse, la fréquence de la candidose vaginale est 3 à 4 fois plus élevée.

◆ Locaux

Transpiration, macération, humidité, diverses microlésions comme l'attrition des tissus ou la modification de la trophicité des muqueuses, favorisent l'installation et le développement des candidoses.

◆ Terrain ou maladie sous-jacente :

Une hémopathie, un cancer, ainsi que toutes maladies qui entraînent un affaiblissement de l'état général ou de l'immunité seront susceptibles de déclencher une candidose. Parmi les causes fréquemment rencontrées, citons les endocrinopathies, comme le diabète et l'immunodépression liée au sida.

Au cours de l'infection par le VIH les candidoses buccales (muguet) sont trop fréquentes (80-90% des cas). D'une manière générale, la gravité de l'état clinique sous-jacent reflétée par le score Apache II (Acute Physiology, âge, chronic health evaluation) influe sur l'évolution de ces *candidoses* (**Chabasse et al., 1999**).

4.2. Facteurs extrinsèque et /iatrogènes :

◆ Traitement médicamenteux

L'antibiothérapie, surtout si elle est prolongée au-delà de 8 jours, peut déclencher une candidose digestive. Il en est de même pour les traitements immunodépresseurs (corticoïdes, antimétabolites, etc...) les ulcères digestifs générés par les traitements cytolytiques et colonisés par les *Candida* (*C.albicans*), sont une porte d'entrée classique de la candidose chronique disséminée en cas de neutropénie prolongée associée.

◆ Traitements chirurgicaux ou médicochirurgicaux

La mise en place de cathéters intravasculaires, de prothèses ou de sondes, expose aux risques de candidose, en particuliers à *Candida parapsilosis*. Parmi les chirurgies les plus à risques, citons la chirurgie digestive et

cardiaque, ainsi que les transplantations d'organes, car elles sont accompagnées d'immunodépression transitoire (**Chabasse et al., 1999**).

♦ **Risque nosocomiale lié au *Candida***

C'est une réelle préoccupation dans les services hospitaliers, particulièrement en réanimation, et enco-hématologie et en chirurgie. Selon certaines études les *Candida* sont au quatrième rang des germes isolés des hémocultures. Les candidémies représentent actuellement 10 à 15 % de l'ensemble des septicémies nosocomiales.

La mortalité attribuée directement à ces candidémies approche 40%, enfin la survenue d'une candidémie allonge d'au moins un mois la durée d'une hospitalisation. Les principaux facteurs de risque de ces candidose invasives sont la neutropénie prolongée, l'antibiothérapie, la présence d'un cathéter vasculaire, la nutrition parentérale, la corticothérapie et la chirurgie digestive (**Chabasse et al., 1999**).

5. Origine de l'infection

L'infection est presque toujours d'origine endogène, à partir des levures du genre *Candida* qui font partie de la flore commensale humaine. Cette levure vit normalement en saprophyte dans l'intestin humain ou animal en se nourrissant de matières organiques en décomposition. Elle est généralement sans danger, tant que l'équilibre bactérien qui contrôle sa multiplication n'est pas altéré.

Dans certaines conditions, elles passent de l'état commensal à l'état pathogène (Levures opportunistes) sous l'effet de facteurs favorisants, elle peut se multiplier de manière excessive et envahir tout l'appareil digestif (bouche, intestin, anus). Après dissémination par voie sanguine, elle peut même se propager dans tout l'organisme (bronches, peau, vagin, etc...) sous forme de muguet ou de mycose (**Candolfi ., 2013**).

6. Principaux aspects cliniques

Les candidoses provoquant des infections superficielles au niveau du revêtement cutané (peau et phanères), des muqueuses (digestives et uro-génitales) ainsi que les atteintes profondes touchant de nombreux organes notamment le foie, les reins, l'œil, etc. (**Chabasse et al., 1999**).

7. Candidoses superficielles :

L'adhérence aux cellules épithéliales, la multiplication des levures et leur capacité de filamentation sont à l'origine de lésions cutanéomuqueuses inflammatoires (**Anofel 2014**).

Elles sont très fréquentes, en majorité bénigne, faciles à diagnostiquer et à traiter. L'identification des facteurs de risque est importante pour éviter les récives (**Bouchara, 2010**)

7.1.candidoses digestives :

Ce sont les localisations habituelles des candidoses. Elles traduisent le passage de l'état commensal à l'état pathogène de la levure déjà présente au niveau digestif (**Chabasse et al., 1999**).

7.1.1Candidoses buccales :

- ✓ **Muguet buccal** : C'est des dépôts blanchâtres sur la langue, les gencives, la face interne des joues, le voile du palais et le pharynx, muqueuse sous-jacente érythémateuse (**Fig.2**) ;
- ✓ **Glossite** : La langue est érythémateuse, luisante, lisse, dépaillée et douloureuse. Pas de dépôts blanchâtres ;
- ✓ **Stomatite des dentiers** : C'est une inflammation douloureuse du palais touchant 30% des porteurs de dentiers. Elle est souvent liée à un défaut d'hygiène buccale ou au mauvais ajustement de la prothèse ;
- ✓ **Perlèche** : C'est une fissuration bilatérale de la commissure des lèvres gênant l'ouverture de la bouche, elle souvent associée à une atteinte buccale interne (**Fig.3**) (**Candolfi , 2013**).



Fig. 3 : Perlèche et chéilites



Fig. 2 : Candidose buccale (muguet) (Anofel 2014).

7.1.2. Candidoses œsophagiennes

L'œsophage est la localisation la plus commune des candidoses digestives et *Candida spp* représente la première cause d'œsophagite (**Develoux, 2005**).

7.1.3. Candidoses gastro-intestinales

Les gastrites sont à *Candida* et s'observent principalement chez les sujets porteur d'un ulcère gastroduodénal. Les traitements spécifiques induisant une élévation du pH favoriseraient la multiplication de levures (**Chabasse et al., 2006**). La candidose gastrique se traduit à l'examen endoscopique par une muqueuse inflammatoire recouverte de dépôts membraneux d'aspect nacré.

7.1.4. Candidoses anales

C'est au départ une anite entraînant un prurit intense au passage des selles, l'infection s'étend ensuite localement vers les plis (intertrigo péri anal) et chez le nourrisson, vers le siège (érythème fessier du nourrisson) (**Candolfi, 2013**).

7.2. Candidoses génitales

C'est l'une des plus fréquentes infections gynécologiques de la femme en période d'activité génitale (**Develoux, 2005**).

Ces levures sont fréquemment isolées des prélèvements vaginaux, cette colonisation augmente après la ménopause, le portage vaginal est plus important lors d'une grossesse notamment au cours du troisième trimestre (**Chabasse et al., 2006**).

7.3. Candidoses cutanées et unguéales

Les candidoses cutanées sont très communes. Elles sont favorisées par l'humidité, l'obésité, la macération et manque d'hygiène ce qui explique atteintes préférentielle des grands et des petits plis et leurs fréquences chez l'obèse (**Develoux, 2005**).

7.3.1. Intertrigo :

Il est caractérisé par un érythème suintant avec enduit blanchâtre au fond d'un pli souvent crevassé. Les lésions prurigineuses, se surinfectent et s'eczématisent facilement (Fig.4) (Candolfi , 2013).



Fig .4 : Intertrigo des doigts, avec peau macérée de couleur blanche (Machouart., 2010).

7.3.2. Atteinte des ongles : Elle touche surtout les mains (Fig.5.)

-**onyxis** : Elle débute au bord proximal de l'ongle et s'étend vers le bord libre de celui-ci qui devient jaunâtre et se détache de son lit ;

-**Péri onyxis** : C'est une tuméfaction rouge douloureuse entourant la base de l'ongle. C'est la porte d'entrée de l'infection, il précède l'onyxis (Candolfi , 2013).



Fig.5 : Rougeur et œdème du repli périunguéal avec déformation et modification de la couleur de l'ongle (Anofel 2014).

8. Candidoses profondes :

Sur le plan nosologique, on définit une candidose profonde lorsqu'il y a au moins un organe profond touché et la candidose systémique lorsqu'il y a plusieurs sites profonds touchés ou lors d'une dissémination hématogène de levures du genre *Candida* (**Anofel, 2014**).

La majorité des données épidémiologiques actuelles sur les *Candida* concerne les candidoses profondes. Il s'agit souvent d'infections nosocomiales et leur incidence demeure rare par rapport aux atteintes superficielles, mais elles sont préoccupantes en raison de morbidité et de la mortalité qu'elles engendrent. La plus part des études ont été menées sur une catégorie de patients ou un service hospitalier particulier et les effectifs sont souvent réduits.

La porte d'entrée peut être endogène à partir d'un foyer digestif ou exogène lors d'un acte thérapeutique exemple : chirurgie ou pose de cathéter selon (**Taieb , 2010**).

Les candidoses profondes selon **Chabasse et al ., (2006)** peuvent être classées en trois catégories :

- candidémies : pour lesquelles au moins une hémoculture est positive ;
- candidoses invasives (viscérales profondes), au cours desquelles la levure est isolée d'un site normalement stérile ;
- candidoses disséminées ou systémiques : pour lesquelles la levure est isolée d'au moins deux organes ou deux sites stériles non contigus.

8.1. Mode de contamination

Les candidoses invasives relèvent le plus souvent d'une dissémination par voie hématogène et plus rarement d'un processus purement local.

Les candidoses par dissémination hématogène comprennent les candidémies d'origine digestive ou cutanée (liées à la présence d'un cathéter et au développement d'une thrombophlébite) et les atteintes profondes (à hémoculture positives ou non). Elles sont dites disséminées si au moins deux sites non contigus sont concernés (localisation hépatospléniques, endocardites, pneumopathies, métastases cutanées...etc) (**Chabasse et al., 2006**).

L'origine de la souche incriminée est la plus part du temps endogène. Lors d'épidémies nosocomiales les souches isolées sont le plus souvent différentes et proviennent généralement de la flore commensale des patients.

Toutefois l'origine exogène de certaines contaminations, notamment à partir du personnel soignant, les cathéters et autres dispositifs médicaux invasifs peuvent être contaminés par des levures provenant du personnel soignant. Certaines espèce comme *Candida parapsilosis* ont en effet une capacité d'adhérence accrue (**Yvonne et Gillian , 1986**).

8.2. Prévalence

Selon **Beck sague et Jarvis, (1993)** entre 1980 et 1990 aux états unis, 85% des infections fongiques nosocomiales étaient dues à des levures appartenant au genre *Candida*. Dans la même période, l'incidence des infections fongiques a doublé, passant de 2 % des patients hospitalisés en 1980 à 3.8% en 1990.

Selon **Beck sague et Jarvis, (1993)** une étude réalisée par **NNISS (National Nosocomial Infections Surveillance System)** a rapporté une augmentation de l'incidence des infections fongiques invasives nosocomiales de 2 à 3,8 pour 1000 admissions entre 1980 et 1990, cette augmentation est supérieure à celle des infections bactériennes et leurs mortalité est très élevée.

Une augmentation parallèle des candidémies était observée aux états unis au cours des années 80, passant de 0.1 pour 10 000 patients par jour en 1980 à 2 pour 10 000 patients par jour en 1992.

Dans la période 1990-1999, *Candida spp* et *Aspergillus fumigatus*, les deux agents fongiques les plus fréquemment isolés chez les patients neutropéniques, étaient responsables de 90% des mycoses rencontrées en hématologie.

En Europe d'après **Yvonne et Gillian, (1986)** des études effectuées par EPIC montrent que 9.7% des patients ont acquis une infection à l'hôpital. Les infections fongiques représentent 17% des infections acquises dans cette étude, et les *Candida* arrivant en cinquième position parmi les pathogènes rencontrés.

8.3. Classement des candidoses profondes

8.3.1. Septicémie à *Candida*

La candidémie définit une condition où un *Candida* a été identifié par au moins une hémoculture. Une candidose systémique correspond à une situation où une levure a été identifiée dans plusieurs sites non contigus, impliquant une dissémination hématogène, bien que les hémocultures soient parfois restées négatives. Leur traitement est identique, mais peut être modulé en fonction des sites anatomiques infectés. Il n'existe pas de symptomatologie spécifique des fongémies et des infections systémiques à *Candida* spp. Une fièvre irrégulière résistante aux antibiotiques et accompagnée d'une altération de l'état général est observée dans environ 80 % des cas et une leucocytose dans 50 % (**Fig.6**) (**Anofel 2014**).

Les candidémies rapidement dépistées peuvent répondre aux antifongiques et au retrait d'un cathéter. Lorsque le dépistage de la candidémie a été tardif ou que l'épisode initial est passé inaperçu, il existe un risque important de localisations uni- ou multi viscérales, qui peuvent apparaître au premier plan des semaines après le premier épisode. Malgré une meilleure prise en charge des candidémies et des candidoses systémiques et l'apparition de nouveaux antifongiques, la mortalité reste élevée (plus de 40 %). *C. albicans* reste la levure prédominante dans environ 50 % des cas (**Anofel 2014**).



Fig .6 : Septicémie à levures (Anofel 2014).

La candidose systémique peut être d'origine nosocomiale ; dans ce cas, le plus souvent, le point de départ est exogène (cathétérisme central, ...) et plus rarement endogène (à partir d'un foyer intestinal) (**Anofel 2014**).

Actuellement les Septicémie à *Candida* représentent 10 à 15% des septicémies hospitalières dans les services à hauts risques (patients en réanimation chirurgicale, polytraumatisés, grands brûlés **(Chabasse et al., 2006)**).

La symptomatologie clinique n'est pas spécifique. Une septicémie à *Candida* peut se manifester par une fièvre isolée, avec frissons, prolongée malgré une antibiothérapie à large spectre. L'association des myalgies peut être notée. Dans ces populations à risque toutes manifestations inhabituelles cutanées ou oculaires doivent faire penser à une candidose systémique **(Chabasse et al , 2006)**.

La mortalité reste élevée puisque elle se situe entre 45 et 60% selon le terrain sous-jacent **(Anofel, 2014)**.

8.3.2. Localisation tissulaires d'origine hématogène

8.3.2.1. Cutanées

Les localisations cutanées des candidoses systémiques se rencontrent chez environ 10% des patients présentant une septicémie à *Candida*.

Cliniquement, les lésions sont d'aspect papulo-pustuleux avec un centre nécro-purpurique. Les lésions cutanées surviennent dans un contexte fébrile associé à des myalgies **(Chabasse et al., 2006)**.

8.3.2.2. Oculaire

De survenue précoce, les localisations oculaires des candidoses systémiques se font par voie hématogène **(Anofel, 2014)**.

On distingue les endophtalmies endogènes les plus fréquentes surviennent au cours d'un épisode septicémique et représentent 10 à 40% des candidémies rencontrées surtout chez des patients non neutropéniques **(Chabasse et al., 2006)**.

8.3.2.3. Cardiaque

L'endocardite à *Candida* est en cause dans 1 à 2 % des endocardites infectieuses de l'enfant et de l'adulte (plus fréquente chez l'homme que la femme) et dans 10% des

endocardites du nouveau-né. Elle survient généralement chez des patients ayant des lésions préexistantes sur une valve native ou greffée. La mortalité malgré une prise en charge rapide, reste très élevée (**Chabasse et al., 2006**).

Les symptômes sont voisins de ceux d'une endocardite bactérienne (sueur nocturne, fièvre, souffle cardiaque à l'auscultation. Le point d'appel peut être une fièvre isolée avec une hyperleucocytose ou signes cutanés (nodules douloureux) (**Anofel, 2014**).

8.3.2.4. Hépto-splénique :

La candidose hépto-splénique, appelée aussi candidose chronique disséminée, survient pratiquement toujours chez le patient neutropénique soumis à une antibiothérapie à large spectre (favorisant la colonisation) et une chimiothérapie générant des ulcères digestifs. Elle concerne donc essentiellement des patients issus des services d'onco-hématologie, notamment traités pour une leucémie aigüe (**Chabasse et al., 2006**).

La symptomatologie clinique est non spécifique. Il s'agit le plus souvent d'une fièvre en sortie d'aplasie, associée dans environ la moitié des cas à une hépatomégalie ou à une splénomégalie, associée parfois à des signes digestifs (**Chabasse et al., 2006**).

Ces lésions ne sont décelables qu'en sortie d'aplasie. Le diagnostic sera suggéré comme dans les autres localisations profondes, devant une élévation du taux d'anticorps anti candida, souvent associée dans ce cas à une augmentation des phosphatases alcalines. La confirmation ne pourra être faite que par la biopsie d'une lésion, et son étude anatomo-pathologique et mycologique (**Anofel, 2014**).

8.3.2.5. Ostéo-articulaire :

Les candidoses osseuses restent relativement rares. Elles résultent le plus souvent d'une dissémination par voie hématogène. L'inoculation peut être directe comme dans le cas des médiastinites. Les toxicomanes par voie intraveineuse et les prématurés représentent les principales populations à risque (**Develoux, 2005**).

L'ostéoarthrite à *Candida* survient généralement aussi plusieurs mois (2, 6, 12 mois) après un épisode septicémique. Les spondylodiscites dorsolombaires et les atteintes costales et sternales sont les localisations les plus fréquentes.

le diagnostic repose sur l'isolement de la levure responsable après ponction à l'aiguille ou exploration chirurgicale du foyer lésionnel (**Chabasse et al ., 2006**).

8.3.2.6. Neuroméningée

Au cours des candidoses systémiques, cette localisation reste rare chez l'adulte (toxicomanes surtout) mais pas chez le nouveau-né chez lequel l'atteinte neurologique dans le cadre d'une septicémie à *Candida* est fréquente (**Chabasse et al ., 2006**).

Les lésions sont des microabcès diffus, des abcès parenchymateux, des lésions vasculaires et surtout des méningites.

Les méningites à *Candida* sont une des complications infectieuses de la neurochirurgie, en particulier après dérivation. La clinique des méningites à *Candida* est très variable ; les signes cliniques sont souvent discrets, se résumant la plupart du temps à des céphalées et une fièvre. L'important est de poser l'indication d'une ponction lombaire (**Develoux, 2005**).

8.3.2.7. Pulmonaire :

La colonisation de l'arbre bronchique par le *Candida* est fréquente chez les patients à infection systémique. Les pneumopathies candidosiques primitives à *Candida* sont en revanche rares et le plus souvent secondaires à une dissémination hématogène. La pneumopathie à *Candida* est plutôt observée chez les patients immunodéprimés (neutropénie, cancer, hémopathie...). Son incidence ne dépasserait pas 0.5% (**Chabasse et al ., 2006**).

Cliniquement, elle est masquée par les autres manifestations de la candidose diffuse des autres éventuelles infections associées. Au plan radiologique, elle peut se traduire par des infiltrats bilatéraux interstitiels ou aléatoires. Les prévalences des atteintes pulmonaires au cours des candidoses systémiques restent mal connues. Néanmoins, les études autopsiques montrent que le poumon est l'un des trois organes les plus souvent atteints (**Anofel, 2014**).

Le diagnostic est difficile, car les prélèvements mycologiques sont souvent positifs, du fait de la colonisation habituelle de l'arbre trachéobronchique chez ce type de patients. Seule la biopsie avec étude anatomopathologique et mycologique au niveau d'un foyer suspect permet d'assurer le diagnostic (**Chabasse et al ., 2006**).

8.3.2.8. Urinaire :

Des atteintes rénales peuvent survenir secondairement à une dissémination hématogène. La symptomatologie, non spécifique, associe fièvre, frissons et douleurs lombaires stimulant une pyélonéphrite (**Anofel, 2014**).

La localisation rénale peut aussi être révélée par un bilan biologique rénal perturbé (insuffisance rénale) suivi par une échographie montrant de nombreux abcès tissulaires. Il convient dans ce contexte d'éliminer une atteinte rénale secondaire par voie basse(ou rétrograde) liée à une colonisation à *Candida* mal contrôlée, générant des boules fongiques au niveau des voies urinaires avec le risque d'un retentissement sur la fonction rénale (**Anofel, 2014**).

8.3.3. Localisations profondes non liées à une dissémination hématogène :

- **La pneumopathie primitive à *Candida* :**

Elle reste rare même chez l'immunodéprimé. Elle correspond à l'extension au tissu pulmonaire d'une candidose oropharyngée et bronchique. Elle est à distinguer de l'envahissement parenchymateux par voie hématogène prenant l'aspect d'une miliaire.

- **La péritonite à *Candida* :**

Elle complique parfois une chirurgie abdominale (après perforation ou lâchage de sutures) ou une manœuvre de dialyse péritonéale (**Chabasse et al ., 1999**).

Les péritonites candidosiques sont avant tout consécutives à une contamination à partir du tube digestif. Elles compliquent une perforation (ulcère gastroduodéal, néoplasie) ou une intervention chirurgicale. *Candida albicans* et *Candida glabrata* sont les espèces les plus souvent isolées. La morbidité et la mortalité sont importantes (**Develoux, 2005**).

- **La cholécystite à *Candida* :** elle se rencontre après une intervention sur la sphère abdominale chez les sujets prédisposés (immunodéprimés, alcoolotabagique) (**Chabasse et al., 1999**).

- **La pyélonéphrite** : elle fait suite à une infection ascendante de la partie basse de l'appareil urinaire (**Anofel, 2014**).

9. Diagnostic biologique des candidoses :

9.1. Diagnostic mycologique :

Le diagnostic mycologique d'une candidose s'inscrit dans le cadre de la démarche classique d'identification d'un micro-organisme. L'examen direct du prélèvement, qu'il soit superficiel ou profond, est suivi d'une mise en culture permettant d'isoler le ou les germes présents. Les colonies de levures isolées peuvent ensuite être identifiées par la mise en œuvre de tests variés qui reposent sur des critères morphologiques, immunologiques, voire génotypique si nécessaire (**Chabasse et al., 2006**).

9.1.1. Prélèvement :

Il est réalisé avant tout traitement spécifique. On utilise pour gratter les lésions superficielles une cuvette ou un vaccinostyle, des pinces pour recueillir les fragments d'ongles malades, deux écouvillons pour les lésions muqueuses, l'un pour réaliser la culture, l'autre l'examen direct. Les hémocultures serontensemencées si possible sur milieux de Sabouraud (**Chabasse et al., 1999**).

Les produits biologiques (LBA, LCR, urines, selles) et autres liquides prélevés en milieu hospitalier sont collectés stérilement (**Anofel, 2014**).

La biopsie de sites profonds (prélèvements sinusiens, oculaires, cérébraux, cardiaques, digestifs, rénaux, hépatospléniques, osseux...) consiste à découper les fragments organiques en petits morceaux et les recueillir dans un pot stérile ; une partie est réservée à l'examen direct et l'autre à la mise en culture. Parallèlement, adresser un échantillon fixé (formol ou liquide de Bouin) par le préleveur au laboratoire d'anatomopathologie (**Chabasse et al., 2006**).

9.1.2. Examen direct

L'examen direct, première étape au laboratoire, permet d'orienter rapidement le diagnostic et éventuellement la thérapeutique (**Chabasse et al., 2006**).

Cet examen direct, technique indispensable pour mettre en évidence le champignon sous un « Etat parasitaire », apporte en quelques minutes la preuve formelle de la mycose. A elle seule, en effet, la positivité de l'examen direct permet d'impliquer un ou plusieurs champignons dans le processus pathologique en révélant, par exemple, la présence de levures bourgeonnante, éventuellement accompagnées de mycélium, sur les muqueuses, dans les squames, les fragments d'ongles (**Anofel, 2014**).

a. Prélèvement superficiel

L'examen direct s'effectue soit directement à l'état frais par montage dans un liquide non coloré (eau distillée ou sérum physiologique stérile), soit en utilisant un colorant permettant de mieux visualiser les blastopores.

Cet examen s'attache à mettre en évidence les éléments fongiques (blastopores ou autres éléments mycéliens). La présence de blastopores n'est pas pathognomonique d'une candidose. Puisque un grand nombre de *Candida* vivent en commensaux dans les tractus digestif et urogénital de l'homme. Il est toutefois intéressant d'évaluer leur quantité, ce qui dans le cas de prélèvements cavitaires peut permettre de révéler un déséquilibre de la flore avec émergence des levures. Les filaments (pseudo mycélium ou mycélium vrai) sont tout particulièrement recherchés, car leur présence est en faveur de la pathogénicité du champignon.

La sensibilité de l'examen direct reste cependant assez faible et l'absence d'élément fongique visible à l'examen direct ne permet pas d'écarter définitivement le diagnostic de candidose. L'échantillon doit en effet contenir au moins 10^4 à 10^5 éléments par millilitre, pour que *Candida* puissent être détectés dès cette étape (**Chabasse et al ., 2006**).

b. Prélèvements profonds :

Les étalements, des appositions sur lames ainsi que des spots de cyto-centrifugation sont réalisés à partir des prélèvements de sites profonds (LBA, liquide pleural, articulaire, biopsies tissulaires...). Les frottis sont fixés à la chaleur ou à l'alcool, puis colorés par le MGG, ou traités par imprégnation argentique (techniques de Gomori-Grocott ou de musto).

La mise en évidence des levures bourgeonnantes, avec ou sans filaments, au sein de produits biologiques normalement stériles permet d'affirmer le caractère pathogène du champignon, au même titre que l'examen histologique (**Piheta, 2013**).

c. Cas particulier de l'histologie :

L'examen anatomopathologique complète l'ED et s'avère indispensable dans l'étude des mycoses profondes. La coloration par l'acide périodique de schiff (PAS) et l'imprégnation argentique de Gomori-Grocott sont les colorations habituellement utilisées. La première est bien adaptée au diagnostic des levures, tandis que la seconde colore intensément la paroi de tous les champignons. La coloration par l'hématéine-éosine-safran (HES), quant à elle, permet d'apprécier la réaction tissulaire de l'hôte.

L'immunohistochimie peut aider à apprécier la nature du champignon en cause dans les tissus. Elle fait appel à des techniques d'immunofluorescence ou immunoenzymatiques (peroxydase) utilisant des immunosérums polyclonaux ou des anticorps monoclonaux (**Chabasse et al., 2006**).

9.1.3. Culture

Les levures du genre *Candida* sont peu exigeantes sur le plan nutritif, et un grand nombre de milieux de culture utilisés dans un laboratoire de microbiologie (géloses ordinaire, géloses au sang, bouillon cœur-cerveille....) permettent leur développement. Toutefois, le milieu de Sabouraud est le milieu adapté à la culture des champignons. Les boîtes de Pétri offrent une surface d'ensemencement plus importante que les tubes ; elles permettent un bon isolement des colonies et de visualiser les associations de levures. En revanche, les risques de contaminations par des champignons filamenteux aéroportés sont plus importants et les milieux se dessèchent plus rapidement lors d'une incubation prolongée (**Piheta , 2013**).

L'isolement de la levure ou du champignon filamenteux en culture requiert en général 24-48 heures mais le délai peut être plus long (rarement plus de cinq jours) pour certaines espèces comme *Candida glabrata*. L'identification peut être immédiate pour certaines espèces comme *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* grâce à l'utilisation de milieux chromogéniques (coloration variable des colonies en fonction de l'espèce). Dans les autres

Cas, 24 à 72 heures supplémentaires sont nécessaires pour obtenir l'identification au niveau de l'espèce par l'utilisation de tests biochimiques classiques (galerie d'identification). On peut souligner l'intérêt d'utiliser des milieux spéciaux additionnés d'antibiotiques (**Chabasse et al ., 2006**).

9.1.3.1. Ensemencement :

L'ensemencement se fait de façon stérile, par épuisement progressif de l'inoculum(en quadrants, en étoile, par rotation,...). La calibration de l'inoculum (par exemple 100µl pour les urines) permet de dénombrer les levures présentes dans le prélèvement (**Piheta , 2013**).

Les prélèvements épais comme le liquide bronchique, gastrique ou synovial sont préalablement fluidifiés à l'aide d'un produit mucolytique tel que digest-EUR®(Eurobio (**Makni,2010**))

9.1.3.2. Les milieux de cultures :

- **Les milieux standards**

La vitesse de croissance des levures étant moins rapide que celle des bactéries, il est préférable d'adjoindre au milieu d'isolement un antibiotique afin d'inhiber la pousse de la flore bactérienne associée, surtout si le prélèvement est issu d'un site non stérile. Le milieu gélose de Sabouraud additionné de chloramphénicol et/ou de gentamicine est classiquement utilisé. Dans certaines circonstances, il est possible d'y adjoindre de la cycloheximide (Actidione ^R), qui inhibe la croissance de la plus part des champignons filamenteux susceptible de contaminer les cultures. Toutefois, cette molécule peut inhiber ou freiner la pousse de certaines espèces de *Candida* telles que *Candida glabrata* *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, ou *Candida famata* (**Piheta , 2013**).

La plus part des champignons ont une température de croissance entre 25 et 35° °.La température optimale de croissance des *Candida* est de 37°C. Toutefois, ceux-ci pouvant être retrouvés en association avec d'autres micromycètes non thermophiles, plusieurs géloses sont généralement ensemencées ; la première est incubée à 22-25 °C et la seconde à 35-37°C. Pour tout prélèvement profond, la culture est réalisée à 37 °C. Les durées d'incubation sont adaptées au type de prélèvement. Une durée d'incubation de 24 à 72 heures est généralement suffisante pour isoler la majorité des *Candida*. L'incubation des cultures de prélèvements profonds et plus longue, d'une à quatre semaines (**Makni , 2010**)

Les colonies de *Candida* apparues après une incubation de 24 à 48 heures à 37°C mesurent quelques millimètres de diamètre. Plutôt blanchâtre, leur surface est lisse, brillante

et luisante, ou plus rarement, crouteuse, terne, sèche, mate, ou ridée. Les associations de différentes espèces sont difficilement décelables par un œil non expérimenté (**Piheta , 2013**).

- **Les milieux chromogéniques :**

Ces milieux, auxquels sont rajoutées les substances chromogènes, confèrent aux colonies qui s'y développent une coloration particulière, variable en fonction de l'espèce. Cette coloration est dans la plus part des cas basée sur la mise en évidence d'une activité enzymatique de type hexosaminidase (N-acetyl- α -D-galactodaminidase). La multiplication des bactéries y est également inhibée .Tous ces milieux permettent au moins d'identifier directement *Candida albicans*, les colonies se colorent en bleu (Candida ID®2, bio Merieux), en vert (CHROMagar® Candida, becton-Dickinson ; OCCA® Oxoid)...etc Ces milieux permettent par ailleurs l'identification présomptive d'autres espèces (**Makni , 2010**)

Plus onéreux que traditionnels, ces milieux apportent néanmoins un gain de temps de 24 à 48 heures, puisque l'identification des levures peut être rendue dans bon nombre de cas des isollements et sans repiquage ultérieur, compte tenu de la forte prévalence des espèces concernées. Ils sont en outre particulièrement intéressants pour les sites susceptibles d'héberger plusieurs espèces, notamment dans le suivi de la colonisation de patients à risque de développer une candidose profonde, puisque ils permettent de visualiser directement les associations de levures (**Piheta , 2013**).

- **Les milieux Fluorogéniques :**

Cultivées sur le milieu Fluroplate® candida (Merck), les colonies de *candida albicans* présentent une fluorescence bleutée sans diffusion du pigment dans la gélose, lorsqu'elles sont observées sous lumière ultraviolette à 366 nm. La nécessité d'un équipement spécifique limite l'utilisation de ce milieu

- **Les milieux pour hémoculture :**

Ces milieux pour hémocultures ne permettent pas de poursuivre directement l'identification du germe. En cas de positivité, il est en effet nécessaire de réaliser un

repiquage sur milieux standards et /ou chromogéniques. Après une incubation minimale de 24 heures, l'obtention de colonies isolées permettra de réaliser l'identification du champignon et de déterminer sa sensibilité aux antifongiques (**Makni , 2010**)

9.1.4. Identification :

La réalisation des tests d'identification ne peut être envisagée qu'en présence de colonies bien individualisées. En pratique courante, l'identification des différentes espèces de *Candida* fait appel à la détermination de caractères morphologiques, physiologiques et plus récemment immunologiques, grâce à des tests basés sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps monoclonaux (**Piheta , 2013**).

La spectrométrie de masse et la biologie moléculaire, bien que prometteuses, ne concernent à l'heure actuelle que les centres spécialisés et les équipes de recherches (**Piheta , 2013**).

9.2. Diagnostic immunologique indirect :

Chez les patients suspects de développer une candidose profonde ou systémique, l'isolement des levures n'est pas toujours possible en raison des difficultés de recours à des procédures invasives (**Chabasse et al ., 2006**).

Les difficultés de mise en œuvre et d'interprétation des techniques mycologiques directes a conduit donc au développement de méthodes immunologiques permettant la mise en évidence de marqueurs d'infection fongique invasive, anticorps sériques ou antigènes circulants, dont la recherche est souvent complémentaire (**Piheta , 2013**).

Il faut tenir compte de l'état commensal de certaines espèces : *Candida albicans* et, *Candida glabrata*. Néanmoins un titre(ou un nombre d'arcs de précipitation élevé) ou encore une ascension du titre des anticorps spécifiques sont des éléments utiles pour le diagnostic, ces examens sont peu contributifs chez l'immunodéprimé (**Chabasse et al ., 1999**).

9.2.1. Recherche d'antigènes circulants :

Chez les patients profondément immunodéprimés, la mise en évidence d'anticorps sériques est souvent défailante. La recherche d'antigènes solubles, circulants dans le sang, les

urines, le LCR est dans cette situation plus adaptée. L'objectif est de dépister précocement une candidose profonde

La recherche d'antigènes mannanes, peut être réalisée par des techniques d'agglutination ou tests ELISA. Mais ces techniques sensibilité et leur utilisation reste pour l'instant limitée (**Piheta , 2013**).

Différentes métabolites ou antigènes peuvent être recherchés dans le sérum ainsi que dans d'autres liquides biologiques (urines, LCR, LBA). Cependant, leur concentration est habituellement très faible et le caractère transitoire de leur passage dans la circulation sanguine limite leur détection (**Chabasse et al ., 2003**).

9.2.1.1. Mannanes

Les mannanes représentent les antigènes majeurs de la paroi des *Candida*. Trois tests sont actuellement commercialisés.

En pratique il n'existe pas à ce jour de métabolites facilement détectables dans un laboratoire mycologique médical (**Piheta , 2013**).

Les antigènes complexes sont préalablement libérés après traitement préalable des échantillons par chauffage à 100°C, en présence d'EDTA ou encore par des protéases (**Chabasse et al ., 2003**).

➤ Le test Pastorex ®Candida (Bio-Rad):

Il consiste en l'agglutination de particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal dirigés contre une séquence oligomannosidique particulière présente sur les mannanes libérés de la paroi de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida glabrata*, *Candida kefyr*, *Candida stellatoïda* et de façon inconstante de *Candida krusei*, *Candida kefyr*, *Candida parapsilosis* (**Chabasse et al ., 2003**).

➤ Le Kit platelia® Candida Ag ((Bio-Rad):

Il détecte les mannanes par la technique ELISA, avec une sensibilité analytique entre 2.5ng et 0.1 ng/ml, tandis que la sensibilité clinique du test est de l'ordre de 50%. Ce test automatisable est adapté au suivi régulier des patients à risque (**Piheta , 2013**).

Comme pour le précédent test, les espèces non-*albicans* (notamment *Candida krusei*, *Candida kefyr* et *Candida parapsilosis*) sont moins bien détectées. Ce test a récemment été modifié (platelia®Candida Ag-Plus) afin d'augmenter sa sensibilité (**Chabasse et al., 2003**).

9.2.1.2. B(1,3)-D glucanes :

D'autres tests, plus récemment développés, reposent sur la détection des B(1,3)-D glucanes. Ces polysaccharides sont, avec la chitine, des composants majeurs de la paroi des *Candida* mais aussi de la plus part des levures et champignons filamenteux, à l'exception des cryptocoques et des zygomycètes. En cas d'infection fongique invasive (infections à *Candida*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Pneumocystis*....), les B(1,3)-D glucanes sont libérés dans la circulation. Ils seraient détectables en moyenne 10 jours avant l'apparition des premiers signes cliniques (**Chabasse et al., 2003**).

9.2.1.3. D-arabinitol :

Le D-arabinitol est un pentose produit par toutes les espèces de *Candida*, sauf *Candida glabrata* et *Candida krusei*. La détermination du ratio D-arabinitol (d'origine fongique) / L-arabinitol (d'origine humaine) dans les urines s'est avérée être un excellent marqueur de candidose profonde (**Chabasse et al., 2006**).

L'interprétation de du ratio D-arabinitol et L-arabinitol semble tenir compte de la fonction rénale du sujet. Ce dosage est possible par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), mais cette technique n'est pas adaptée à l'activité d'un laboratoire de routine hospitalière (**Chabasse et al., 2006**).

9.2.2. Recherche d'anticorps circulants anti-*Candida* :

Hémagglutination indirecte (HAI), immunofluorescences indirecte (IFI), ELISA et recherche d'anticorps précipitants par co-electrophorèse (IE) sont les techniques les plus utilisées pour la sérologie *Candida* ; certaines permettent une appréciation semi quantitative du titre d'anticorps sérique. Il est souhaitable d'associer deux ou trois techniques, en raison des difficultés d'interprétation liées au caractère commensal de *Candida albicans* au niveau du tube digestif (**Chabasse et al., 2006**).

9.3. La biologie moléculaire :

La détection des acides nucléiques est fondée sur les méthodes d'amplification géniques : polymérase chaîne réaction (PCR). Récemment, plusieurs techniques utilisant la PCR ont été mises au point pour amplifier et mettre en évidence l'ADN des espèces de *Candida* pathogènes (**Piheta , 2013**).

La PCR peut être réalisée sur le sang, le sérum, ou les biopsies d'organes. L'extraction d'ADN à partir du sérum est la plus recommandée puisqu'elle est la plus facile

La majorité des études amplifie les régions ITS (internal transcribed spaces) des gènes cibles ADNr. Ces gènes ont la particularité d'être multirépétés, spécifiques d'espèces et très conservés (**Chabasse et al., 2003**).

10. Traitement

La fréquence des candidoses, qu'elles soient superficielles ou profondes, est en progression. Cette augmentation trouve son origine dans la multiplication des circonstances ou des facteurs d'immunodépressions. La diversité des *Candida*, l'émergence de nouvelles espèces (*Candida dubliniensis*), l'augmentation de l'incidence des souches résistantes aux antifongiques et le risque toxique de certaines molécules chez des patients fragiles, nécessitent un traitement adapté et une bonne connaissance des antifongiques et de leur mode d'action (**Chabasse et al., 2006**).

L'arsenal thérapeutique des candidoses est aujourd'hui bien diversifié avec la disponibilité des nouvelles formulations lipidiques de l'ampotéricine B, la mise récente sur le marché pour le traitement des mycoses profondes des nouveaux triazolés (voriconazole, posaconazole) et l'apparition d'une nouvelle classe d'antifongiques, les échinocandines avec la capsofungine (**Chabasse et al., 2006**).

Le traitement des candidoses ne repose pas exclusivement sur le traitement médical, la guérison définitive ne peut être obtenue qu'avec la maîtrise. Le traitement médical peut être avantageusement complété par un acte chirurgical (végétation sur valve cardiaque) pour certaines localisations profondes (**Piheta , 2013**).

10.1. Molécules antifongiques utilisées :

Ces antifongiques appartiennent à trois groupes

10.1.1. Polyènes :

Ce sont des antifongiques naturels produits à partir d'extraits de cultures d'actinomycète du genre *Streptomyces*. Leur action sur les champignons s'exerce en se fixant à l'ergostérol de la membrane ainsi sa perméabilité (**Chabasse et al., 2006**).

Aujourd'hui on utilise l'amphotéricine B (Am B) (fungizone®), cette molécule a longtemps été le « gold standard » dans le traitement des infections fongiques systémiques. Cela est dû à son large spectre qui couvre la quasi-totalité des espèces de *Candida*. Des formulations lipidiques de cette molécule sont utilisées afin de réduire sa toxicité principalement rénale (**Talbert , 2008**)

Le principal inconvénient de ces formulations est le cout qui est nettement supérieure à celui des autres traitements (**Talbert , 2008**)

10.1.2. Les dérivés azolés :

Il s'agit de molécules de synthèse issue de la modification du noyau azolé. Ils ont en commun un noyau azolé contenant soit deux (imidazolés), soit trois (triazolés) atomes d'azote (**Chabasse et al., 2006**).

a. Les imidazolés

Ils sont nombreux, la plupart sont utilisés uniquement par voie locale, sous forme de topiques. Le miconazole (Daktarin®) est aussi utilisé par voie orale, comme le kétoconazole utilisable également par voie locale (Ketoderm®) et par voie orale (Nizoral®) (**Talbert , 2008**)

b. Les triazolés :

Les seuls utilisés dans les candidoses profondes sont les triazolés : principalement le fluconazole (Triflucan®) et l'itraconazole (Sporanox®) vu leur faible toxicité et leur large spectre

Le voriconazole et le posaconazole appartiennent à la seconde génération des triazolés systémiques. Le voriconazole est actif sur les différentes espèces de *Candida spp* mais moins sur ceux ayant une sensibilité diminuée au fluconazole.

10.1.3. Les Echinochandines

Cette nouvelle classe d'antifongique fait partie des polypeptidiques. Ce sont des métabolites lipopolypeptidiques obtenue par fermentation de divers champignons.

La caspofungine est la première molécule disponible de cette nouvelle classe. C'est un hexapeptide cyclique. C'est un dérivé semisynthétique de la pneumocandineB (Talbert , 2008)

➤ Remarque : D'autres molécules sont utilisées sont des analogues nucléosidiques et sont représentés par la 5-Fluorocytosine (Ancotil®)(Talbert , 2008)

11. Indications thérapeutiques :

11.1. Prise en charge des Candidoses superficielles :

Il convient dans tous les cas de rechercher les facteurs favorisants et de les contrôler .En outre, l'examen clinique doit détecter tous les foyers externes afin de les traiter simultanément pour éviter les récives

Le choix des antifongiques tient compte :

- de la localisation et de l'étendue des lésions ;
- du terrain (femme enceinte, immunodépression,...).
- d'une atteinte phanérienne associée (poils, ongles,...).
- du risque d'effets secondaires et d'interactions médicamenteuses (traitement oral).
- du cout.

Les candidoses superficielles sont traitées par des topiques (polyènes, dérivés de l'imidazole, etc...), le traitement dur en moyenne une quinzaine de jours. Pour les vulvo-vaginites, il existe des traitements courts (1jour) avec des ovules à libération prolongée. En cas de récives multiples, il faut associer au traitement de la phase aiguë un complément au

moment des règles suivantes, plus un traitement au moment de la phase progestative. A ces traitements locaux, il peut être utile d'associer une prise orale, par exemple de kétoconazole (200mg par jour pendant 10jours), après avoir vérifié le bon fonctionnement hépatique (Chabasse et al., 1999).

11.2. Prise en charge des Candidoses profondes :

Le consensus actuel, devant la gravité des candidoses et le risque de dissémination avec localisations secondaires, est de traiter toute candidémie objectivée par une hémoculture positive. La stratégie actuelle est celle retenue par la conférence de consensus de Paris en mai 2004 (Chabasse et al., 2006).

a. Traitement prophylactique

Visant à prévenir l'infection fongique, il s'agit du traitement systématique de sous groupes de patients strictement sélectionnés pour leur risque élevé de développer une candidose sévère (Kettani , 2006).

b. Traitement probabiliste

Il vise à prévenir ou à traiter une candidose profonde. Il s'adresse à des individus à haut risque (traitement préventif) ou fortement suspects (traitement empirique) d'avoir une candidose sévère, sans preuve bactériologique.

Les difficultés du diagnostic et l'urgence du traitement font tout l'intérêt du traitement probabiliste (Kettani, 2006).

b.Le traitement curatif :

C'est le traitement d'une candidose documentée avec une preuve bactériologique ou histologique (Kettani , 2006).

Le choix du traitement dépend d'un certain nombre de facteurs liés au patient lui-même : existence ou non d'une neutropénie, présence d'une voie veineuse centrale, état stable ou non sujet, espèce de *Candida* en cause et existence ou non d'une prophylaxie anti-*Candida* antérieure.

Avant de traiter, il faut s'assurer aussi qu'il s'agit d'une véritable infection à *Candida* et non d'une simple colonisation. Mais devant la gravité des infections systémiques à *Candida* dont la mortalité peut atteindre 60% des cas dans certaines séries la décision de traiter précocement sans le diagnostic de certitude devant des arguments liés au terrain précaire , aux pratiques de réanimations, et aux thérapeutiques sous-jacentes est la règle d'aujourd'hui (**Chabasse et al., 2006**).

Les candidoses profondes et septicémiques requièrent une hospitalisation. Un traitement par amphotéricine B par voie intra veineuse peut être proposé. A cette molécule on peut associer la 5-fluorocytosine. Le relais peut être pris (entre 15 jours et 6 semaines) par les azolés. Le choix est éventuellement guidé par l'antifongigramme ; on utilisera le fluconazole, le kétoconazole, ou l'itraconazole

En cas d'insuffisance rénale on peut avoir recours à amphotéricine B liposomiale. En cas d'intolérance à l'amphotéricine B, le fluconazole en IV d'emblée est une autre alternative (**Chabasse et al., 1999**).

1. Objectifs de l'étude :

Les mycoses sont des pathologies fréquentes, qui menacent des milliers de personnes dans le monde. Parmi ces mycoses nous nous sommes intéressés particulièrement aux candidoses invasives.

Pour cela nous avons effectué une étude pratique réalisée au niveau du laboratoire de parasitologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou. Un total de 89 échantillons de sérum comprenant 48 hommes et 41 femmes ont été collectés du 01 février au 30 mars de l'année 2016 provenant des malades hospitalisés au niveau du service d'hématologie adulte et pédiatrique, de réanimation médicale et chirurgicale dans le but de rechercher des antigènes candidosiques chez ces patients à haut risque en particulier le mannane par la technique ELISA, et éventuellement une recherche d'anticorps par la technique immunoélectrophorèse.

2. Principe du test :

C'est une technique immunoenzymatique en un temps de type sandwich sur microplaque permettant de mettre en évidence la présence du mannane, qui constitue le principal antigène de la paroi des levures du genre *Candida*. Elle utilise l'anticorps monoclonal de rat EBCA-1, dirigé contre la (beta) 1-5oligomannosides de *Candida*. L'anticorps monoclonal est utilisé d'une part (anticorps non marqué) pour sensibiliser les puits de la microplaque afin de permettre le captage de l'antigène et d'autre part (anticorps couplé à la peroxydase) pour détecter l'antigène capté. Le test a un seuil de 0,25 ng de mannane par ml de sérum testé.

La mise en œuvre de ce test comprend les étapes suivantes :

-Le traitement du sérum à la chaleur en présence d'EDTA afin de dissocier les immunocomplexes et de précipiter les protéines sériques pouvant éventuellement interférer l'ELISA.

-L'incubation simultanée du sérum et du conjugué dans les cupules de la microplaque sensibilisées par l'anticorps monoclonal. En présence de l'antigène il se forme un complexe de type Ac anti-mannane-mannane-Ac-anti mannane /peroxydase.

-La révélation, après lavage, des complexes formés éventuellement formés par addition de substrat (chromogène TMB).

- La lecture de la réaction à 450/620 nm après 30mn d'incubation à température ambiante et arrêt de la réaction avec de l'acide sulfurique.

3. Matériels :

Notre étude est réalisée au niveau du laboratoire de parasitologie, de biochimie ainsi qu'au niveau du laboratoire du centre de transfusion sanguine du CHU Nedir Mohamed de Tizi -Ouzou.

Nous nous sommes intéressées aux malades hospitalisés au niveau des services de la réanimation médicale et chirurgicale et d'hématologie adulte et pédiatrique. Pour effectuer notre partie pratique nous avons utilisé le matériel suivant :

- un coffret de réactif : Platelia[™]candida Ag plus (**Fig.7**).



Fig.7: Liste des réactifs utilisés (Photo Dif et Edjekouane, 2016)

- Eau distillée ou déminéralisée stérile, pour dilution de la solution de lavage.
- Papier absorbant.
- Gants à usage unique.
- Lunettes de protections.
- Hypochlorite de sodium (eau de javel) et bicarbonate de sodium.
- Pipettes ou multi pipettes, réglables à 10 µl ,100µl, 1ml, 2ml, et 10ml.
- Tubes de centrifugations ou polypropylène de 1,5ml avec des bouchons.
- Centrifugeuse capable d'atteindre 10000g
- Bain marie thermostat à 100 c°.
- Portoir flottant pour tubes de micro centrifugation.
- Eprouvettes graduées de 25ml, 50ml, 100ml, et 1000ml.
- Conteneur de déchets contaminés.
- Agitateur type « Vortex ».
- Incubateur de microplaques thermostat à 37°C.
- Laveur de microplaque.
- Lecteur de microplaque équipé de filtre 450 et 620 nm.

4. Méthodes

a-Recueillir les échantillons de sérum sur anticoagulant de type EDTA, Citrate ou héparine.

b-Après centrifugation, extraire le sérum et le conserver en tube fermé et les échantillons seront conservés à 2-8°C, si le test est effectué dans les 5 jours et à -20°C ou -80°C si le test sera effectué au-delà de 5 jours les échantillons devront être homogénéisés (vortex) après décongélation et avant la réalisation du test (**Fig.8**).

c- traitement des échantillons :

Dans des tubes en polypropylène de 1,5ml, on distribue 300µl de chaque échantillon à tester, ainsi que le contrôle négatif (R0) et le contrôle positif (R5).

NB : sauf les calibrateurs (R₃, R_{4b}, R_{4c}, R_{4d}), ne doivent pas subir ce traitement.



Fig .8 : Distribution des sérums (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

* On ajoute 100 µl de la solution de traitement des sérums dans chaque tube.

*On homogénéise les tubes en les vortexant (Fig.9).



Fig .9 : Vortex (Photo Dif et Edjekouane, 2016)

* On chauffe les tubes pendant 3minutes à 100°C (Fig.10.).



Fig.10 : Bain marie (Photo Dif et Edjekouane , 2016).

* On centrifuge les tubes à 10000g pendant 10 minutes (**Fig.11**)



Fig. 11 : Centrifugeuse (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

*Le surnageant es utilisé pour la détection de l'antigène mannane (**Fig.12**)



Fig.12 : Les surnageants obtenus (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

- Le test doit être réalisé dans les deux heures suivant le traitement des sérums.

4.1. Procédure EIA :

- 1- Etablir le plan de distribution et d'identification des calibrateurs, des contrôles négatifs et positifs et des échantillons selon le schéma donné sur la microplaque.
- 2-Distribuer 100µl de surnageant des échantillons traités et distribuer 100 µl de surnageant des contrôles positifs et négatifs.
- 3-Distribuer 100µl de chaque calibrateur selon le schéma.
- 4-Distribuer 100µl de solution conjugué (R6) dans chaque puits.
- 5-Couvrir la microplaque d'un film adhésif.
- 6-Incuber la microplaque immédiatement à 37C° pendant 90 ± 10 minutes (**Fig.13**).



Fig.13 : Incubateur (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

7-Retirer le film adhésif, aspirer le contenu de chaque puits dans un conteneur à déchets contaminés.

8-Laver la microplaque 5 fois à l'aide d'un laveur de microplaque (avec 800 μ l de solution de lavage diluée).pour préparer la solution de lavage on dilue 20 fois la solution de lavage concentrée dans de l'eau distillée (50ml de R2 dans 950ml d'eau (distillée) (**Fig.14**).

9-Après dernier lavage on tapote doucement la microplaque sur le papier absorbant pour retirer le liquide restant.

10-Distribuer 200 μ l de solution de chromogène TMB(R9) rapidement à l'abri de la lumière (**Fig.15**).



Fig. 14 : Laveur (Photo Dif et Edjekouane, 2016).



Fig.15 : Distribution du substrat (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

11-Incuber la microplaque à l'obscurité à $+19-25^{\circ}\text{C}$ pendant 30 ± 5 minutes (sans utiliser de film adhésif).

12-Ajouter $100\mu\text{l}$ de solution d'arrêt (R10) dans chaque puits.

13-Essuyer soigneusement le dessous de chaque plaque.

•
•
•

14- Lire la DO à 450nm/620nm (Fig.16).



Fig.16 : Lecteur (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

Le résultat est imprimé selon un tableau renfermant les DO de chaque sérum, contrôle négatif, contrôle positif et calibrateurs.

A partir des calibrateurs, on trace une courbe d'étalonnage et on calcule les concentrations en mannane à l'aide de la formule suivante : [] en mannane = DO mesurée / a (a = le facteur de corrélation).

4.2. Procédure IEP :

A fin d'augmenter la sensibilité et la précocité de la positivité du test, un suivi régulier des patients à risque est préconisé, ainsi que la recherche d'anticorps anti-mannane.

Dans notre expérience, et par manque de moyens et de réactifs au laboratoire de parasitologie, nous allons chercher l'anticorps anti-mannane sur un sérum positif et pour cela nous allons établir la technique d'immunoélectrophorèse suivante :

- **1^{er} jour** : prendre 2 lames préenduites et couler 3.5ml de gélose véronal sur chaque lame.

Pour la préparation des lames préenduites (Fig.17) :

- Fondre la gélose à eau.
- Couler 1.5ml de gélose sur chaque lame.
- Laisser sécher une nuit au séchoir.
 - ✓ Placer la lame dans une chambre humide.
 - ✓ Laisser solidifier la gélose à 4° pendant 30mn puis Tracer les puits et les rigoles



Fig.17: Puits et rigoles tracés (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

- ✓ Evider les puits et déposer 10ul d'antigène dans chaque puits (**Fig.18**).



Fig .18 : Puits évidés et dépôts d'antigène (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

- ✓ Placer les lames dans la cuve d'électrophorèse déjà rempli de tampon véronal et former des ponts entre les lames et le tampon à l'aide du papier wattman (**Fig.19**).
- ✓ Régler le stabilisateur du courant à raison de 5 A par lame et laisser migrer pendant 2 heures.



Fig.19 : Cuve d'électrophorèse (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

-Evider les rigoles et remplir de 120ul de sérum (**Fig.20**).

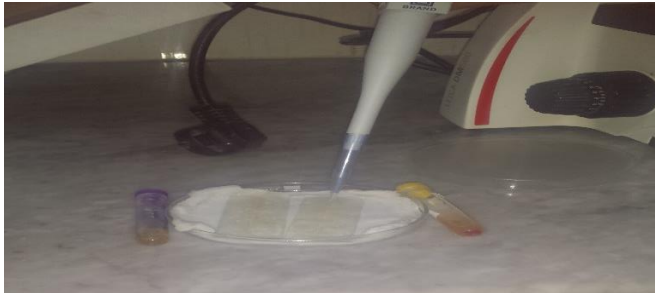


Fig.20 : remplissage des rigoles par le sérum (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

- ✓ Laisser diffuser à température ambiante dans une chambre humide pendant 24 heures (**Fig.21**).



Fig.21 : Diffusion à température ambiante (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

○ **2eme jour : rechargement**

- ✓ Recharger les rigoles par 120ul de sérum.
- ✓ Laisser diffuser à 4°C dans une chambre humide pendant 24 heures (**Fig.22**)

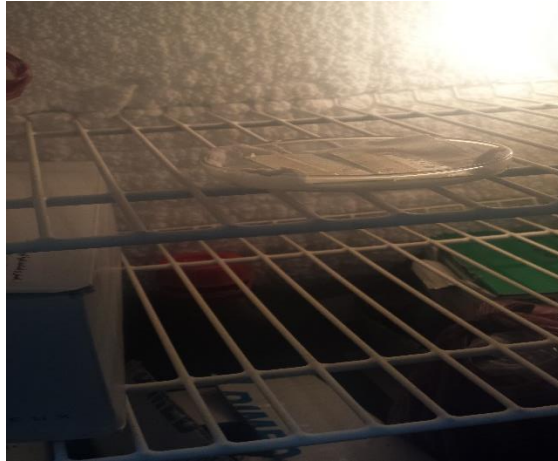


Fig. 22 : La diffusion à 4°C (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

○ **3^{ème} jour : 1^{er} lavage**

- ✓ Plonger les lames dans un bain de citrate 5% pendant 3 heures (**Fig.23**)
- ✓ Plonger les lames dans un bain de solution de lavage pendant 24 heures.



Fig.23 : Bain de citrate 5%

(Photo Dif et Edjekouane, 2016).



Fig.24 : Tampon de lavage

○ **4^{ème} jour : 2^{ème} lavage**

- ✓ Plonger les lames dans un 2^{ème} bain de solution de lavage pendant 24 heures (**Fig.24**)
- 5^{ème} jour : Déminéralisation

- ✓ Couvrir les lames de papier wattman imbibé d'eau (Fig.25)
- ✓ Placer au séchoir pendant une nuit.

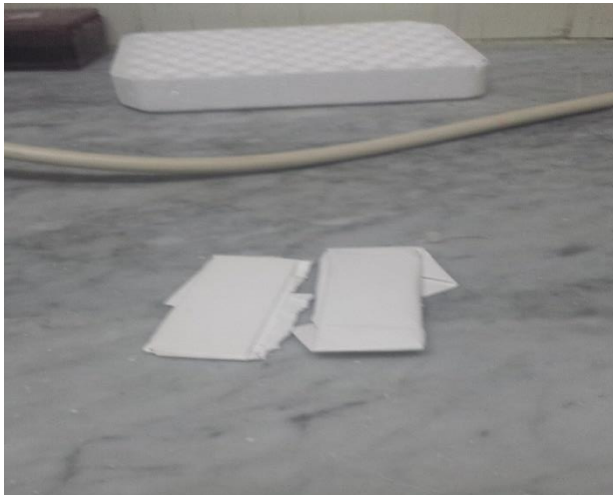


Fig.25 : Lames couvertes de papier wattman (Photo Dif et Edjekouane, 2016).

○ **6^{ème} jour :**

- ✓ Coloration pendant 7 minutes avec du rouge ponceau noir (amidoschwartz) (Fig.26)
- ✓ Décoloration avec bain de solution décolorante (acide acétique)(Fig.27)



Fig.26 : Coloration (rouge ponceau)
(Photo Dif et Edjekouane, 2016).



Fig.27 : Décoloration (acide acétique)
(Photo : Dif et Edjekouane, 2016).

- ✓ La lecture : En observant les arcs de précipitation.

1. Résultats de la sérologie :

Dans un premier temps, nous avons procédé à un contrôle de qualité afin de valider notre test. Ensuite, nous avons tracé une courbe d'étalonnage. Enfin nous avons procédé au calcul des concentrations en antigène mannane.

1.1. Contrôle de qualité (critère de validité) :

Afin de valider le test, les critères suivants devront être respectés :

✓ Valeur de la DO :

$DO R_{4a} > 0,280$; $DO R_{4a} = 0,645$

$DO R_0 < DO R_{4a}$; $DO R_0 = 0,180$

Dans la présente étude, le test pour ces critères est valide.

1.2. Tracé de la courbe d'étalonnage

A partir des résultats obtenus (DO) on a pu tracer la courbe d'étalonnage qui est réalisée avec les cinq points de gamme calibrateurs : 0pg/ml ; 62,5pg/ml ; 125pg/ml ; 250pg/ml ; et 500 pg/ml en reportant sur l'axe vertical (axe des Y) les DO des calibrateurs R3, R4a, R4b, R4c, R4d et en reportant sur l'axe horizontal (axe des X) leurs concentrations respectives en pg/ml. Ainsi on a obtenu le tracé suivant (Fig.28) :

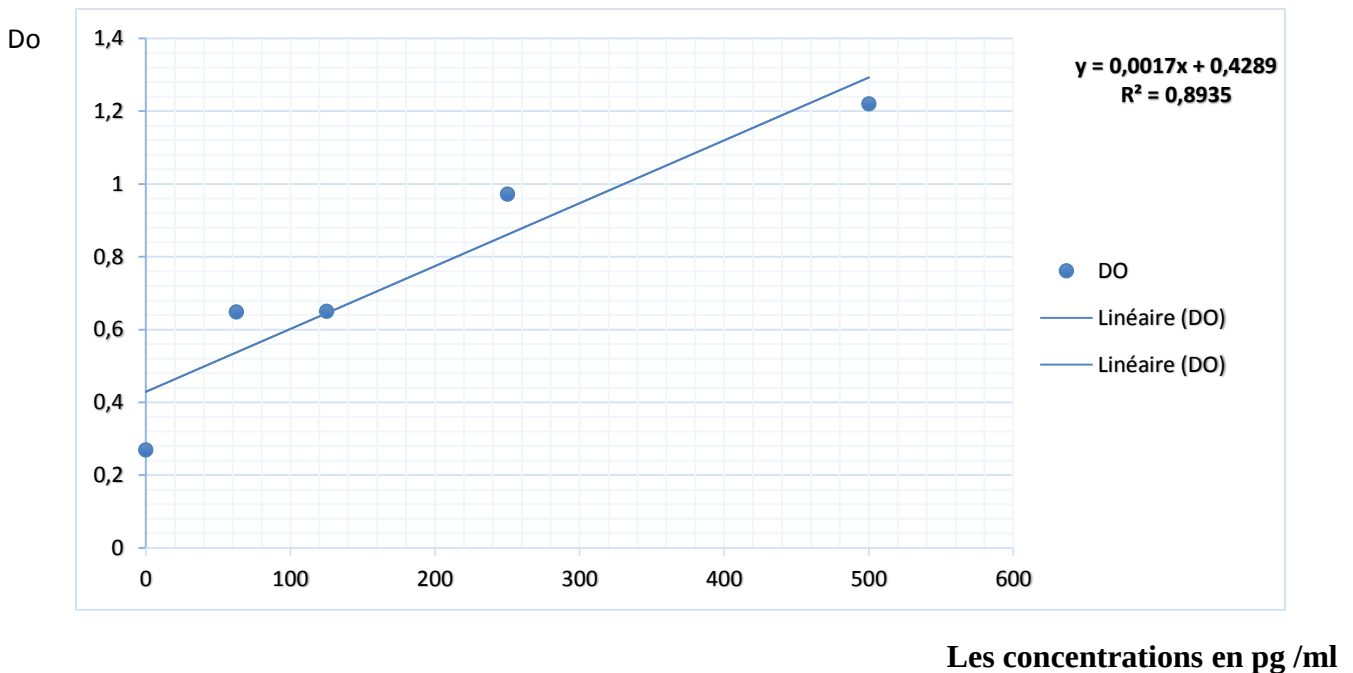


Figure .28 : La courbe d'étalonnage

1.3. Calcul des concentrations en antigène mannane :

A partir de la courbe tracée (**Fig. 28**), on déterminera pour chaque échantillon testé, la concentration en mannane, exprimée en pg/ml. Cette dernière est calculée par la formule suivante :

La concentration pg/ml = DO mesuré/a (a=0,0017, c'est le facteur de corrélation obtenu à partir de la courbe au-dessus) ; le **tableau I** suivant résume les concentrations calculées :

Tableau I : Calcul des concentrations des échantillons en mannane en pg /ml

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	130,58	232,94	180	140	151,76	109,41	151,17	231,76	224,11	234,70	808,82
B	CAL500	100,58	142,35	137,64	120,58	201,17	180,58	193,52	198,23	645,29	557,64	639,41
C	CAL250	171,17	79,41	110,58	100,58	114,70	100	180	155,88	105,29	124,70	391,17
D	CAL125	121,17	109,41	66,47	112,35	120	137,05	124,11	84,11	130,52	111,16	437,05
E	CAL62.5	220,5	304,11	196,47	286,47	194,11	230	280	120,58	301,76	110	41,76
F	CAL0	97,05	91,17	95,29	112,35	103,52	92,35	124,11	125,88	198,23	204,11	130,58
G	CN	123,52	87,64	414,11	15,88	415,88	336,47	118,23	380	174,11	217,05	100,58
H	41.76	95,29	62,94	77,64	1,76	410	104,40	98,23	122,94	167,64	264,70	171,17

L'examen du **tableau I** permet de noter que :

- les échantillons dont les concentrations sont inférieures à 62,5 pg/ml sont considérés comme négatifs, pour la présence de l'antigène mannane.
- les échantillons dont les concentrations sont comprises entre 62,5 pg/ml et 125pg/ml sont considérés comme intermédiaires pour la présence de l'antigène mannane.
- les échantillons dont les concentrations sont égales ou supérieures à 125pg/ml sont considérés comme positifs pour la présence de l'antigène mannane.

1.4. Répartition des échantillons selon les catégories (négatifs, intermédiaire, positifs)

La répartition des fréquences des cas de candidoses profondes selon les catégories est consignée dans le **tableau II** et la **figure 29**.

Tableau II : Fréquences des cas selon les catégories

Catégories	Effectifs	Fréquences
Cas positifs	44	49,43%
Cas intermédiaires	41	46,06%
Cas négatifs	4	4,49%
total	89	100%

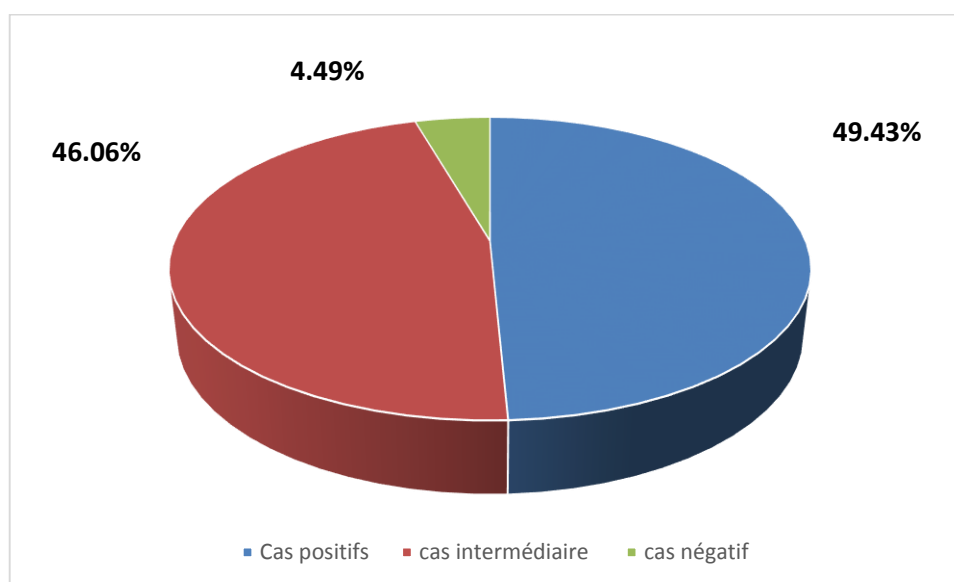


Fig. 29 : Fréquences de cas selon les catégories

L'examen du **tableau II** et de la **figure 29** permettent de constater que sur les 89 échantillons de sérums des malades, qui sont présentés par 48 hommes et 41 femmes,

l'antigénémie n'a été prouvée positive que chez 44 malades, soit une fréquence de 49,43 %/. La catégorie des intermédiaires est représentée par une fréquence de 46,06 % et celle des négatifs par une fréquence de 4,49%.

1.5. Répartition de la fréquence de la candidose invasive selon le sexe :

Parmi les cas positifs répertoriés, la répartition des candidoses profondes selon le sexe est représentée dans le **tableau III** et la **figure 30**.

Tableau III : Répartition de la fréquence des candidoses profondes selon le sexe :

Sexe	Nombre	Fréquence des candidoses profondes
Féminin	18	40,9%
Masculin	26	59,09%
Total	44	100%

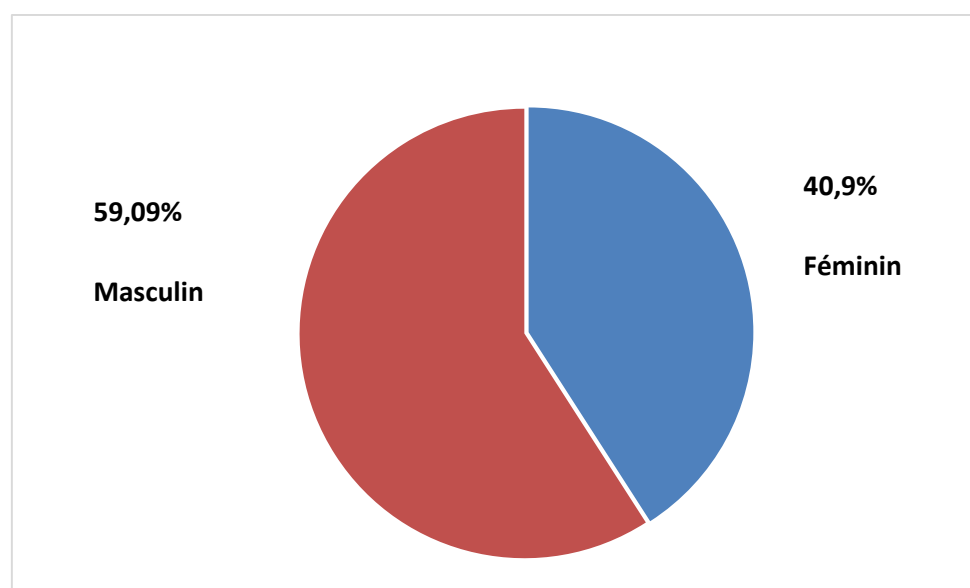


Figure .30 : Fréquences des cas de candidoses profondes selon le sexe

L'examen du **tableau III** et de la **figure 30** permettent de constater que les hommes sont les plus atteints par la candidose invasive avec une fréquence de 59,09% mais qui touche aussi les femmes avec une fréquence de 40,9%.

1.6. Répartition des patients atteints de candidose invasive selon les tranches d'âges

La répartition des patients atteints de candidose invasive selon les tranches d'âges est représentée dans le **tableau IV** et la **figure 31**.

Tableau IV : Répartition des patients atteints de candidose invasive selon les tranches d'âges :

Tranches d'âges	Effectifs	Fréquences
10-19 ans	8	18,18%
20-29	7	15,90%
30-39	9	20,45%
40-49	11	25%
50-59	2	4,54%
60-69	3	6,81%
70-79	2	4,54%
80-89	2	4,54%
Total	44	100%

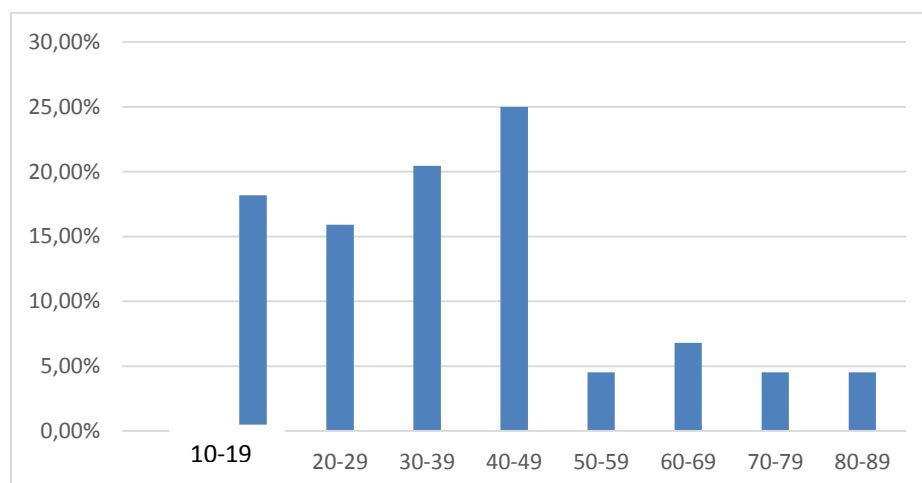


Fig .31 : Fréquences de cas atteints de candidose invasive selon les tranches d'âges

L'examen du tableau IV et de la **figure 31** permettent de constater que la tranche d'âge 40-49 ans, est la plus touchée par la candidose invasive, soit une fréquence de 25%. Elle est suivie par la tranche d'âge entre 30 et 39 ans avec une fréquence de 20,45%.

1.7 : Répartition des patients atteints de candidose invasive selon les services d'admission :

La répartition des patients atteints de candidose invasive au CHU de Tizi Ouzou selon les services d'admission est représentée dans le **tableau V** et la **figure 32**.

Tableau V : Répartition des patients atteints de candidose invasive selon les services d'admission

Services d'admission	Nombre total	Nombre de cas positifs	Fréquence (%)
Hématologie adulte	62	31	70,46 %
Hématologie pédiatrique	9	5	11,36 %
Réanimation médicale	10	4	9,09 %
Réanimation chirurgicale	8	4	9,09 %
Totaux	89	44	100%

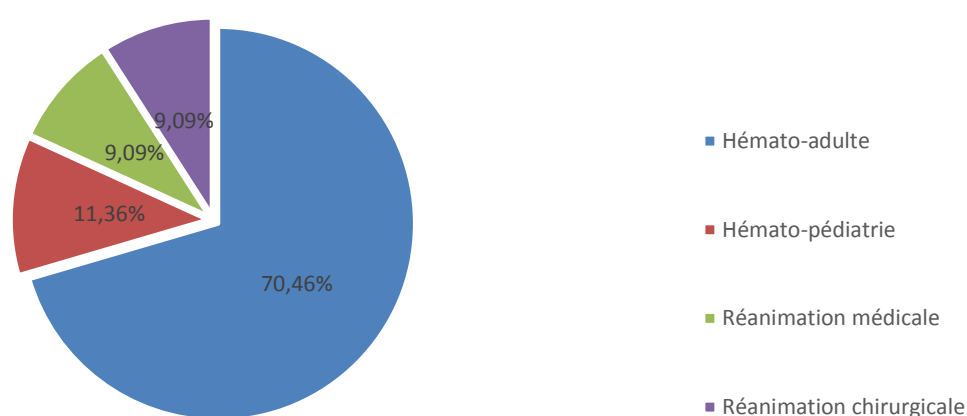


Fig .32 : Fréquence des cas de candidose invasive au CHU de Tizi Ouzou selon les services d'admission.

L'examen du **tableau V** et de la **figure 32** permettent de constater que le service d'hématologie adulte présente l'effectif le plus élevé avec une fréquence de 70,46%, vient après le service d'hématologie pédiatrique avec une fréquence de 11,36%. Tandis que les

services de réanimation médicale et de réanimation chirurgicale présentent une fréquence égale avec 9,09%. Ceci est dû à l'effectif restreint de notre collecte de sérums conditionné au nombre de cupules de la microplaque (89 tests) et à la période de notre étude.

1.8. Répartition des cas de candidose invasive en fonction de quelques facteurs de risques

Suite aux difficultés d'accès aux dossiers des malades et la non disponibilité de certains dossiers, nous n'avons pu analyser que quelques dossiers cliniques des malades (18 patients) surtout ceux du service d'hématologie pour examiner les facteurs de risques.

1.8.1. Répartition des cas de candidose invasive selon les signes cliniques :

La répartition des cas de candidose invasive au CHU de Tizi Ouzou selon leurs signes cliniques est consignée dans le **tableau VI**.

Tableau VI : Fréquence des cas de candidose invasive au CHU de Tizi Ouzou selon leurs signes cliniques

Signes cliniques	Nombre de cas	Fréquence
Fièvre	14	77,7%
Séjour > 7jour	18	100%

L'examen du **tableau VI** permet de constater que la majorité des malades ont présenté un état fébrile dépassant 38°C, soit une fréquence de 77,7%. En outre, ils ont tous séjourné à l'hôpital plus d'une semaine.

1.8.2. La neutropénie prolongée :

L'effectif des malades neutropéniques parmi les cas de candidose invasive au CHU de Tizi Ouzou est consigné dans le **tableau VII**.

Tableau VII : Effectifs des malades neutropéniques :

Facteur de risque	Effectif	Fréquences %
Neutropénie < 500mm ³	16	88,88%
Non-neutropénie	2	11.11%

On constate d'après le **tableau VII** que la majorité des malades sont neutropéniques avec une fréquence de 88,88%. Cet effectif est consécutif à leur pathologie sévère : la leucémie et les lymphomes. La neutropénie est un facteur de risque majeur identifié surtout après une chimiothérapie (utilisation de drogues cytotoxiques) ou un traitement immunosuppresseur des malades.

1.8.3. L'antibiothérapie et antifongique :

La fréquence des cas de candidose invasive au CHU de Tizi Ouzou selon les traitements reçus figure dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII : Fréquences des cas selon le traitement en cours :

Traitement reçu	Effectif	Fréquences %
Antibiotique	10	71,43%
Antifongique	4	28,57%
Total	14	100%

L'examen du **tableau VIII** permet de noter que la majorité des patients admis pour candidose invasive au CHU de Tizi Ouzou, soit 71,43% des cas sont traités par des antibiotiques, tandis que 28,57% ont pris un traitement antifongique. Une antibiothérapie probaliste à large spectre est souvent prescrite chez les malades neutropéniques, et un traitement antifongique préconisé chez 28,57% de malades.

1.8.4. Répartition des cas de candidose invasive selon le résultat de l'hémoculture et des espèces en cause :

La répartition des cas de candidose invasive à *Candida spp* Selon le résultat de l'hémoculture est répertoriée dans le **tableau IX**.

Tableau IX. Résultats de l'hémoculture

	Nombre de cas	Fréquence
Hémoculture positive à <i>Candida spp</i>	09	50%
Hémoculture négative	09	50%

L'examen du **tableau IX** permet de constater que les prélèvements pour hémoculture ont été trouvés positifs chez 9 malades sur 18, dont un malade de la réanimation a séjourné une durée de 120 jours et a présenté une hémoculture positif à *Candida spp* et était sous cathéter veineux, drainé et sous-alimentation parentérale.

1.9. Etude des cas de mortalité en rapport avec la candidose invasive :

Le **tableau X** suivant présente les taux de mortalité en rapport avec la candidose invasive dans les divers services d'admission du CHU de Tizi Ouzou.

Tableau X : Taux de mortalité en rapport avec la candidose invasive dans les divers services d'admission

Sérvices d'admission	Nombre de cas	Fréquence %
Hématologie	4	22,22
Réanimation médicale	1	5,55

L'examen du **tableau X** permet de constater qu'il y a eu 5 décès, 1décès appartient au service de la réanimation médicale et 4 décès au service d'hématologie avec un taux de mortalité égal à 27,77% (n = 18) qui est du à l'état grave des malades.

2. Résultats de l'immunoélectrophorèse :

D'après notre résultat de la technique de recherche d'anticorps par l'IEP, on a obtenu l'image suivante qui montre la positivité du test par la présence d'arcs sur la lame (**Fig.33**).



Fig .33 : Recherche d'anticorps par l'IEP : Présence d'arcs sur la lame

(Photo Dif et Edjekouane, 2016).

La recherche d'antigènes candidosiques chez les malades à haut risque hospitalisés au niveau du CHU de Tizi -Ouzou a été effectuée au niveau du laboratoire de parasitologie, et malgré l'échantillon restreint de malades et le manque de réactifs ainsi que la période d'étude limitée, nous avons espéré au cours de notre pratique avoir un nombre assez important de cas de candidose invasive afin de déterminer la valeur de l'antigénémie comme marqueur prédictif.

L'antigénémie dans notre étude est positive chez 44 malades (49,43%) dont 18 sur 44 présentant un dossier clinique évoquant une candidose invasive, intermédiaire dans 46,06% et négative dans 4,49%.

Un résultat intermédiaire pourra être confirmé sur un nouvel échantillon prélevé chez le patient dans les semaines suivant la date du prélèvement ayant donné une concentration intermédiaire.

La négativité de l'antigène est confrontée au résultat de la recherche des anticorps anti-mannane. Même en cas de candidose invasive, l'antigène est difficilement retrouvé chez les patients positifs en anticorps anti-mannane (**Anonyme, 2011**).

Les résultats de notre étude sont comparés à une étude menée au CHU de Nantes par **Ibarra(2002)** durant la période allant du 25/10/2001 au 17/04/2002 sur 105 malades hospitalisés au service de la réanimation médicale. Les effectifs des deux études sont très variables, ils sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau XI : Comparaison des taux des cas positifs et intermédiaires de candidose invasive

	Présente étude	Etude au CHU de Nantes
Effectif global de l'étude	89	105
Effectif (Taux) positif	49,46%	31%
Effectif (Taux) intermédiaire	46,06%	12,8
Effectif négatif	4,49%	50,8%

Ces résultats ne concordent pas, et cela est dû à la réalisation d'une seule technique d'ELISA pour nos échantillons (majorité issu du service de l'hématologie) par contre **Ibarra (2002)** a pratiqué au rythme d'une fois par semaine les examens biologiques et sérologiques (concernant le service de réanimation médicale).

1. Importance du sexe et de l'âge :

Selon notre étude et celle d'**Ibarra (2002)**, il n'y a pas de prédominance du sexe statiquement significative (ceci est confirmé par le test de Khi-2 au risque de 0,05) ainsi que pour l'étude.

L'âge semble être un facteur important, il est relevé dans chaque étude.

Dans la présente étude, la tranche d'âge la plus atteinte est celle comprise entre 40 et 49 ans et à Nantes la moyenne d'âge des patients était de 55 ans (extrêmes : 16 et 88 ans) et la durée moyenne du séjour est de 23 jours (extrêmes : 7 et 114).

D'après ces résultats on constate que la candidose invasive touche les deux sexes et toutes les tranches d'âge et surtout entre 40 et 55 ans, cela s'explique par l'état clinique du malade et de sa gravité.

2. Répartition de la candidose invasive selon les services d'admission :

Selon la présente étude les malades du service d'hématologie sont les plus atteints avec une fréquence de 70,46 % cela corrobore avec l'étude multicentrique menée entre 1992 et 1994 dans 30 hôpitaux européens, 64% des candidémies survenant chez des patients atteints d'un cancer concernent les hémopathies (**Chabasse et al., 2006**).

Les candidoses invasives restent rares comme le montre plusieurs études prospectives de **Lepper et al. (2001)**. En effet, sur 2054 malades hospitalisés en réanimation chirurgicale sur une période de 3 ans ne trouvent que 8 cas de candidose. D'après **Petri et al. (1997)**, dans une étude prospective sur 435 patients non neutropéniques hospitalisés dans le service de soins intensifs pendant au moins 10 jours n'observent que 8 cas de candidose invasive.

3. Importance des facteurs de risques pour la candidose invasive :

D'après la présente étude, la neutropénie chez les patients immunodéprimés, notamment dans les services d'hématologie, présentent un risque élevé de développer une candidose invasive surtout lorsque elle est profonde ($\text{PNN} < 500 \text{ mm}^3$) et prolongé (> 7 jours).

D'après **Chabasse et al. (2006)**, les candidoses invasives apparaissent rares et ne surviennent en particulier que chez des malades ayant des facteurs de risques dont fait partie la colonisation.

D'après **Pierequin (2010)**, en réanimation, les candidémies sont des infections acquises tardivement. L'intervalle moyen entre l'admission dans le service et la survenue de la candidose est de 19 ± 2 jours. La reconnaissance des facteurs de risque et du profil des malades les plus fortement exposés au risque d'infection fongiques systémiques est l'un des moyens d'appréhender le diagnostic.

Une étude réalisée en 2004 dans 7 CHU et 10 autres centres hospitaliers du centre-ouest de la France par **Talarmin (2009)**, a montré que les principaux facteurs favorisant étaient l'antibiothérapie à large spectre (78,5 %), un cancer ou une hémopathie (43,3%), une intervention chirurgicale récente (42,5%), la nutrition parentérale totale (37,6%). Ces résultats concordent partiellement avec ceux de la présente étude.

4. Résultats de l'hémocultures et candidose invasive :

Le diagnostic est posé avec certitude quand les hémocultures sont positives, le consensus étant que toute hémoculture positive doit être prise en compte et qu'un traitement doit être institué. Mais les hémocultures, en général ne sont positives que dans 40% des cas (**Ibarra, 2002**).

Dans la présente étude la positivité des hémocultures est dans 50% des cas par contre la fréquence des espèces isolées n'est pas révélée. Dans l'étude de **Ibarra (2002)**, sur l'ensemble des prélèvements périphériques positifs, *C.albicans* avec une fréquence de 67%, est la levure la plus isolée suivie par *C.glabrata* (12%), *C.parapsilosis* (8%), *C.tropicalis* (57%), *C.krusei* (2%), *C.keyfer* (2%) et les autres levures (2%).

Par ailleurs une biopsie d'organe positive confirme avec certitude le diagnostic des candidoses invasives. Cependant, il s'agit d'un geste agressif mettant en jeu le pronostic vital des sujets à haut risque. L'hémoculture est facile à réaliser mais elle manque de sensibilité pour des raisons qui restent obscures et prend plusieurs jours pour se positiver.

5. Etude de la mortalité :

Pendant cette dernière décennie, les candidoses systémiques sont devenues une cause importante de morbidité et de mortalité d'après **Sendid (2002)**. Dans la présente étude le taux de mortalité est de 27%.

Selon **Ibarra (2002)**, l'étude de la mortalité ne montre pas de différence significative entre les malades mais celle-ci est due certainement à la gravité de l'état clinique.

Selon **Anane et al. (2002)**, le taux de mortalité attribuée aux candidoses systémiques est de 40 à 60%. La difficulté de diagnostic rapide et spécifique est la raison principale de ce taux élevé de mortalité.

6. La sensibilité et la spécificité de la sérologie :

L'identification rapide de l'espèce est extrêmement importante pour la prise en charge des candidoses systémiques, elle permet d'instaurer un traitement adapté le plus rapidement possible.

Le choix de la méthode d'identification se fait selon sa simplicité, sa rapidité et sa disponibilité.

En effet, la recherche d'antigène mannane ; qui est une composante majeure de la paroi candidosique est fortement immunogène, surtout pour *Candida albicans* et la plus appropriée, elle a une spécificité (98%) selon le nombre de sérums testés.

L'étude de **Sendid (2002)**, a montré que la sensibilité de la recherche de l'antigène mannane est de 40 % si plusieurs sérums ont été testés et de 11% si un seul sérum a été testé. Cela est dû au caractère fugace de l'antigénémie. En associant la recherche de l'antigène mannane et celle des anticorps antimannane on trouve une sensibilité à 80% et une spécificité à 93%, ce qui semble aussi bon pour le dépistage de candidose invasive.

L'étude effectuée par **Poulain (1999)** qui a comparé la cinétique des anticorps et des antigènes, chez les non neutropéniques ; les anticorps apparaissent les premiers suivis par les antigènes puis par la positivité de l'hémoculture, alors que chez les neutropéniques, les antigènes apparaissent les premiers suivis des anticorps puis de la positivité de l'hémoculture.

Candida spp représente la quatrième cause de septicémie est la première cause d'infections fongiques invasives chez les patients hospitalisés. Les candidoses superficielles sont très fréquentes, en majorité bénignes, par contre les candidoses systémiques sont sévères mettant en jeux le pronostic vital.

Les candidoses qu'elles soient superficielles ou profondes, ont une fréquence en progression. Cette augmentation trouve son origine dans la multiplication des circonstances ou des facteurs d'immunodépression.

Au terme de ce travail, nous pouvons dire que d'après notre étude pratique réalisée au niveau du laboratoire de parasitologie du CHU de Tizi Ouzou, on a constaté que la candidose invasive affecte en grande partie des patients hospitalisés surtout ceux présentant un système immunitaire défaillant ou ayant subi une intervention chirurgicale ; et cette pathologie touche le plus les hommes mais aussi les femmes et les enfants et toutes les tranches d'âges en particulier la tranche entre 40 et 49 ans.

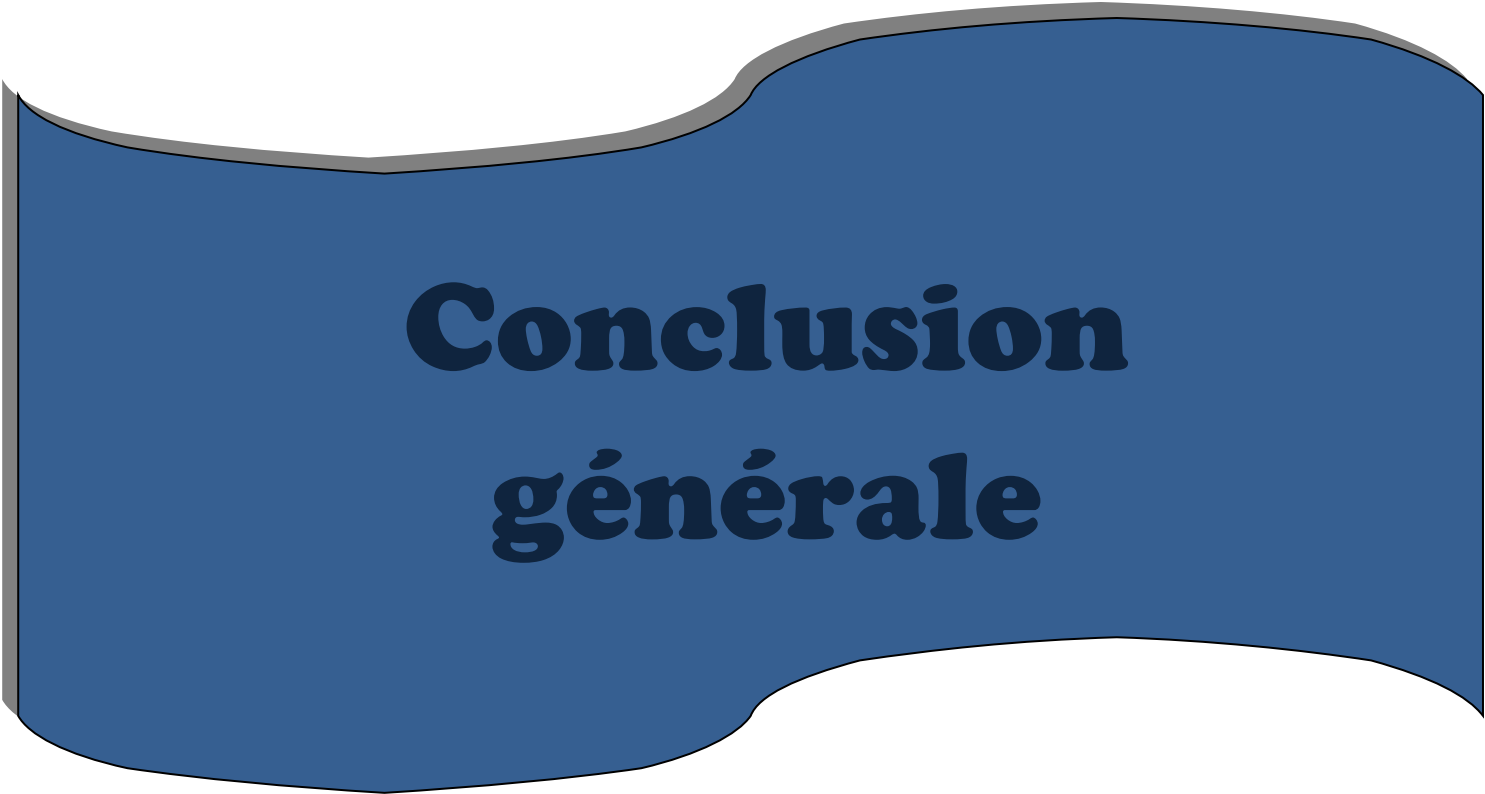
La détection d'antigène circulant au cours des maladies fongiques offre de nouvelles possibilités de diagnostic rapide en particulier chez l'hôte immunodéprimé. Les polysaccharides de la paroi cellulaire de *Candida* circule dans le sérum de patients atteints de candidoses invasives et peut être rapidement détecté par des méthodes immunoenzymatiques. Cependant il est possible grâce à cette méthode d'envisager un diagnostic et un traitement précoce permettant d'améliorer le pronostic chez les patients atteint de mycoses opportunistes et de réduire la morbidité et la mortalité.

Comme recommandation, nous souhaitons uniformiser la technique ELISA pour la recherche d'antigènes candidosiques dans tous les secteurs sanitaires du territoire national pour mieux dépister la candidose invasive.

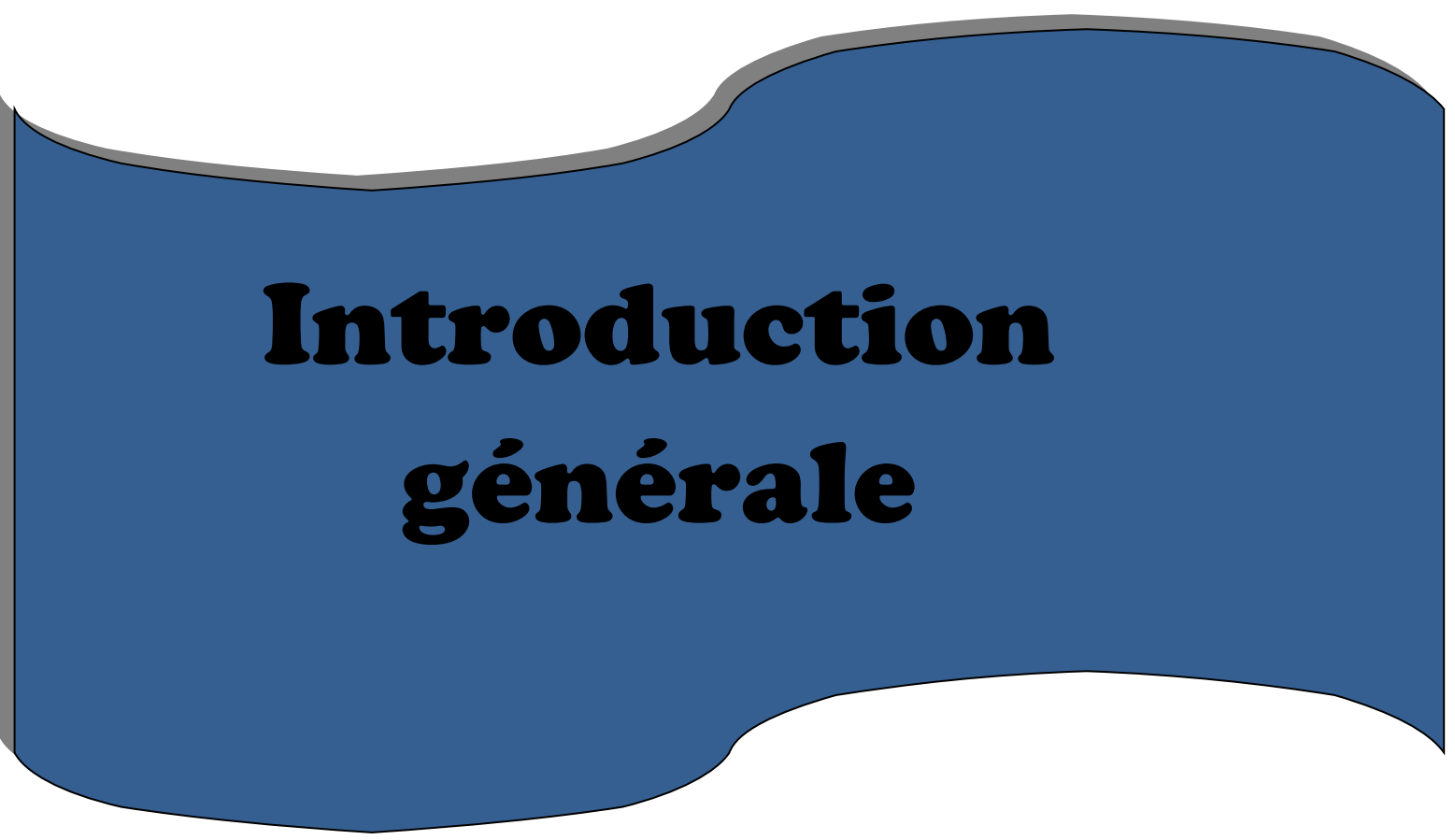


Chapitre I :

**Rappels bibliographiques
sur les candidoses**



Conclusion générale



Introduction générale



Chapitre IV :

Discussion



Chapitre III :

Résultats



Chapitre II :

Matériels et

méthodes

- Annane S., Khalfalalh F., (2007). Diagnostic biologique des candidoses systémiques : Difficultés et perspectives. *Pathol. biol.*, 55 : 262-272.
- Anonyme, (2003) : Infection cutanéomuqueuse à *Candida albicans*. *Ann. Dermatol. Venereol.* 30 : 3853-3858,
- Anonyme, (2011): Detection of the mannan antigen of candida human serum or plasma by immunoenzymatic assay: Plateliatm Candida Ag Plus. Bio-Rad., Marne-la-coquette, 113p.
- Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL, 2014). 22 : 1-15 (411).
- Beck Sague C., Jarvis W.R., (1993): Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National nosocomial infections surveillance system. *J. infect. Dis.*, 167: 1247-1251.
- Berthet J. (2007) : Dictionnaire de biologie.
- (Bouchara, 2010).
- Candolfi E., (2013). *Parasitologie-mycologie*. Université de Strasbourg, institut de parasitologie et de pathologie tropicale, pp 79-81
- Chabasse D., Guiguen CL., Contet N., Audonnet A., (1999). *Mycologie médicale*. Edition Masson, Paris, pp 148-161.
- Chabasse D., Raymond R., Marot A., Pihet M., (2006).. *Candida pathogènes*. Edition Lavoisier, Paris, pp : 42-61.
- Develoux M., (2005) : Candidoses et levures diverses, EMC-Maladies infectieuses, 2 pp : 119-139.

Références bibliographiques

- Ibarra A., (2002) : *Surveillance mycologique des malades à haut risque de candidose invasive dans le service de la réanimation médicale : Place de l'antigénémie (platelia Candida Ag)* .Thèse de doctorat en pharmacie , univ.de Nantes,
- Kettani A.,(2006). Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation. *Journal de mycologie médicale*. 16, pp :16-25.
- Lepper P.M., Wiedeck H. et Geldner G., (2001). Value of candida antigen and antibody assays for the diagnosis of invasive candidosis in surgical intensive care patients. *Intensive care med.*, 27(5):916-920
- Makni F., (2010). Evolution de la flore des levures isolées au CHU de Sfax, *.Journal de mycologie médicale*, 20, pp : 42-47.
- Piheta M., (2013). Diagnostic biologique des candidoses. *Revue Francophone des Laboratoires*. N° 450-547-661.
- Petri M.G., Konig J., Moecke H.P., et Gramm H.J. (1997)-Epidemiology of invasive mycosis in ICU patients: a prospective multicenter study in 435 non-neutropenic patients. *Invasive care med.*, 23(3):317-25
- Poulain D., (1999) .New enzyme immune essays for sensitive detection for circulating *candida albicans* mannane and antimannane antibodies. *Clin. Microbial.* 37(5):1510-7.
- Sendid B., (2003). Contribution of the platelia candida specific antibody and antigen tests to early diagnostic of systemic candida .J .clin microbial. 41(10):4551-4558.
- Taieb F., (2010). Prise en charge des infections systémiques à candida spp. *Revue Médicale Interne*, doi : 10.1016/J.REVMED.2010.08.019.

- Talamarin J. (2009) : Epidémiologie des candidemie.étude observationnelle prospective d'un an dans l'ouest de la France, *Med. Mal. Infect.* ,39 :877-85.
- TalbertM.,(2008):*Traitement des candidoses. Pharmacie Cliniqueet thérapeutique.* Edition third. : N°7, PP: 1093-1123.
- Viscoli C., (1999). Candidemia in cancer patients: a prospective multicenter surveillance study by the invasive fungal infection group(IFIG) of European organization for research and treatment of cancer (EORTC).*clin.infect. Dis.*, 28: 1071-1079.

-

Sites web

- <http://www.infectio-lille.com/diaporamas/2011/antifongiques-duacai2011-Rammaert.pdf>
- <http://www.examiner.com/science-news-in-national/vaccination-with-baker-s-yeast-protects-against-fatal-fungal-aspergillosis>.
- <http://www.sciencesetavenir.fr/actualite/sante/20110810.OBS8350/la-levure-de-boulangier-au-service-des-medecins.html>
- http://www.maxisciences.com/levure/de-la-levure-de-boulangier-pour-lutter-contre-les-infections-fongiques_art16296.html
- <http://biohygieniste.leforum.eu/t83-ARTICLE-La-prevention-du-risque-d-Aspergillose-et-le-role-de-la-cellule-aspergillaire.htm>
- <http://urgencetaysir.Over-blog.com/article-candidemie-et-candidose-generalisee-74463957.html>
- <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tmi.12577/abstract>

Références bibliographiques

- <http://docplayer.fr/6356643-les-candidoses-et-les-levures-diverses-marie-machouart-service-de-parasitologie-mycologie-chu-brabois.html>
- <http://www.wikipedia.com>.
- <http://www.mycose.infosanteonline.com>
- <http://www.revuedesante.com>

Recherche d'antigènes candidosiques chez les patients à haut risques au niveau du CHU de Tizi Ouzou

Mots clés : Candidose invasive, *Candida albicans*, antigène mannane, C.H.U. de Tizi ousou.

RESUME :

Candida sp représente la quatrième cause de septicémie est la première cause d'infections fongiques invasives chez les patients hospitalisés. Le développement d'une candidose invasive est une complication hospitalière redoutée en raison de sa mortalité élevée.

La présente étude a été menée pour rechercher les antigènes candidosiques circulants chez les malades à haut risques hospitalisés au niveau du centre hospitalo-universitaire Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou. L'étude a concerné 89 échantillons prélevés (sérums) et testés par la techniques ELISA (platelia *Candida Ag*).

Les résultats de cette étude montrent une fréquence de cas positifs à 44,43%, une prédominance chez l'homme avec 50,09%. Elle touche toutes les tranches d'âge surtout entre 40-49 ans avec une fréquence de 25%.

L'antigène mannane permet la détection de la maladie et d'envisager un diagnostic et un traitement précoce permettant d'améliorer le pronostic vital des patients atteints de mycoses opportunistes.

Look for candidaires antigens at the patients in top risks in the CHU of Tizi Ouzou

Keywords: invasive Candidiasis, *Candida albicans*, antigen mannane, C.H.U. of Tizi ousou.

SUMMARY:

Candida sp. represents the fourth cause of blood-poisoning and the first cause of invasive fungal infections at the hospitalized patients. The development of an invasive candidiasis is a hospitable complication dreaded because of its high mortality.

The present study was led to look for antigens circulating candidaires to the sick to top risks hospitalized at the level of the CHU of Tizi-Ouzou. The study concerned 89 taken samples (serums) and tested by techniques ELISA (platelia *Candida Ag*). The results of this study show a frequency of positive cases in 44.43 %, an ascendancy in man with 50.09 %. It affects all the age brackets especially between 40-49 years with a 25 % frequency.

The antigen mannane allows the detection of the disease and to envisage a diagnosis and an early treatment allowing to improve the prognosis for survival of the patients affected by opportunist mycoses.