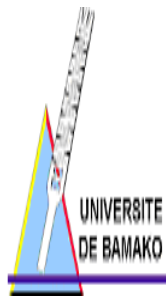


Ministère des Enseignements

Supérieurs et de la Recherche  
Scientifique



République du Mali  
**Un Peuple – Un But – Une Foi**

# **FACULTÉ DE MÉDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO – STOMATOLOGIE**

Année universitaire 2009- 2010

Thèse N°228/P

## **THESE DIAGNOSTIC DE LA CRYPTOCOCCOSE NEURO- MENINGEE CHEZ LES PATIENTS VIH/SIDA A BAMAKO, MALI**

Présentée et soutenue publiquement le 13 / 03 / 2010 devant la Faculté de  
Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie

Par

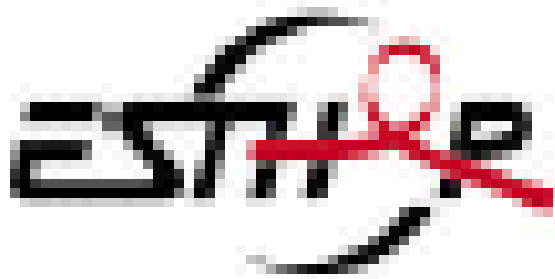
**M. Abdoul Karim SANGARE**

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine  
(Diplôme d'Etat)

JURY

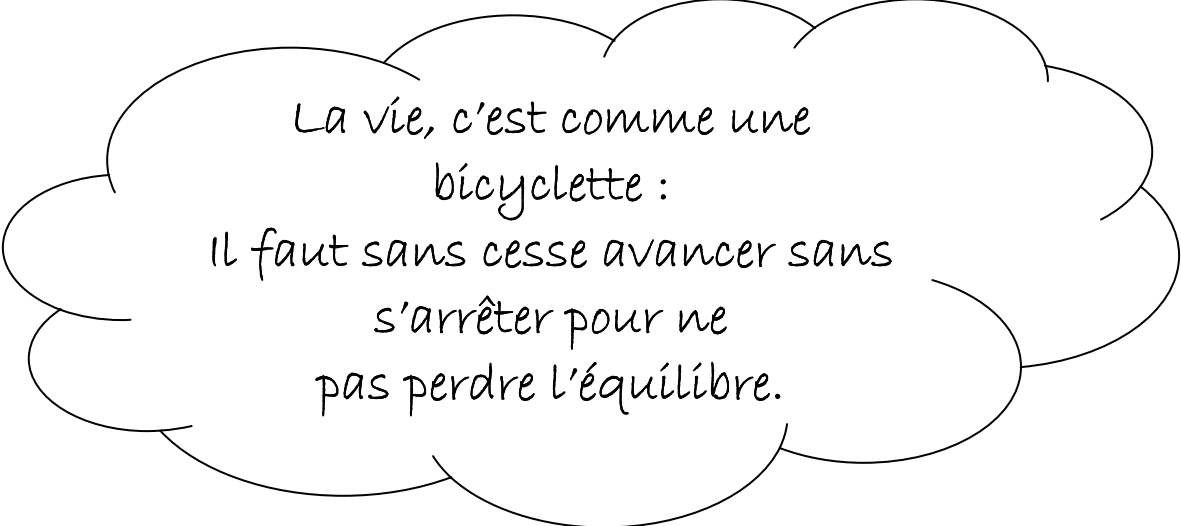
Président : Pr. Ag. Daouda K. MINTA  
Membre : Pr. Ag. Amagana DOLO  
Co-directeurs : Dr. Mouctar DIALLO  
Dr. Boubacar TRAORE  
Directeur de thèse : Pr. Ogobara K. DOUMBO

*CETTE THÈSE A BÉNÉFICIÉ  
DE L'APPUI FINANCIER  
DU PROGRAMME ESTHER*



***[Ensemble pour une solidarité thérapeutique hospitalière en réseau]***





La vie, c'est comme une  
bicyclette :  
Il faut sans cesse avancer sans  
s'arrêter pour ne  
pas perdre l'équilibre.



ALBERT EINSTEIN !!!

**DEDICACES**

**A DIEU**

Tout Puissant, Clément, Miséricordieux, Omnipotent,  
Omniprésent, Omniscient.

**Au Prophète Muhammad**

[Paix et Bénédiction de DIEU sur Lui]

**Je dédie ce travail :**

**- A mon Père : Mamadou SANGARE**

Ce travail est le tien car c'est toi qui nous a conduit à l'école depuis le premier jour et veillé sur notre éducation pendant toutes nos études.

Les mots n'exprimeront pas assez tout ce que j'éprouve en ce jour aussi important de ma vie. Puisse ce travail représenter pour toi un motif de fierté et de satisfaction.

Que l'Eternel t'accorde santé et longue vie afin que tu puisses goûter aux fruits de ton labeur, Amen !

**- A ma Mère : Assitan DAGNON**

Ton souci majeur a toujours été la réussite et le bonheur de tes enfants pour lesquels, tu as accepté de faire des sacrifices sans limite. Ce travail est le fruit de tous tes sacrifices consentis pour moi. Merci maman,

Que le Tout Puissant t'accorde force et longue vie pour que tu puisses continuer ta mission, Amen !

**- A mon Oncle : Youssouf SANGARE**

Tonton les mots me manquent pour exprimer toute ma reconnaissance à ton égard.

Tes conseils techniques ont été pour moi comme un phare qui a illuminé mon chemin le long du cursus universitaire. Je formule pour toi, et toute ta famille et tous ceux qui te sont chers mes vœux de longévité et de bonne santé.

Que Dieu te bénisse, Amen !

**- A mon Oncle: Bakary DIABATE**

Saches que tu détiens le flambeau de ce travail.

Malgré tes multiples occupations tu as toujours été là à mes cotés, pour me diriger sur le bon chemin. Tes nombreux conseils et la confiance placée en moi m'ont aidé à surmonter les obstacles le courant de toute ma carrière.

Que Dieu te donne la longévité et la force d'encadrer mes frères.

**- A mes Tantes : Aminata MARIKO et Fatoumata SANGARE**

Chères Tantes, c'est le lieu et le moment de vous remercier pour tous les soutiens que vous m'aviez accordé.

Vous n'aviez ménagé aucun effort pour la réalisation de ce travail.

Merci infiniment ; Que Dieu vous accorde longue vie et heureux ménage, Amen !

## REMERCIEMENTS

### **- A mon Oncle : Oumar SANGARE**

Permet- moi de te remercier infiniment pour l'aide que tu nous as accordé depuis l'école primaire et secondaire. Que le bon Dieu t'accorde aussi son aide et à toute la famille, Amen !

### **- A mon Oncle : Souleymane DAGNON**

Tu as été pour moi un oncle très admirable, par ta simplicité, ta bonté, et ta disponibilité. Que Dieu t'accorde longue vie et beaucoup de santé, Amen !

### **- A mon Oncle : Daouda SANGARE**

Tonton, le jour est enfin arrivé pour reconnaître et témoigner les nombreuses fois que tu m'as donné des livres et cahiers quand je fréquentais encore les classes de médecine. Ces fournitures m'ont permis d'acquérir une base solide et de franchir les obstacles. Je souhaite à ta famille bonheur et bienveillance.

**- A mes grands-parents :** Feu N'Tio SANGARE, feu Aminata SANGARE, feu El hadj Dougoutigui DAGNON. Que le paradis soit votre demeure.

A Sacko SAMAKE, Massaou, et Dha. Que Dieu vous accorde une santé de fer.

**- A mes Tantes :** Mariam SANGARE, Assetou SANGARE, Kadiatou SANGARE, Oumou SANGARE. feu Awa DAGNON, feu Mariam DAGNON (mamouni).

### **- A mes frères et cousins :**

Moussa SANGARE (Baba), Adama SANGARE, Souleymane (Tonton), Boubacar, Idrissa dit Bazan, Ladjji DIABATE, Zou DAGNON, Bouramablé, Mohamed, Pitio TRAORE, Noumoukè, Youssouf, Binkè, et Moussa dit le vieux. Toute ma profonde sympathie à votre égard.

**- A mes sœurs et cousines :** Assetou, Tata, Awa, La vieille, Balla, Fatim, Sali, Bakadia, Fifi, Batos, Setou, Mami, Bijou, Massan, Safi, Adam, Bambi.

Que Dieu vous accorde de bons maris et d'être de bonnes mères dans vos foyers respectifs, Amen !

- **A mes nièces et neveux** : Qui me sont chères, en témoignage de leur affection en mon égard.

- **A tous mes enseignant(e) s du primaire et secondaire.** Merci infiniment.

- **A mes camarades du Lycée Monseigneur Didier De Montclos de Sikasso (LMMS) à la FMPOS** : Dr Abdramane M SANGARE, Dr Adama DEMBELE, Dr Seydou T TRAORE, Dr Abdramane Daba SANOGO, Dr Moussa T TRAORE, Dr Ousmane DEMBELE, Dr Abdoul Wahhab THERA dit Wapa, Dr Daouda k CISSE.

- **A tous les Professeurs responsables de cours** à la FMPOS, pour la qualité de l'enseignement que nous avons reçu d'eux.

- **Aux membres de l'unité Paludisme et grossesse** : Dr Boubacar TRAORE, Dr Kassoum KAYENTAO, Dr DOUMBO Safi NIARE, Dr ONGOIBA Aissata ONGOIBA, Dr DOUMTABA Didier, pour votre entière disponibilité, votre soutien, et votre sympathie. Ce travail est le vôtre. Je vous en suis sincèrement reconnaissant.

- **A mes maîtres et mes aînés**: Pr Abdoulaye DABO, Pr Amagana DOLO, Pr Mahamadou THERA, Dr Abdoulaye DJIMDE, Dr Mamadou DIAKITE, Dr Amed OUATARA, Dr Mahamadou SISSOKO, Dr Mouctar DIALLO, Dr Aldiouma GUINDO, Dr Issaka SAGARA, Mr Ousmane TOURE, Dr Mamadou TEKETE, Dr Drissa COULIBALY, Dr Cheik SANGARE, Mr Mamadou BA, merci pour vos enseignements et vos soutiens.

**Aux** : Dr Amadou NIANGALY, M<sup>lle</sup> Aminatou KONE, Dr Renion SAYE, Dr Seidina DIAKITE, Dr Etienne GUIROU, Dr Souleymane DAMA, Dr Kourané SISSOKO, Dr Boubacar NIARE, Dr Moussa DJIMDE, Dr Nouhoum GUINDO, Mr Zoumana TRAORE, Dr Paul KAMATE, Dr Younouss KONE, Dr Hamidou NIANGALY, Dr Hamidou TRAORE, Dr Abdrahamane TRAORE, Dr Abdoulaye TAPILY, Dr Amadou TAPILY, Dr Nana KODIO, Dr Drissa KONATE, Dr Drissa GUINDO, Dr Golou Togo, Dr Abdramane SALL, Dr Salimata KONATE, Dr Sibiri SISSOKO, Mr Amadou COULIBALY.



- **A mes camarades internes et collègues du labo** : Abdramane BATHILY, Sory I TRAORE, Ousmane COULIBALY, Ahmadou DEMBELE, Ali KODIO, Awa SOUMARE, Yamoussa COULIBALY, Moussa DIAKITE, Nouhoum DIALLO, Binta BARRY, Sidiki KONATE.
- **Aux informaticiens du laboratoire** : Merci pour votre constante disponibilité.
- **Aux chauffeurs et manœuvres du laboratoire du MRTC/DEAP** : Tout mes respects et considérations. Merci pour votre disponibilité et votre courtoisie.
- **A tout (es) mes ami (es)** : merci de vos mots d'encouragement.
- **Patients VIH/SIDA** des 2 sites de prise en charge du VIH/SIDA à Bamako.
- **A tous ceux qui, de près ou de loin**, m'ont soutenu et dont j'aurais oublié de mentionner les noms, les mots me manquent pour vous exprimer toute ma joie, ma reconnaissance et tout mon respect.

### ❖ Remerciements ❖

- **A toute l'équipe du MRTC/DEAP** plus particulièrement au
- **Professeur Ogobara K. DOUMBO** qui n'a ménagé aucun effort pour l'aboutissement de ce travail.

Puisse ce travail représenter pour toi un motif de fierté et de satisfaction.

Que le tout puissant t'accorde santé et longue vie afin que nous puissions continuer à bénéficier de tes conseils si précieux.

### ❖ REMERCIEMENT SPECIAL ❖

## **AUX PARTENAIRES INSTITUTIONNELS**

### **❖ CHU Angers**

Au Professeur Eric Pichard,

Au Professeur Dominique CHABASSE

### **❖ CHU Pitié Salpêtrière**

Au Professeur Marc THELLIER,

A M. Sylvestre BILIGUI,

Merci d'avoir été d'une aide précieuse à travers le Programme ESTHER qui sans leur appui ce travail n'aurait vu le jour.

Profonde gratitude pour la connaissance que vous nous avez léguée.

Aux Patients VIH/SIDA et tous les personnels des 2 sites.

A notre Maître et co-directeur

**Dr Boubacar TRAORE**

**Maître assistant en Parasitologie- Mycologie à la FMPOS.**

**Responsable de l'unité Paludisme et grossesse et du laboratoire d'Immuno-pathologie parasitaire du MRTC.**

Permettez- nous de vous remercier, cher maître, de la confiance que vous avez placée en nous pour faire ce travail.

Nous avons beaucoup admiré vos immenses qualités humaines, sociales et scientifiques tout au long de ce travail. Vous avez cultivé en nous, le sens du travail bien fait.

Votre simplicité, votre disponibilité constante, votre rigueur, votre dynamisme font de vous un maître apprécié de tous.

Veillez accepter le témoignage de notre sincère reconnaissance et profonde gratitude.

A notre Maître et co-directeur

**Dr Mouctar DIALLO**

**Maître assistant en Parasitologie-Mycologie au DEAP de la faculté de Médecine**

**Pharmacie et d'Odontostomatologie du Mali ;**

***Msc, PhD*, Responsable de l'Unité de Diagnostic Parasitaire au MRTC.**

Cher maître, nous avons eu le temps d'apprécier vos qualités scientifiques tout au long de ce travail.

Votre simplicité, votre disponibilité constante, et votre dynamisme font de vous un maître apprécié de tous.

Permettez-nous de vous exprimer notre profonde gratitude et notre grand respect.

A notre Maître Directeur de thèse

**Professeur Ogobara K. DOUMBO**

**Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie du Mali.**

**Directeur du Pole d'Excellence de Recherche sur le paludisme du Malaria Research and Training Center (MRTC).**

**Membre correspondant de l'Académie Nationale de Médecine de France ;**

**Membre Honoraire de la « Alpha Omega Alpha Honor Medical Society » des Etats-Unis d'Amérique.**

Honorable maître, permettez-nous de vous remercier de la confiance que vous nous avez placée en nous acceptant à vos cotés.

Votre rigueur scientifique, votre esprit d'équipe et vos qualités d'homme dévoué à la cause de la recherche scientifique font de vous une référence pour les chercheurs de ce pays.

Recevez ici, honorable maître l'expression de notre profonde gratitude et profond attachement.

A notre maître et Président du Jury

**Professeur Agrégé Daouda K. MINTA**

**Maître de conférence agrégé de maladies infectieuses et tropicales**

**Chef de service des Maladies Infectieuses du CHU Point «G »**

**Master en science biologie médicale ; Chercheur au DEAP/FMPOS.**

Cher maître, nous sommes très honorés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de présider ce travail malgré vos multiples occupations.

Vos qualités d'homme de sacrifice nous ont séduit depuis le début de nos études médicales.

Votre simplicité, votre disponibilité ainsi que votre sens de la tolérance font de vous un grand maître.

Veillez trouvez ici le modeste témoignage de ma très sincère admiration et de ma profonde reconnaissance.

A notre maître et juge

**Professeur Agrégé Amagana DOLO**

**Maître de Conférence Agrégé de Parasitologie- Mycologie à la FMPOS**

**Chef du D.E.R des Sciences Fondamentales à la FMPOS.**

Cher maître, vous nous faites un grand honneur en prenant part à ce jury malgré vos multiples occupations.

La qualité de votre enseignement et la valeur de vos connaissances ont tout le temps suscité notre admiration.

Permettez-nous cher maître de vous réitérer, l'expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible disponibilité.

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>Ag</b> .....	Antigène
<b>AmphoB</b> .....	Amphotéricine B
<b>ARV</b> .....	Anti-rétroviral
<b>CD4</b> .....	Cluster of differentiation 4
<b>CHU</b> .....	Centre Hospitalier Universitaire
<b>CMV</b> .....	Cytomégalovirus
<b>CNM</b> .....	Cryptococcose neuro-méningée
<b>DEAP</b> .....	Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires
<b>EBV</b> .....	Epstein Barr Virus
<b>ELISA</b> .....	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
<b>ENI</b> .....	Ecole Nationale d'Ingénieur
<b>FCZ</b> .....	Fluconazole
<b>GalxM</b> .....	Galactoxymannane
<b>GXM</b> .....	Glucuronoxylomannane
<b>HES</b> .....	Hématoxyline éosine safran
<b>HGT</b> .....	Hôpital Gabriel Touré
<b>HPG</b> .....	Hôpital Point G
<b>HSV</b> .....	Virus Herpes Simplex
<b>ICZ</b> .....	Itraconazole
<b>IDR</b> .....	Intradermo-réaction
<b>IOTA</b> .....	Institut d'Ophtalmologie d'Afrique Tropicale
<b>LBA</b> .....	Lavage Bronchéolo-alveolaire
<b>LCR</b> .....	Liquide céphalo-rachidien
<b>LEMP</b> .....	Leucoencéphalite multifocale progressive
<b>L3-L4 ou L4-L5</b> .....	3 <sup>ème</sup> et 4 <sup>ème</sup> ou 4 <sup>ème</sup> et 5 <sup>ème</sup> vertèbre lombaire
<b>MGG</b> .....	<i>May Grunwald Giemsa</i>
<b>MM<sup>3</sup></b> .....	Millimètre cube
<b>Mg/kg</b> .....	Milligramme par kilogramme
<b>MRTC</b> .....	Malaria Research and Training Center
<b>NK</b> .....	Natural killer
<b>ORL</b> .....	Oto-rhino-laryngologie
<b>PAS</b> .....	Periodic Acid Schiff



<b>PCR</b> .....	Protéine C Réactive
<b>pH</b> .....	Potentiel Hydrogène
<b>PL</b> .....	Ponction Lombar
<b>PN</b> .....	Polynucléaires Neutrophiles
<b>SIDA</b> .....	Syndrome d'Immunodéficience Acquis
<b>SNC</b> .....	Système Nerveux Central
<b>USA</b> .....	United State of America
<b>µL</b> .....	microlitre
<b>VIH</b> .....	Virus de l'Immunodéficience Humaine
<b>VVZ</b> .....	Virus varicelle et du zona

## TABLE DES MATIERES

### ◇ DEDICACES ET REMERCIEMENTS

### ◇ LISTE DES ABREVIATIONS

<b>I – INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>II –OBJECTIFS.....</b>	<b>3</b>
2-1-Objectif Général.....	3
2-2-Objectifs Spécifiques.....	3
<b>III –GENERALITES.....</b>	<b>4</b>
1-Historique.....	4
2-Morphologie.....	5
3-Epidémiologie.....	7
4-Physiopathologie.....	9
5-Clinique.....	12
6-Diagnostic positif.....	16
7-Diagnostic différentiel.....	21
8-Traitement de la Cryptococcose.....	24
<b>IV – METHODOLOGIE .....</b>	<b>29</b>
4-1-Lieux d'étude.....	29
4-2-Les sites d'étude.....	29
4-3-Type et période d'étude.....	30
4-4-Population d'étude.....	30
4-5-Echantillonnage.....	30
4-6-Critères d'éligibilité.....	31
4-7-Déroulement de l'étude.....	31
4-8-Problèmes éthiques.....	32
4-9-Collecte, saisie, et analyse des données.....	32

<b>V – RESULTATS .....</b>	<b>34</b>
5-1- Caractéristiques socio-démographiques.....	34
5-2- Caractéristiques cliniques et biologiques.....	36
5-3- Analyses descriptives des résultats parasitaires.....	38
5-4- Résultats analytiques.....	40
5-5-Aspects thérapeutiques.....	41
<b>VI - COMMENTAIRES ET DISCUSSION .....</b>	<b>42</b>
<b>VII – CONCLUSION .....</b>	<b>47</b>
<b>VIII – RECOMMANDATIONS .....</b>	<b>48</b>
<b>IX – FICHE SIGNALÉTIQUE .....</b>	<b>49</b>
<b>X - REFERENCES .....</b>	<b>51</b>
<b>XI – ANNEXES .....</b>	<b>56</b>

## **I. INTRODUCTION ET JUSTIFICATION DE L'ETUDE**

La Cryptococcose ou Torulose est une mycose cosmopolite due à *Cryptococcus neoformans*, une levure encapsulée remarquable par son tropisme pour le système nerveux central et par l'expression de son pouvoir pathogène à la faveur d'une immunodépression, notamment cellulaire [1]. Elle constitue la deuxième affection opportuniste fatale au cours du Sida [2] et elle affecte surtout les malades à un stade avancé de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), dans les pays où les trithérapies sont insuffisamment utilisées.

Aux Etats-Unis, on estime que plus de 80% des Cryptococcoses sont liées au VIH [3]. Aux USA, la Cryptococcose est retrouvée dans 7% des 2087 cas de SIDA dans la série de Steven et est au 4<sup>ème</sup> rang des affections opportunistes mortelles au cours du SIDA [4,5]. En Europe, la fréquence des cas de Cryptococcose méningée associée au Sida est de 5 à 8% [6,7]. Cette affection rare, vers la 1<sup>ère</sup> moitié du 20<sup>ème</sup> siècle, avec seulement 300 cas, s'est rependue de façon exponentielle ces dernières années [8]. En France depuis 1995, la Cryptococcose intervient au douzième rang dans les pathologies opportunistes liées au SIDA [8].

En Afrique centrale, la fréquence de cette mycose au cours du SIDA a été évaluée entre 10 et 35% [9,10]. En Afrique de l'Ouest, les données de la littérature sur cette mycose sont parcellaires [11,12]. En Cote d'Ivoire en 1996, la Cryptococcose neuro-méningée a représenté 53% des étiologies de méningites lymphocytaires au CHU de Treichville essentiellement chez les patients infectés par le VIH et se place au 1<sup>er</sup> rang des étiologies des méningites lymphocytaires de l'adulte [13]. Au Sénégal, la Cryptococcose neuro-méningée (CNM) était rarement observée jusqu'à une date récente, avec un seul cas rencontré entre 1994 et 1995 [14].

Une étude rétrospective (de 1986-1996) sur la place de la Cryptococcose neuro-méningée chez les patients infectés par le VIH menée à la clinique des maladies infectieuses du CHU de FANN de Dakar, a permis de recenser 7 cas de Cryptococcose neuro-méningée sur 980 cas de SIDA [15]. Au Mali une étude prospective menée à l'Hôpital National du Point " G " en 2004-2005 a montré que la Cryptococcose neuro-méningée représentait une fréquence spécifique de 5,1% sur 235 patients vivant avec le VIH [16]. En plus une étude faite par Mieret de 2000 à 2002 au Mali a montré que la Cryptococcose neuro-méningée (CNM) représentait 30% des étiologies des méningites lymphocytaires à l'hôpital national du Point « G » [17].

- Depuis l'avènement de la gratuité des ARV au Mali en juillet 2004, nous ne disposons pas de données récentes sur cette affection opportuniste.

C'est ainsi que nous avons entrepris cette étude afin d'estimer la fréquence de la Cryptococcose neuro-méningée chez les patients VIH à Bamako.

## **II. OBJECTIFS**

### **2.1- Objectif général**

- Diagnostiquer la Cryptococcose neuro-méningée chez les patients VIH dans le district de Bamako.

### **2.2 - Objectifs spécifiques**

- Déterminer la fréquence globale de la Cryptococcose neuro-méningée à Bamako.
- Déterminer la fréquence de la Cryptococcose neuro-méningée par site de prise en charge.
- Déterminer le lien entre le taux de CD4 et la survenue de la Cryptococcose neuro-méningée chez les patients VIH /SIDA.
- Comparer la fréquence de la Cryptococcose neuro-méningée chez les patients sous anti-rétroviraux (ARV) à ceux des patients VIH sans traitement anti-rétroviraux.

### III- GENERALITES

#### 1- HISTORIQUE

##### **Définition et position taxonomique:**

Mycose opportuniste, la Cryptococcose est cosmopolite, à évolution subaiguë ou chronique, à localisation diverse, se développant essentiellement chez les sujets porteurs d'un déficit de l'immunité à médiation cellulaire [8].

Le germe en cause *C .neoformans* a été isolé pour la première fois en Sardaigne (région d'Italie) par **SANN FELICE** dans du jus de pêche en 1894 sous le nom de *Saccharomyces neoformans*. Par la suite environs 50 synonymes ont été utilisés [18]. Dès 1951, le caractère opportuniste de cette infection a été mis en évidence chez les immunodéprimés par un lymphome, un diabète ou une corticothérapie.

La maladie a également été appelée "Torulose","maladie de Busse-Buschke";"Blastomycose européenne". Il existe la forme sexuée dans la nature genre → *Basidiobulus sp* → espèce : *filobasidiella neoformans* et *filobasidiella bacillispora*.

Les travaux génétiques, biochimiques, épidémiologiques et pathogéniques de **KWON-Chung et Bennet [19]** ont montré que l'espèce *C.neoformans* se subdivise en deux (2) variétés:

► ***C.neoformans*** variété *neoformans* (***C.n.neoformans***) correspond aux **sérotypes A et D;**

► ***C.neoformans*** variété *gattii* (***C.n gattii***) et correspondant aux **sérotypes B et C.**

La spécificité de sérotypes est portée par le glucuronoxylo mannane (GXM).

Il existe des anti-corps monoclonal-anti GXM qui permettent d'identifier ces serotypes.

Il existe d'autres espèces de Cryptocoques cosmopolites saprophytes ne devenant pathogènes qu'exceptionnellement.

• ***Cryptococcus albidus*** a été isolé des lésions méningitiques, pulmonaires et du sang [8]; il ne pousse pas à 37 °C et non pathogène pour la souris.

• ***Cryptococcus laurentii*** est saprophyte des fruits, des grains, de feuilles du sol et d'eau de mer. Il a été isolé des lésions cutanées, d'abcès du poumon [8]. Il n'est pas pathogène pour la souris.

• ***Cryptococcus terrans*** isolé du sol en 1954.

• ***Cryptococcus uniguttulatus*** isolé à partir d'un onyxis en 1934.

## CLASSIFICATION

Règne.....	<i>Fungi</i>
Phylum.....	<i>Basidiomycota</i>
Classe.....	<i>Basidiomycètes</i>
Ordre.....	<i>Filobasidiales</i>
Famille.....	<i>Filobasidiaceae</i>
Genre.....	<i>Cryptococcus neoformans var. neoformans et var gattii</i>
Espèces.....	<i>neoformans ; bacillispora</i>

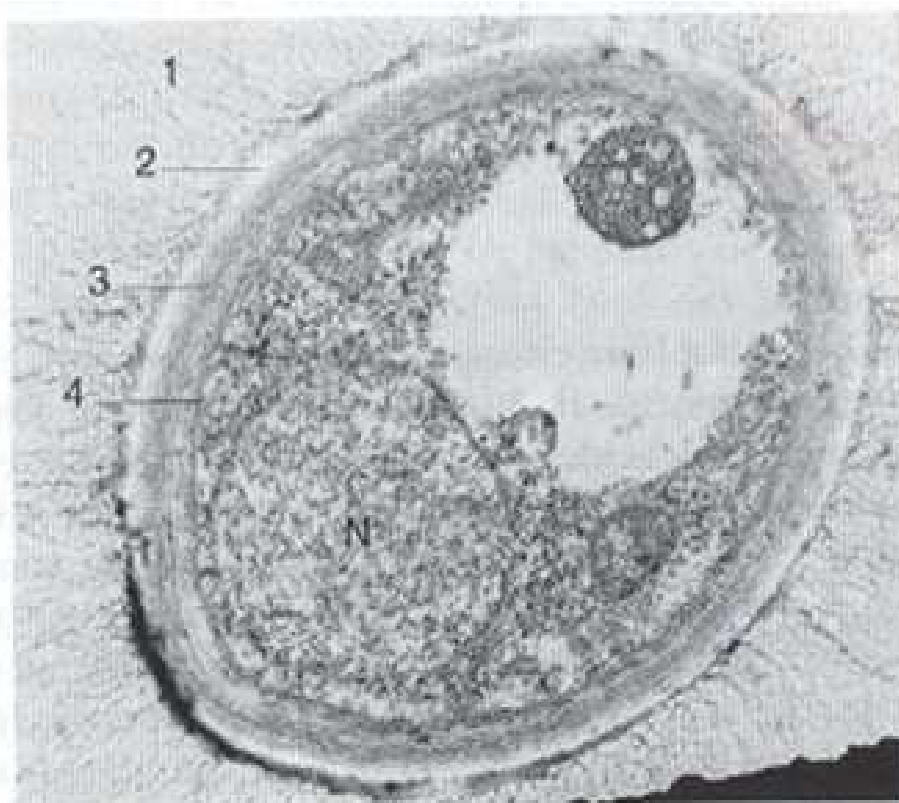
## 2 -MORPHOLOGIE

Les organismes unicellulaires, les levures du genre *Cryptococcus* se présentent sous forme sphérique ou ovoïde de 3 à 7µm en moyenne; avec une paroi épaisse doublée d'une capsule gélatineuse caractéristique. Cette capsule est plus ou moins épaisse selon les souches, leur environnement *in vivo*, la nature du milieu de culture (capsule importante sur milieu gélosé au malte à 37°C). Ces levures sont capables de relarguer de l'amidon dans le milieu ambiant; ce caractère métabolique constitue par



ailleurs un des éléments du diagnostic différentiel avec les levures du genre *Rhodotorula* [18,20]. Elles se produisent par bourgeonnement, unique mais parfois multipolaire (bourgeonnement multilatéral). Les bourgeons sont reliés à la levure mère par un col étroit. Les levures du genre *Cryptococcus* ne filamentent pas. Leur ultra structure a beaucoup été étudiée [18].

La capsule mucilagineuse, de nature polysidique est constituée de deux macromolécules : le galactoxylomannane (GalxmM) qui représente 12% des polysides capsulaires et le glucuronoxylomannane (GXM) qui représente 88% du matériel polysidique total.



**1** Aspect de *Cryptococcus neoformans* en microscopie électronique à transmission ( $\times 31\ 000$  ; 3,1 cm = 1  $\mu\text{m}$ ) (cliché de JF Michiels).  
1. Capsule ; 2. halo ; 3. paroi ; 4. membrane cytoplasmique ; N : noyau.

Réf : **Coulibaly D.** (2005), Thèse de Med. FMPOS N°38.

### **3-EPIDEMOLOGIE**

#### **3-1-Biotope**

**C. neoformans** vit à l'état libre en saprophyte dans la nature et dans le sol enrichi en matières organiques. Il est retrouvé fréquemment dans les fientes de pigeons très riches en acide urique, xanthine, guanine et créatinine, nécessaires à son développement et à la genèse des formes sexuées. On le trouve parfois dans les fientes de moineaux, perdrix, serins, les aigles. Les fruits et le lait peuvent également le véhiculer [21, 22,23].

En Afrique, il a été retrouvé dans la poussière domestique récoltée au domicile des patients atteints de Cryptococcose associée au SIDA [23]. Il est très résistant dans le milieu extérieur : plus de 16 mois dans le sable et 2 ans dans la terre humide et ombragée avec un PH de 6,8 à 7,2. Son développement s'arrête à partir de 39°C. C'est pourquoi il ne peut pas se multiplier dans le tractus digestif du pigeon [8] mais il survit dans le jabot où la température est nettement basse.

**C. neoformans gattii** n'a à ce jour pas été isolé du sol [8]. Sa niche écologique est constituée par les forêts d'*Eucalyptus camaldulensis* [22]. Cette variété a été décrite dans le fèces des animaux se nourrissant de cette plante.

### 3-2- Répartition géographique

Le Cryptocoque étant ubiquitaire, l'exposition à cet organisme est fréquente. Actuellement, 80 à 90% des infections à Cryptocoque surviennent chez les sujets séropositifs par le VIH. La prévalence de la Cryptococcose est de 3 à 8% en Europe, 8 à 10% aux Etats-Unis, environs 15 à 35% en Afrique centrale et en Asie du Sud-est [24,25,26].

Des études montrent que la prévalence de la Cryptococcose est faible en Afrique de l'Ouest avec un taux de 0,72% au Sénégal [24,27]. D'après les dernières études épidémiologiques effectuées en France le sérotype A représente 79,5% et le sérotype D 20,5% [23]. Le sérotype A est largement dominant aux Etats-Unis aussi bien dans l'environnement qu'en pathologie humaine.

*C. neoformans gattii* est limité aux zones tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie du Sud-est d'Australie [24]. En pathologie humaine, *C. neoformans* (sérotype A ou D) est principalement en cause mais pas exclusivement isolé chez les patients atteints de SIDA, même dans les régions où la variété *gattii* (sérotype B ou C) est toujours présente chez les sujets non infectés par le VIH [8].



**Figure 2 - Zones de prédominance des variétés de Cryptococcus.**

## **4- PHYSIOPATHOLOGIE**

### **4-1-Pathogénicité**

L'homme s'infeste essentiellement par inhalation. Plus rarement la contamination peut se faire par voie digestive ou cutanée. Le Cryptocoque a une prédilection pour le tissu nerveux. Cette électivité peut être due à la faible teneur de ce tissu en immunoglobulines [8,28].

#### **4-1-1-Facteurs favorisants**

Il existe une résistance naturelle importante à cette infection car les observations cliniques rapportées étaient relativement rares avant l'épidémie du SIDA (80 à 90% des cas de Cryptococcose). La Cryptococcose atteint également les patients porteurs d'un déficit de l'immunité à médiation cellulaire. L'infection survient lorsque le taux de CD4 est inférieur à 100 /mm<sup>3</sup> [29, 30,15].

Après le SIDA, la transplantation est le principal facteur de risque en raison de l'emploi des doses importantes de corticostéroïdes et d'immunosuppresseurs. La Cyclosporine A ne semble pas prédisposer à l'infection car, bien que responsable d'une immunosuppression cellulaire, elle inhibe la multiplication de *C. neoformans in vivo et in vitro* [8]. La Cryptococcose est également fréquente au cours des lymphomes et de la sarcoïdose. Certains patients n'ont pas de facteurs de risque apparents. Dans ce groupe, les hommes sont plus nombreux que les femmes et l'existence d'une susceptibilité d'origine génétique a été rapportée [8].

#### **4-1-2 Mécanismes de défense**

L'immunité cellulaire est responsable de l'importante résistance naturelle à la maladie. Ces mécanismes ont été établis grâce aux études expérimentales. Sur un modèle d'infection pulmonaire chez la souris, on a pu mettre en évidence que les polynucléaires neutrophiles (PN) détruisent dans un premier temps la plupart des Cryptocoques secondairement, l'infiltration monocyttaire devient prédominante [8]. Les PN et les monocytes humains peuvent ingérer et tuer les Cryptocoques *in vitro*. Les macrophages, les cellules NK (natural killer) et les lymphocytes T peuvent également tuer, ou au moins inhiber la croissance des Cryptocoques *in vitro*. Le principal facteur de résistance du Cryptocoque à la phagocytose est sa capsule [31].

**La protéine d'enveloppe gp120 du VIH**, inhibe la capacité de la phagocytose des macrophages alvéolaires humains envers le Cryptocoque [8]. De même, dans des cultures cellulaires infectées par le VIH, une très forte accentuation de polysaccharide capsulaire cryptococcique augmente la production d'antigène (Ag) P24, suggérant la possibilité d'une stimulation de l'infection virale.

Il existe également des mécanismes de défense humoraux. Les anticorps anti-cryptococciques et le complément ne sont pas directement lytiques pour le champignon mais sont des éléments majeurs de certains mécanismes de défense cellulaire, notamment en stimulant l'action anti-cryptococcique des macrophages et des lymphocytes [8].

#### **4-1-3-Quelles sont les raisons de l'atteinte élective du système nerveux central (SNC)**

Les facteurs solubles anti-cryptococciques, présents dans le sérum, sont pratiquement absents dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) qui est un bon milieu de culture pour le Cryptocoque. La réaction inflammatoire dans le LCR est quasiment

absente, ce qui est sans doute en rapport avec une anomalie locale des facteurs chémotactiques et opsonisants. Enfin la concentration portale en dopamine du SNC pourrait servir de substrat à la production de mélamine par le Cryptocoque, permettant la prolifération de levures plus virulentes **[8,15]**.

## **5- CLINIQUE**

L'histoire naturelle de la maladie évolue en plusieurs phases : forme primaire, localisée aux poumons, symptomatique ou non, dissémination par voie aérienne, sanguine et lymphatique responsable d'une forme neuro-méningée [32].

Actuellement aucun cas de transmission interhumaine direct par voie respiratoire n'a été décrit [8]. La porte d'entrée est pulmonaire dans la très grande majorité des cas.

Cependant des cas de transmission suite à une greffe d'organe ont été décrits [15].

La présentation clinique de la Cryptococcose dépend en partie comme on l'a vu, de la variété de *C. neoformans* impliquée, voire, à l'intérieur d'une même variété, du sérotype. Elle est également différente selon le statut immunitaire de l'hôte :

évolution plutôt aiguë chez l'immunodéprimé, avec une maladie souvent d'emblée disséminée ; évolution plus chronique chez l'immunocompétent, localisée, parfois fluctuante (le « Waxing and Waning » des Anglo-saxons), entrecoupée de périodes asymptomatiques [33, 15].

### **5-1-Cryptococcose primaire, pulmonaire**

Elle précède habituellement l'atteinte neuro-méningée [34].

Elle est souvent asymptomatique et de découverte fortuite. Chez le sujet très immunodéprimé, l'atteinte cryptococcique peut réaliser un syndrome de détresse respiratoire aigue [8]. En fait chez le sujet séropositif, rien ne peut distinguer cliniquement ou radiologiquement l'atteinte cryptococcique d'une autre infection opportuniste, et hormis la coexistence des signes pulmonaires avec une méningo-encéphalite, seul le lavage broncho-alvéolaire (LBA) permettra d'établir le diagnostic [18].

## **5-2-Cryptococcose secondaire, neuro-méningée**

C'est la localisation la plus fréquente et selon les régions du monde, elle peut atteindre jusqu'à 10% des personnes souffrant de SIDA [30]. Elle survient dans un contexte d'immunodépression avancée (CD4<50) [35].

Elle réalise une méningo-encéphalite subaiguë ou chronique.

Les manifestations cliniques sont en règle d'installation d'autant plus rapide que le sujet est plus immunodéprimé (SIDA, patient sous corticothérapie à forte dose) bien que des observations de Cryptococcose neuro-méningée de découverte fortuite aient été rapportées sur ce terrain [18, 19, 36].

Les patients porteurs d'une forme chronique peuvent présenter des manifestations atypiques (fatigue, amaigrissement, perte de mémoire) pendant plusieurs semaines ou mois entrecoupées de périodes totalement asymptomatiques [37].

Les nausées, l'irritabilité, la somnolence, les troubles du comportement et du caractère sont également fréquents. La fièvre est souvent présente, rarement supérieure à 39°C. Le syndrome méningé avec raideur de la nuque n'est retrouvé que dans environ 30% des cas [8]. L'atteinte d'un nerf crânien est évocatrice dans 2% des cas [8, 15].

Le LCR est en général hypertendu et clair (la PL soulage transitoirement le patient).

Les éléments y sont nombreux mais ne dépassent pas 800/mm<sup>3</sup> à prédominance lymphocytaires 100% ont cependant été décrites [8].

La protéinorachie est élevée↗ (supérieure à 0,40g/l peut atteindre 6g/l) [28]. Il y a une hyponatremie↘, la glycorachie effondrée↘ (inférieure à 0,30g/l).

Chez les patients très immunodéprimés, le LCR peut être normal sur le plan cellulaire et biochimique mais le cryptocoque poussant en culture [38, 39].



### **5-3-Cryptococcose disséminée**

Au cours des cryptococcoses disséminées, tous les organes peuvent être atteints et les hémocultures sont positives.

### **5-4-Autres localisations**

#### **Atteinte cutanée**

Elle résulte toujours d'une dissémination hématogène

L'atteinte cutanée survient dans 10% des cas et témoigne de la dissémination de l'infection [8]. Les lésions sont d'aspect variable, indolores et prédominent à la face et au cuir chevelu [40].

La lésion typique est une papule qui grossit en pustule ombiliquée finissant par s'ulcérer, des masses sous cutanées ou des ulcérations à bords irréguliers. Chez les patients sidéens, elles peuvent ressembler à des lésions de *Molluscum contagiosum* [53].

Le siège préférentiel de ces lésions est le visage et la partie supérieure du cou, sans adénopathie satellite associée. Certaines lésions atypiques simulent une vésicule d'herpès.

#### **Atteinte osseuse**

Elle s'observe dans 5 à 10% des cas. Elle se manifeste par des abcès froids d'aspect pseudo tuberculeux siégeant au niveau des os plats (crâne, côte) et des vertèbres (apophyses) [41]. Le cryptocoque a comme les autres champignons, une préférence pour les épiphyses, les os du crâne et les vertèbres. L'os est en général lysé par le développement d'un abcès qui peut s'extérioriser à la peau [40].

Les lésions osseuses n'ont pas d'aspect radiologique caractéristique. La relative stabilité des lésions et l'absence de réaction périostée la différencient des autres mycoses osseuses [40].

Les cas d'arthrite septique ont été décrits [8].

### **Atteinte oculaire**

Des troubles visuels divers allant jusqu'à la cécité peuvent être en rapport avec une atteinte fongique directe des voies optiques, une arachnoïdite, une chorioretinite ou une hypertension intracrânienne. L'œdème papillaire existe dans 30% des cas [42].

Des cas de conjonctivites et d'endophtalmie ont été décrits [8].

### **Le coeur**

Elle réalise de véritables myocardite, endocardite, péricardite [15].

### **La prostate**

Elle est considérée comme un foyer pouvant être à l'origine de rechutes après un traitement initial [43]. Chez le transplanté rénal la pyélonéphrite cryptococcique est une cause de rejet de greffe [8].

Des atteintes digestives, sinusiennes, surrénaliennes, hépatiques, spléniques, thyroïdiennes, musculaires, placentaires ont été rapportées, ainsi qu'une observation de septicémie nosocomiale à cryptocoque [44].

## **6- DIAGNOSTIC POSITIF**

### **6-1- LES SIGNES CLINIQUES**

Les céphalées : frontales, temporales ou rétro orbitaires résistantes aux antalgiques.

C'est le symptôme le plus fréquent car présent à 75% des cas [45,46].

Le syndrome méningé avec raideur de la nuque n'est retrouvé qu'à environ 30% des cas [47].

Des signes encéphalitiques (trouble de la vigilance, confusion mentale) sont retrouvés dans 10 à 30% des cas.

Des crises convulsives dans 4 à 8% des cas

Un déficit localisé dans 6 à 11% des cas.

La fièvre rarement supérieure à 39°C est présente dans 60 à 80% des cas.

### **6-2- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

La mise en évidence du Cryptocoque : seul l'isolement du Cryptocoque permet d'affirmer ce diagnostic avec certitude

#### **6-2-1- Examen direct du LCR après coloration à l'encre de Chine.**

Il met en évidence des levures encapsulées (70 à 80% de cas) [8]. Cet examen a une spécificité de 100% et une très grande sensibilité.

#### **▪ Biochimie et cytologie**

Elles peuvent être normale ou anormale. La cytochimie peut être normale chez les patients VIH.

Méningite à liquide clair mixte ou lymphocytaire :

- hyperalbuminémie ↗

- hypoglucochorachie ↘

- 10 à 100 éléments/mm<sup>3</sup>

### **6-2-2- Culture du LCR**

Le critère formel du diagnostic de Cryptococcose est apporté par la culture du LCR qui permet l'identification définitive et la détermination du sérotype de la levure.

Les milieux de cultures usuels sont : Sabouraud chloramphénicol sans actidione et Sabouraud chloramphénicol avec actidione (contrôle).

La culture est positive généralement après 48 heures d'incubation. *Cryptococcus* est sensible à l'actidione. Il ne pousse donc pas sur les milieux avec actidione. Le deuxième tube Sabouraud chloramphénicol avec actidione sert de tube contrôle

.Il existe des souches qui poussent lentement. Les tubes sont donc gardés à l'étuve pendant 3 semaines.

Au cours du SIDA la culture est positive dans près de 100% des cas [8]. Sa négativité peut être due à une très faible quantité de levure [8]. Il est à noter que *C. neoformans* pousse bien à 30 et 37°C alors que la variété *gattii* pousse à 30°C [32].

Les colonies sont crémeuses, à bords réguliers, coulantes, brillantes, blanchâtres devenant acrées en une semaine. Il existe 2 types : lisse si la capsule est peu abondante, et muqueux dans le cas contraire.

Le Cryptocoque peut être isolé dans d'autres sites : **hémoculture, lavage broncho alvéolaire, foie, moelle, urine, lésions cutanées [8,15]** surtout dans le cas de Cryptococcoses disséminées.

#### **▪ Identification**

Caractéristiques biochimiques :

- Uréase (+)
- Actidione sensible (-)
- Phénol oxydase (+)

## **6-3-IMMUNODIAGNOSTIC**

### **6-3-1- Recherche d'antigènes circulants**

La fraction antigénique capsulaire majeure est constituée par un GXM et un GalXM en plus faible quantité. Ces antigènes polyosidiques solubles ont un grand intérêt diagnostique. Ils sont recherchés habituellement dans le sérum et le LCR, mais également dans le LBA, les urines.

Les produits pathologiques sont centrifugés et la recherche d'antigène circulant s'effectue dans le surnageant. Le culot estensemencé, et une partie est destinée à l'examen direct à l'encre de Chine.

La technique la plus courante utilise des particules de latex sensibilisées par des anticorps polyclonaux anticryptococciques produits par le lapin ; ces anticorps réagissent avec l'antigène polysaccharidique capsulaire présent dans l'échantillon à tester et provoquent une agglutination visible à l'oeil nu. La réaction est très sensible et très spécifique dans les méningo-encéphalites (99% de LCR positifs). Elle est exceptionnellement négative [48]. Il peut y avoir des réactions faussement positives dues aux macroglobulines présentes dans le sérum des patients souffrant d'arthrite rhumatoïde, de sarcoïdose, de cirrhose, de syphilis, de sclérodermie, de psoriasis, de goutte, de lupus érythémateux disséminé [8].

Le traitement du prélèvement par une protéase (pronase) permet d'éliminer ces fausses réactions positives et de libérer les Ag cryptococciques intégrés à des complexes immuns. Il faut enfin signaler la présence de réactions croisées dues à des communautés antigéniques avec certaines bactéries (*Pseudomonas aeruginosa* ou *Klebsiella spp*) [8]. Ces interférences ne sont pas supprimées par la pronase. Outre l'agglutination des particules de latex, une technique ELISA (Enzyme Linked

Immunosorbent Assay) est commercialisée pour la détection des Ag de **C. neoformans**. Elle est considérée comme la plus sensible [49].

- La recherche d'antigènes circulants est corrélée à la clinique. C'est un excellent marqueur du suivi thérapeutique.

### **6-3-2- Anticorps**

L'étude de l'immunité humorale s'est toujours heurtée à l'absence ou au très faible taux d'anticorps spécifiques sériques : dépression immunitaire des malades ou faible antigénicité du parasite, ou faible diffusion des antigènes en raison de l'épaisseur de la capsule [14,50].

- La recherche d'anti-corps n'est pas contributive dans le diagnostic de la Cryptococcose neuro-méningée chez le patient VIH.

### **6-4-ANATOMOPATHOLOGIE [8]**

Macroscopiquement au cours de la Cryptococcose, les lésions sont très variables d'un organe à l'autre. Les plus typiques sont celles observées dans le cerveau en cas de méningo-encéphalite. Il s'agit de lésions de dégénérescence gélatineuse. Les levures se répartissent essentiellement dans l'espace sous arachnoïdien, les méninges sont épaissies, opaques, congestives. L'atteinte cérébrale se situe préférentiellement dans la substance grise. Rarement on peut observer des collectes évoquant un processus tumoral expansif [8].

- Au total, le diagnostic de la Cryptococcose est facile se fera à l'examen anapath sur des biopsies d'organes profondes. On réalisera des colorations au :
  - Muci-carmin et le Bleu Alcian → colorent la capsule
  - MGG, HES, PAS → ne colorent pas la capsule.
- On n'observe généralement pas de réaction cellulaire dans les tissus.

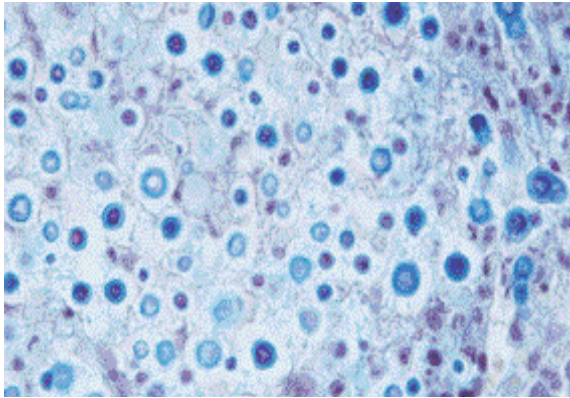


Figure 3 - Coloration au bleu alcian-présence de levures encapsulées (Coll HIA Val de Grâce).

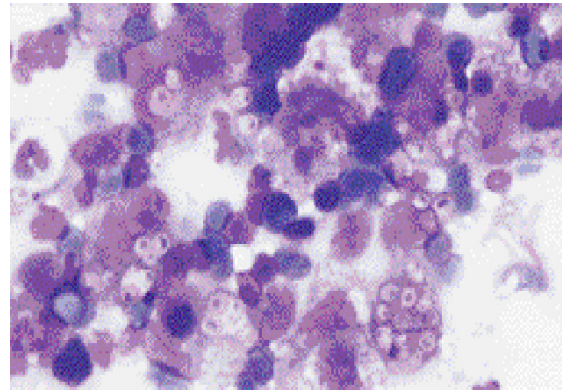


Figure 4 - Cytologie, coloration au MGG X 400-réaction granulomateuse avec macrophages contenant des levures encapsulées (Coll HIA Val de Grâce).

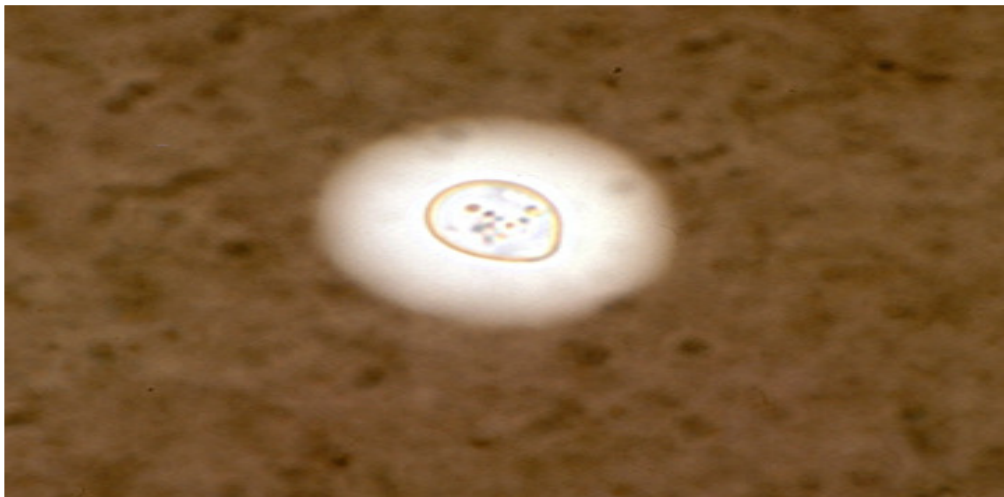


Figure 5 - Levures sphériques entourées d'un halo clair (capsule) avec coloration à l'encre de Chine. **C. neoformans**: 200.205-6k °jpg w w.Microbe-edu.org.

## **7- DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL**

Il se fait avec les autres causes de méningite à liquide clair à savoir :

### **7-1- LA MENINGITE TUBERCULEUSE [51]**

C'est une méningite fébrile d'apparition progressive associée le plus souvent à de discrets signes encéphalitiques avec aggravation secondaire. Le LCR suspecte le diagnostic en montrant :

- une pleïocytose à prédominance lymphocytaire,
- une protéinorachie supérieure à 2g/l,
- une hypo glycorachie
- une hypochlorurorachie
- la radiographie du thorax et l'IDR à la tuberculine sont obligatoires.

L'examen direct est rarement positif et la découverte du bacille tuberculeux se fait par la culture de trois prélèvements successifs associés à la PCR, en mettant en évidence une petite quantité d'ADN. La méthode ELISA pourrait permettre un diagnostic précoce [52].

- Les autres méningites bactériennes à liquide clair (Listerienne, Brucellienne, Méningite au cours de la maladie de Lyme, méningite à leptospire, méningite syphilitique)

### **7-2- LES MENINGITES VIRALES :**

- Entérovirus : étiologie liée au virus coxsackie A et B, Echovirus, Poliovirus
- Méningite ourlienne due au Myxovirus parotidis
- Herpétique : étiologie liée au HSV1, HSV2, HSV6, Virus varicelle-zona, CMV, EBV (Epstein Barr)
- Méningite au cours de la primo-infection à VIH (hépatite A, EBV, VVZ).
- Adénovirus et Arbovirus.



### **7- 3- MENINGITES PARASITAIRES**

#### **- LA TOXOPLASMOSE**

Parasitose liée à *Toxoplasma gondii*, la toxoplasmose constitue une infection ubiquitaire, extrêmement répandue dans la population, inapparente dans la plupart des cas et bénigne habituellement, sauf dans deux circonstances : la grossesse et l'immunodépression.

**- NEUROPALUDISME ET LA TRYPANOSOMIASE** sont aussi responsables.

### **7- 4- LES PROCESSUS EXPANSIFS INTRACRANIENS.**

- Tuberculome,
- Tumeurs méningées primitives (méningiome)
- Tumeurs de la région sellaie (adénome et carcinome hypophysaire, craniopharyngiome)
- Métastases intracrâniennes (cérébrales, durales, méningés)
- Lymphome primitif du système nerveux central
- L'encéphalite à cytomégalovirus (CMV)
- Tumeurs du tissu neuroépithélial (Gliomes : tumeurs astrocytaires, tumeurs oligodendrogiales, gliomes mixtes)

Autres tumeurs : tumeurs épendymaires, tumeurs mixtes glio-neuronales, tumeurs pinéales, tumeurs embryonnaires.

### **7- 5- ETIOLOGIES DES FIEVRES AU LONG COURS**

- Les infections : Primo-infection tuberculeuse, Infections ORL, Hépatite A, Mononucléose infectieuse, Maladie des inclusions cytomégaliqes, Pneumopathies, Typhoïde, Brucellose, Endocardite, Abscès cérébral.
- Les parasitoses : Toxoplasmose, Paludisme, Distomatose hépatique, Syndrome viscéral larva migrans, Kala-Azar.

- Les affections malignes : Maladie d'Hodgkin, Tumeurs malignes.
- Les collagénoses : L.E.A.D, Périarterite noueuse, Dermatomyosite, Rhumatismes chroniques (maladie de SILL), Syndrome de WISSLER-FANCONI.

## **8-TRAITEMENT DE LA CRYPTOCOCCOSE**

### **8-1-BUT**

Le traitement idéal des différentes formes cliniques de la Cryptococcose n'est pas encore établi. Plusieurs antifongiques sont utilisables, leur modalité d'emploi dépendant essentiellement du terrain et de la localisation. Le but de ce traitement dans la localisation neuro-méningée est de stériliser le LCR et d'éviter les récives.

### **8-2- MOYENS (molécules)**

#### **Moyens médicamenteux :**

#### **A - Les polyènes :**

##### **Amphotéricine B (Ampho B) injectable 50 mg/ml Fungizone®**

Effets secondaires : produit toxique → rétention azotée, hypokaliémie, anémie, mauvaise tolérance veineuse nécessitant la mise en place d'un cathéter central, insuffisance rénale (constante, dose dépendante, en général réversible).

L'administration en perfusion alternée 1 jour sur 2 diminue ce risque toxique dû à l'accumulation sanguine du produit.

#### **Conduite thérapeutique de la pose de l'Amphotéricine B :**

- Sensibilisation du patient.
- Prémédication : administration de la prométhazine injectable 1 heure après, acide acétique salicylique et pose de la perfusion de l'Ampho B 1 heure après sinon présence de réactions (fièvre, frissons, délires).
- Ne faut pas aller d'emblé à la dose maximale de 1 mg/kg

Les doses doivent être administrées de façon progressive : 0,2mg, 0,4mg, 0,6mg, 0,8mg, et enfin à 1 mg/kg et cela 1 fois toutes les 48 heures. Les jours de repos feront l'objet d'une réhydratation par le sérum salé.

- Durée de la perfusion : 8 à 10 heures.

**Flucytosine (5FC, Ancotil®)** comprimés de 500mg et en solution pour perfusion à 1% (flacons en verre de 250 ml)

Son principal effet secondaire est la toxicité hématologique (anémie, leucopénie, thrombopénie) qui peut être évitée en monitorant le taux sérique du produit, qui doit être au dessus de 25mg/l et en dessous de 100mg/l. Par voie orale, la 5FC peut occasionner des troubles digestifs : nausées, diarrhées [53].

## **B - Les dérivés azolés :**

Ils se divisent en deux groupes, les imidazolés, peu utilisés dans la Cryptococcose, et les triazolés.

### **Les triazolés :**

▪ **Le Fluconazole (FCZ), Triflucan® en perfusion de 400- 800mg/j et en gélules de 200 mg/j.**

Les effets secondaires les plus courants sont les vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et éruptions cutanées. Ils sont le plus souvent bénins, et n'obligent que rarement à arrêter le traitement.

Il diffuse très bien dans le LCR, et sa tolérance est bonne.

▪ **Itraconazole (Sporanox®) comprimé de 100mg et en suspension buvable de 10 mg/ml**

Ses principaux effets indésirables sont : troubles gastro-intestinaux, des éruptions cutanées et des troubles hépatiques graves.

Son taux de fixation aux protéines est très élevé, son élimination est biliaire et urinaire sous forme de métabolites inactifs. Le produit est concentré dans le compartiment intracellulaire et notamment dans les phagocytes [8].

### **8-3- INDICATIONS**

Avant le SIDA, les Cryptococcoses étaient peu fréquentes et aucune étude thérapeutique comparative d'envergure n'a été possible ; le traitement était basé sur certaines recommandations simples. Aujourd'hui, de nombreuses études ont permis l'établissement d'un traitement beaucoup mieux codifié surtout pour les patients immunodéprimés par le VIH [15]. Ainsi le choix du traitement dépendra essentiellement du site anatomique de l'infection, de l'état clinique et du statut immunitaire du patient.

#### **► Chez le sujet immunocompétent [53,15]**

La découverte est fortuite. Dans les cas de Cryptococcose pulmonaire isolée et asymptomatique ; une surveillance clinique et biologique pendant 2 à 3 mois suffira. Dans les cas symptomatiques, un traitement à base de Fluconazole 10 mg/kg/jour pendant 3 à 6 semaines est indiqué. Chez les sujets atteints de Cryptococcose asymptomatique *var gattii* (le plus souvent) une antigénémie positive dans le sérum avec un titre >1/8, ou ceux ayant une localisation urinaire ou cutanée, le traitement recommandé est le Fluconazole (FCZ) 400 - 800 mg/jour pendant 3 à 6 mois [8, 54, 53,15].

Les sujets immunodéprimés par autres causes que l'infection par le VIH peuvent être traité par le même schéma en tenant compte du site de l'infection.

#### **► Chez les sujets immunodéprimés par le VIH (atteints de SIDA)**

Chez le sujet séropositif au VIH, le traitement de la Cryptococcose est toujours obligatoire quelle que soit la localisation [55,53].

Chez les patients présentant une localisation pulmonaire isolée ou urinaire, le Fluconazole (FCZ) à 400 mg/j est indiqué. L'impact d'un traitement antirétroviral puissant évoqué au paravent est de plus en plus discuté. Il est donc recommandé

chez tous les sujets VIH de maintenir le traitement jusqu'à la restauration de la défense immunitaire [53]. Les patients qui ne tolèrent pas le FCZ peuvent prendre comme alternative l'itraconazole (ICZ) 400 mg/j.

#### ■ La localisation neuro-méningée

C'est ici que l'approche thérapeutique est la mieux codifiée. La fréquence des rechutes oblige à la prescription d'un traitement initial dit d'attaque, suivi d'un traitement d'entretien.

En traitement d'attaque, l'Ampho B (0,7-1mg/kg/j) plus 5FC (100mg/kg/j répartis en 4 prises orales pendant 2 semaines suivi par le FCZ (400mg/j) pendant au moins 10 semaines est le traitement de choix [55,56].

Après 10 semaines de traitement, la dose de FCZ peut être réduite à 200mg/j et dépend de l'état clinique du patient.

Le second schéma consiste à donner de l'Ampho B (0,7-1mg/kg/j) plus 5FC (100mg/kg/j) pendant 6 à 10 semaines, suivis par le FCZ (400-800mg/j). La forme lipidique de l'Am B peut être une alternative chez les patients ayant une mauvaise fonction rénale [57]. Les sujets immunodéprimés par autre cause que le VIH peuvent être traités par le même schéma en tenant compte du site de l'infection. Le traitement d'entretien avec le FCZ peut être continué pendant 6 à 12 mois et dépend de l'état clinique du patient [8].

Le traitement d'entretien doit être adapté d'une part en fonction des critères de gravité initiaux de la Cryptococcose, et d'autre part en fonction des autres paramètres du patient (qualité de vie, interférences médicamenteuses).

Enfin devant tous cas de Cryptococcose neuro-méningée une attention particulière sur la prise en charge de la pression intracrânienne est impérative pour assurer un bon résultat clinique [58].

#### **8-4- EVOLUTION ET PRONOSTIC**

L'évolution sous traitement peut être suivie par la recherche d'antigène circulant dans le LCR [59].

Il existe une bonne corrélation entre la cinétique de disparition des antigènes circulants et les signes cliniques.

Le pronostic de cette affection est péjoratif, nécessitant un diagnostic et un traitement précoces.

##### **• Mortalité :**

En termes de mortalité, ce sont les patients souffrant d'une hémopathie maligne (lymphome, leucémie chronique) chez qui la Cryptococcose est la plus grave.

Les auteurs soulignent que la mortalité à trois mois de la Cryptococcose reste de 15 à 20% dans les pays occidentaux, et qu'elle est bien plus élevée en Afrique ou en Asie : ceci justifie largement d'améliorer à l'avenir la prise en charge thérapeutique de cette maladie.

## **IV - METHODOLOGIE**

### **4-1- Lieu d'étude**

Notre étude s'est déroulée à Bamako, précisément dans le cadre du programme ESHER au Mali.

### **4-2- Les sites d'étude**

Notre étude a concernée les structures sanitaires suivantes :

- Centre Hospitalier Universitaire du Point « G »
- Centre Hospitalier Universitaire de Gabriel Touré

Ces 2 sites représentent le plus file active des patients VIH.

Le Département d'Epidémiologie des affections parasociologiques (DEAP), et le groupe hospitalier universitaire Pitié-Salpêtrière pour la partie laboratoire.

#### Description de sites d'étude :

##### - CHU du Point « G »

Situé sur une colline dont il porte le nom, à 8km du centre ville, Point "G" fait partir de la commune III du district de Bamako. Point "G" est limité à l'Est par Sikoroni et l'Hippodrome, à l'Ouest par le camp para n°2, Koulouba et Sokonafing, au nord par N'goni, et au sud par les quartiers de Médina coura et de Missira.

C'est un des Centres Hospitaliers et Universitaires (CHU), situé au troisième niveau de la pyramide sanitaire du pays et comprend en son sein nombre de services spécialisés telles que: le service de médecine interne, le service des maladies infectieuses et tropicales, rhumatologie, pneumologie, cardiologie, néphrologie, hématologie, neurologie, réanimation, gynéco obstétrique, service des urgences, chirurgie générale, radiologie, psychiatrie.



- CHU de Gabriel Touré

Situé dans le quartier administratif, il est limité à l'Ouest par l'école normale d'ingénieur (ENI), au Sud par la gare ferroviaire et au Nord par l'IOTA (Institut d'Ophtalmologie Tropicale d'Afrique), et à l'Est par le monument Palestinien. C'est aussi un Centre Hospitalier Universitaire avec de multiples spécialités comme : pédiatrie, gastro-entérologie, ORL, traumatologie, gynéco obstétrique, cardiologie, chirurgie, urgences.

- Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP)

Même position géographique que l'Hôpital du Point "G".

Ce laboratoire est un centre de recherche de haut niveau et de formation sur les maladies parasitaires et tropicales en général, et sur le paludisme en particulier. On y effectue également la recherche sur les infections opportunistes digestives (Cryptosporidioses, Microsporidioses Isosporoses, Cyclosporoses) et fongiques (Cryptococcoses, Candidoses, Pneumocystoses) au cours du VIH/SIDA.

#### **4-3- Type et période d'étude**

Il s'agissait d'une étude transversale prenant en compte tous les cas de syndrome méningo-encéphalitique sur terrain VIH dans les sites concernés par l'étude.

Cette étude s'est déroulée de juillet 2007 à décembre 2009.

#### **4-4- Population d'étude**

Notre étude a porté uniquement sur les patients séropositifs au VIH sans distinction de sexes, ni d'âge, présentant un syndrome méningo-encéphalitique fébrile ou non.

#### **4-5- Echantillonnage**

Nous avons reçu de façon non exhaustive les échantillons de LCR provenant des deux (2) sites durant la période d'étude.

#### **4-6- Critères d'éligibilité**

##### **a- critères d'inclusion:**

- Patients présentant des syndromes neurologiques fébriles (fièvre au long cours avec trouble de la mémoire et de la conscience, obnubilation, hémiparesie ou une raideur de la nuque) sur terrain rétrovirose.
- Malades des 2 sexes séropositifs au VIH, présentant un syndrome méningo-encéphalitique.

##### **b- critères de non inclusion:**

- Patients VIH négatifs présentant une méningo-encéphalitique fébrile ou non.
- Patients manifestant des troubles neurologiques fébriles (céphalées, raideur de la nuque et altération de la conscience) avec une sérologie VIH négative ou inconnue.

#### **4-7- Déroulement de l'étude**

C'était à la suite d'une ponction lombaire (PL) effectuée entre (L3-L4 ou L4-L5) dans les services cliniques en vue de prélever du LCR (environ 3-5ml) dans un tube stérile, qui nous est adressé au laboratoire (DEAP) afin de pouvoir poser le diagnostic de certitude biologique. Chaque prélèvement était accompagné d'une fiche d'enquête dûment remplie par un Médecin ou un Interne du dit service portant l'identité du patient, du prescripteur, et du service demandeur.

Les variables mesurées étaient :

•Variables démographiques : l'âge, le sexe, le poids, période

•Variables cliniques : l'étude clinique comportait : notion de fièvre récente, les céphalées, les vomissements, l'asthénie, les diarrhées, les algies (abdomen, poumon, et courbatures), les troubles neurologiques, les signes cutanés et pulmonaires.

▪ Variables biologiques : taux de CD4.

Les techniques biologiques : nous avons utilisé les techniques suivantes :

- 🚩 L'examen direct sans coloration entre lame et lamelle
- 🚩 la technique de coloration à l'encre de Chine
- 🚩 La culture
- 🚩 Le test d'agglutination au latex

Les principes et les matériels utilisés pour chacune des techniques sont présentés en « Annexe » pages 56.

Les résultats des différentes techniques et lectures étaient sous la supervision de nos responsables de laboratoire.

#### **4-8- Problèmes éthiques**

Au cours de notre étude, nous avons utilisés des matériels stériles à usage unique pour le prélèvement LCR. L'inclusion des patients a été faite sur la base d'un consentement orale. Les données cliniques et biologiques ont fait l'objet d'une stricte confidentialité, et continuent à l'être.

Les résultats ont été portés à la connaissance de nos partenaires.

Ce travail a été approuvé par la haut Conseil National de Lutte Contre le SIDA (HCNLS) et l'ensemble des médecins prescripteurs des sites de prise en charge des patients VIH qui collaborent avec le programme ESTHER.

#### **4-9- Collecte, saisie, analyse des données**

Les données ont été récoltées sur les cahiers d'observation. Tous les échantillons étaient accompagnés par des fiches d'enquête portant l'identité du patient [voir Annexe]. Un numéro d'étude était attribué à chaque patient dès la réception au labo.

Le logiciel Microsoft Accès a été utilisé pour la saisie des données ; l'analyse a été faite sur les logiciels Stata, SPSS12.0 et Epi-Info6.

Les tests suivants ont été utilisés pour l'analyse des données :

- ❖ Test de Chi-2 de Pearson et la probabilité exacte de Fischer pour la comparaison des proportions.
- ❖ Test de Student pour la comparaison des moyennes.

## V- RESULTATS

Au cours de notre étude nous avons recruté 235 patients VIH positifs.

### 5-1- Caractéristiques socio-démographiques

**Tableau I** : Répartition des malades selon le sexe

Sexe	Crypto +		Crypto –		Total
	Effectif	%	Effectif	%	
Féminin	9	34,62	89	42,58	98(41,70)
Masculin	17	65,38	120	57,42	137(58,30)
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>	<b>235(100%)</b>

Le **sex-ratio** est de **1,8** (17/9) en faveur des hommes, et la différence n'était pas significative ( $\chi^2 = 0,60$  ;  $p = 0,4$ ).

**Tableau II** : Répartition des malades selon l'âge

Classes d'âge (année)	Crypto +		Crypto –		Total
	Effectif	%	Effectif	%	
≤39	19	73,08	136	65,96	155(65,96%)
40-59	5	19,23	64	30,62	69(29,36%)
>60	2	7,69	9	4,31	11(4,68%)
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>	<b>235 (100%)</b>

Les résultats de ce tableau montrent que les sujets **≤ 39 ans** étaient majoritaires avec **73,08%** de la population affectée. Cependant, il est à noter qu'il n'y a pas de différence entre les groupes d'âge : ( $\chi^2 = 1,81$  ;  $p = 0,4$ ).

**Tableau III : Répartition des malades selon le poids**

Poids (kg)	Crypto +		Crypto –		Total
	Effectif	%	Effectif	%	
10-39	4	15,38	22	10,52	26(11,06%)
40-59	18	69,24	145	69,38	163 (69,37%)
60-79	4	15,38	42	20,10	46(19,57%)
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>	<b>235 (100%)</b>

Le tableau III montre que **69,2%** de la population affectée avaient un poids compris entre [40-59] et nous n'avons pas noté de différence statistiquement significative :  
 [10-39 kg versus 40-59 kg  $\Rightarrow$  test F,  $p= 0, 51$ ]  
 [40-59 kg versus 60-70 kg  $\Rightarrow$  test F,  $p= 0, 79$ ].

**Tableau IV : Répartition des malades selon le site de prescription**

Service	Crypto +		Crypto –		Total
	Effectif	%	Effectif	%	
HGT	2	7,69	18	8,61	20 (8,51%)
HPG	24	92,31	191	91,39	215 (91,49%)
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>	<b>235 (100%)</b>

Le tableau IV montre que **92,31%** des malades atteints de Cryptococcose provenaient du CHU du Point G, 7,69% du CHU Gabriel Touré. Cependant, nous n'avons pas trouvé de différence statistiquement significative (**test F,  $p= 0,61$** ).

## **5-2- Caractéristiques cliniques - biologiques**

**Tableau V** : Répartition des malades selon la température

Température (°c)	Crypto +		Crypto –		Total
	Effectif	%	Effectif	%	
<37,5	7	26,92	39	18,66	46 (19,57%)
≥37,5	<b>19</b>	<b>73,08</b>	170	81,34	189 (80,43%)
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>	<b>235 (100%)</b>

L'analyse de ce tableau montre que la fièvre était présente au moment du prélèvement chez **73,08%** des patients. Nous n'avons pas trouvé de différence entre l'augmentation de la température et la présence de Cryptocoque ( $\chi^2 = 1,00$ ,  $p = 0,3$ ).

**Tableau VI** : Répartition des malades atteints de Cryptococcose selon les signes cliniques observés au cours de l'hospitalisation.

Signes cliniques Observés	Présence		Absence	
	Effectif	%	Effectif	%
Fièvre récente	17	65,4	9	34,6
Céphalées	<b>21</b>	<b>80,8</b>	5	19,2
Troubles neuro	<b>19</b>	<b>73,1</b>	7	26,9
Signes cutanés	4	15,4	22	84,6
Signes pulmonaires	3	11,5	23	88,5
Asthénie	17	65,4	9	34,6
Vomissement	8	30,8	18	69,2
Diarrhée	3	11,5	23	88,5
Anorexie	10	38,5	16	61,5
Courbature	13	50	13	50

Le tableau VI montre que les signes cliniques les plus fréquents étaient marqués par les céphalées et les troubles neurologiques avec respectivement **80,8%** et **73,1%**.

**Tableau VII** : Répartition des malades atteints de Cryptococcose selon les renseignements cliniques fournis pour le diagnostic à l'entrée.

Renseignements cliniques	Effectif	Pourcentage
Trouble de la mémoire	6	23,1
Syndrome méningé (raideur, céphalées)	8	30,8
Syndrome infectieux	5	19,3
Méningo-encéphalite	4	15,4
Trouble cognitif psychoaffectif	3	11,5
<b>TOTAL</b>	<b>26</b>	<b>100</b>

A l'entrée la symptomatologie clinique était marquée par le syndrome méningé chez **30,8%** des patients, suivi des troubles de la mémoire **23,1%** des cas.

**Tableau VIII** : Répartition des malades selon l'aspect morphologique du LCR.

Aspect morphologique (LCR)	Crypto +		Crypto –		Total
	Effectif	%	Effectif	%	
Clair	16	61,54	152	72,73	168 (71,49%)
Trouble	6	23,08	23	11,00	29 (12,34%)
Hématique	4	15,38	34	16,27	38 (16,17%)
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>	<b>235 (100%)</b>

L'aspect de la coloration du LCR était clair chez **61,5%** des porteurs de Cryptocoque et trouble dans 23% des cas.



**Tableau IX** : Répartition des patients atteints de Cryptococcose en fonction de la culture.

<b>Culture</b>	<b>Effectif</b>	<b>Positif</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Faite</b>	14	<b>14</b>	<b>100</b>
<b>Non faite</b>	12	-	-
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>14</b>	<b>100</b>

La culture était positive à **100%** sur Sabouraud chloramphénicol sans actidione.

### **5-3-Analyses descriptives des résultats parasitaires**

**Tableau X** : Détermination de la fréquence de la Cryptococcose par site de prise en charge.

<b>Service</b>	<b>Effectif /Site</b>	<b>Fréquence</b>
<b>HGT</b>	2 / 20	10 %
<b>HPG</b>	<b>24 / 215</b>	<b>11,16 %</b>
<b>Fréquence globale</b>	<b>26/235</b>	<b>11,06 %</b>

Le CHU du point G a eu la fréquence la plus élevée avec **11,16%** (24/215).

La fréquence globale était de **11,06%** (26/235).

**Tableau XI** : Evaluation de la technique d'agglutination par rapport à l'examen direct à l'encre de Chine.

Test Latex	Encre de Chine				Total
	Crypto +		Crypto -		
	Effectif	%	Effectif	%	
Latex (-)	1	3,85	207	99,04	208 (88,51%)
Latex (+)	25	96,15	2	0,96	27 (11,49%)
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>	<b>235 (100%)</b>

Le tableau XI montre que la fréquence de la Cryptococcose par la technique d'agglutination était de **11,49%**.

1- Les paramètres de validité intrinsèque de la technique d'agglutination par rapport à l'examen à l'encre de Chine étaient : **Se = 96,15%**, **Sp = 99,04%**.

**Tableau XII** : Evaluation de la technique de l'examen direct (encre de Chine) par rapport au test d'agglutination.

Encre Chine	Latex				Total
	Crypto +		Crypto -		
	Effectif	%	Effectif	%	
Encre Chine (-)	2	7,41	207	99,52	209 (88,94%)
Encre Chine (+)	25	92,59	1	0,48	26 (11,06%)
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>100</b>	<b>208</b>	<b>100</b>	<b>235 (100%)</b>

Le tableau XII montre que la fréquence de la Cryptococcose par la technique de l'examen direct (encre de Chine) était de **11,06%**.

2- Les paramètres de validité intrinsèque de la technique de l'examen à l'encre de Chine par rapport au test d'agglutination étaient : **Se = 92,59%**, **Sp = 99,51%**

**VPP= 96,15    VPN= 99,04**

**Concordance Kappa**  $K = (Po - Pe) / (1 - Pe) = 0,99$

Cette valeur indique un accord excellent entre les deux tests.

## 5-4- Résultats analytiques

**Tableau XIII** : Relation entre traitement ARV et Cryptococcose

Cryptococcose	Crypto +		Crypto –		Total
	Effectif	%	Effectif	%	
ARV +	13	50	87	41,63	100 (42,55%)
ARV –	13	50	122	58,37	135 (57,45%)
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>	<b>235 (100%)</b>

L'analyse de ce tableau montre que **50%** des patients étaient sous traitement ARV. Cependant, nous n'avons pas trouvé de lien entre le traitement ARV et les sujets porteurs de cryptocoque  $\Rightarrow (\chi^2 = 0,66, p = 0,41)$ .

**Tableau XIV** : Relation entre Cryptococcose et taux de CD4

Lymphocytes T CD4+	Crypto +		Crypto –		Total
	Effectif	%	Effectif	%	
<200	21	80,77	183	87,56	204(86,81%)
200-499	0	0,00	22	10,52	22(9,36%)
≥500	0	0,00	2	0,96	2 (0,85%)
Non fait	5	19,23	2	0,96	7 (2,98%)
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>209</b>	<b>100</b>	<b>235(100%)</b>

Les résultats de ce tableau montre que **80,77%** des patients positifs à la Cryptococcose avaient un taux de **CD4 ≤ 200**.

## 5-5- Aspects thérapeutiques

**Tableau XV** : Répartition des cas de Cryptococcose selon le traitement reçu avant diagnostic

Traitement avant admission	Effectif	Pourcentage
Fluconazole+Amoxicilline	7	26,9
Anti-tuberculeux (type 2RHZE 6RH)	2	7,7
Ceftriaxone	5	19,2
Amytriptyline (goutte)	2	7,7
Aucune thérapie	10	38,5
<b>TOTAL</b>	<b>26</b>	<b>100</b>

Les résultats du tableau XV montrent que **38,5%** des patients n'ont pas reçu de traitement. En effet, 7 patients avaient reçu un antifongique avant l'admission, soient **26,9%**, et 2 patients étaient sous anti-tuberculeux.

### □ Situation thérapeutique après diagnostique.

Après le diagnostic, 9 patients positifs à la Cryptococcose ont fait l'objet de suivi dont 4 sont décédés et 5 améliorés.

En effet :

- 2 patients sont décédés avant traitement,
- 2 patients sont décédés malgré traitement suite à une atteinte disséminée,
- 7 patients ont été traités à base du fluconazole.

**La létalité** a été de 4/9 soit un **taux de 44,4%**.

## **VI- COMMENTAIRES ET DISCUSSION**

### **6-1- Méthodologie**

Notre étude a été menée dans le district de Bamako au niveau de 2 structures sanitaires (le CHU Point G et le CHU Gabriel Touré), et a concerné uniquement les patients VIH positifs. Le choix de ces sites se justifie par le fait que, ce sont des structures de niveau 1 en matière de prise en charge adéquate des patients vivants avec le VIH/SIDA.

C'était une étude transversale portant sur l'amélioration du diagnostic de la CNM et qui s'est déroulée de juillet 2007 à décembre 2009. Pour pouvoir diagnostiquer cette affection ces 2 sites étaient en collaboration avec le laboratoire du DEAP/MRTC où nous avons effectué la biologie. Le diagnostic de la Cryptococcose a été posé par la mise en évidence de l'agent pathogène dans le LCR à l'examen direct (encre de Chine), à la culture et au test d'agglutination au latex, ce qui a contribué à améliorer la sensibilité de notre étude.

La faiblesse de notre étude tient au fait que nous n'avons pas programmé de suivi au départ pour certains patients décelés positifs.

Sur le plan épidémiologique 235 patients ont été recrutés, 26 avaient une méningite à cryptocoque soit une fréquence globale de 11,06% (26 /235). Cette fréquence observée reste très en dessus de celle observée par Coulibaly et *al.* (2005) [16] au Mali qui avaient trouvé, une fréquence de 5,1% (12/235), et de Bissagnéné et *al.* (1989) [60] qui ont rapporté une fréquence de 5,4%.

Nos résultats peuvent s'expliquer sans doute par l'émergence de cette pathologie dans la population VIH/SIDA dans ces dernières années, mais aussi par le fait que nous avons utilisé plusieurs outils de diagnostic de la cryptococcose.

## **6-2- Caractéristiques socio démographiques**

Au cours de notre étude, 17 patients étaient de sexe masculin et 9 de sexe féminin soit un sex - ratio de 1,8 en faveur des hommes, ce taux est identique à celui de Coulibaly et *al.* (2005) [16] qui ont trouvé aussi 1,8 en faveur des hommes. Cette prévalence du sexe masculin en faveur peut être liée à la profession qui le met plus en contact avec les sources de contaminations. Nous avons trouvé un poids moyen de 50,3 kgs avec des extrêmes de 18 et 85 kgs. L'âge moyen était de  $36 \pm 8$  ans avec des extrêmes de 8 et 75 ans. La tranche d'âge la plus touchée a été celle  $\leq 39$  ans (73,08%). Ceci peut s'expliquer du fait que cette tranche d'âge est superposable à celle de la population générale du Mali la plus atteinte par l'infection VIH selon EDS-III [17].

Coulibaly et *al.* (2005) [16] ont trouvé une moyenne d'âge de 39 ans  $\pm 8$  ans avec des extrêmes variants de 20 ans à 61 ans.

### **6-3- Caractéristiques cliniques et biologiques**

Sur le plan clinique les symptômes les plus fréquemment observés étaient marqués par les céphalées dans 80,8% des cas, suivi des troubles neurologiques et fièvres récentes respectivement 73,1% et 65,4% des cas chacun. La température moyenne était de 38,4°C et des extrêmes de 36,2° et 41 °C, l'asthénie dans 65,4% des cas, la courbature et l'asthénie dans 50% et 38,5% des cas respectivement suivi de vomissement 30,8% et diarrhée dans 11,5% des cas.

A Abidjan, Bissagnéné et *al.* (1994) [61] avaient trouvé 83,2% de malades fébriles avec une température moyenne de 38,7°C et des extrêmes de 37,6°et 41 °C.

A Ouagadougou, Ki-zerbo et *al.* (1995) [11] ont constaté que les céphalées étaient le signe le plus constant observé dans 100% des cas, suivi de la fièvre et les vomissements respectivement dans 85,7%, et 71,4% des cas.

Selon Tattevin et *al.* (1998) [15] une étude parisienne portant sur 76 cas de CNM chez les patients séropositifs pour le VIH, les céphalées étaient présentes dans 69% des cas (céphalées associées aux vomissements) et la fièvre dans 86% des cas.

Coulibaly et *al.*(2005) [16] dans leur série ont trouvé 85,7% des cas de céphalées et la fièvre dans 100% des cas avec une température moyenne de 38,6°C et des extrêmes de 37,8° et 39,8°C, des lésions cutanées chez 2 patients soit 14,3% des cas.

Dans notre série les signes cutanés ont été représentés chez 4 patients soit 15,4% des cas et les signes pulmonaires chez 3 patients soit 11,5% des cas. Ce qui explique une atteinte cutané et pulmonaire, signe de dissémination de l'infection.

Cette variabilité dans la symptomatologie de la maladie énoncée par différents auteurs peut être liée aux stades évolutifs.

Sur le plan biologique selon les données de la littérature, la Cryptococcose surviendrait à un stade d'immunodépression avancé ( $CD4 \leq 50$  cellules/mm<sup>3</sup>) [8].

Dans notre étude 21 patients avaient un taux de lymphocytes  $CD4 \leq 49$  cellules/mm<sup>3</sup> soit 80,77% des cas avec une médiane de 37,3/mm<sup>3</sup> et des extrêmes de 1 et 47cellules/mm<sup>3</sup>.

Et ces résultats nous ont permis de retenir l'effondrement du taux de  $CD4$  en dessous de 50 cellules/mm<sup>3</sup> comme facteur d'exposition à la survenue de la cryptococcose.

Coulibaly et *al.* (2005) [16] ont trouvé 12/13 patients qui avaient un nombre de lymphocytes  $CD4 < 100$  cellules/mm<sup>3</sup> avec une médiane de 32,1/mm<sup>3</sup> et des extrêmes de 1 à 81 cellules/mm<sup>3</sup>.

Notre étude ne s'est intéressée au volet cytochimie et bactériologie du LCR qui fait partie intégrante de l'étude des méningites à liquide clair.

L'aspect macroscopique du LCR était clair chez 16 patients dans notre série, trouble dans 6 cas et hémorragique chez les 4 autres. L'examen à l'encre de Chine a été positive chez 26/235 des patients et était spécifique dans 99,5%. A noter qu'au début de notre étude il n'était pas question de faire une mise en culture, raison pour laquelle 12 de nos prélèvements n'ont pas bénéficié de la culture. Mais la culture a été positive dans les autres cas (14/14 patients soient 100% des cas). Par contre, la recherche d'Ag soluble a été positive dans 96,15% des cas avec une spécificité de 99,04%. Un (1) cas de dissociation entre Latex et encre de Chine a été observé, et pourrait s'expliquer par une baisse du titre d'antigènes évoquant une réponse à la chimiothérapie. Cependant, chez les patients sous traitement, dans certains cas, le résultat du test peut rester positif à une faible concentration pour une période indéfinie durant laquelle la levure n'est plus présente.



#### **6-4- Aspects thérapeutiques et suivi des patients**

Sur le plan thérapeutique sept (7) de nos patients ont reçu un traitement antifongique avant la PL soit 26,9% des cas, et 2 patients étaient sous anti-tuberculeux. Ceci dénote l'installation d'autres opportunistes chez certains de nos patients tels que les candidoses et la tuberculose.

Dans notre série 13/26 patients étaient sous thérapie ARV. Cela nous a permis de conclure, qu'il n'y avait pas de lien entre le traitement ARV et la survenue de la CNM.

Sur le plan suivi : Au cours de notre étude 9 patients ont été suivis dont 4 décédés (2 décédés avant traitement et les 2 autres suite à une atteinte disséminée), et nous avons recensé un cas de rechutes.

Cela nous a permis de révéler un taux de mortalité de 44,4%. Ce taux reste légèrement au dessus de celui de Coulibaly et *al.* (2005) [16] dans leur série qui avaient trouvé un taux de mortalité de 42,8%.

## **CONCLUSION**

Au terme de notre étude, nous constatons que la cryptococcose neuro-méningée est une affection opportuniste assez fréquente au Mali avec une fréquence globale de 11,06% dans la population.

Cependant, son émergence est sans doute liée à la pandémie du VIH/SIDA, surtout quand le taux de lymphocytes  $CD4 < 100/mm^3$ .

La sévérité de son pronostic en terme de létalité pose le problème d'une meilleure prise en charge systématique de cette mycose au cours du Sida et nécessite aussi de rehausser le plateau technique des laboratoires de diagnostic.

## **RECOMMANDATIONS**

### **Aux Autorités sanitaires et Organismes internationaux de lutte contre le Sida :**

- ✓ De renforcer le plateau technique pour un diagnostic précoce et efficace de la Cryptococcose par le dosage de l'Ag Cryptococcique.
- ✓ Recycler le personnel médical et paramédical dans la prise en charge des patients atteints d'infections opportunistes au cours du VIH/SIDA.
- ✓ Etendre la recherche des opportunistes dans les hôpitaux régionaux.

### **Au Personnel médical :**

- ✓ D'assurer le transfert rapide et médicalisé des malades devant tout signe d'appel méningé dans un milieu spécialisé.
- ✓ Réaliser systématiquement la ponction lombaire (PL) devant tout tableau clinique de méningo-encéphalite fébrile ou non sur terrain d'immunodépression au VIH à la recherche de *C. neoformans* en dehors de toutes contre - indications.

### **Aux Chercheurs et aux responsables des laboratoires de diagnostic de routine :**

- ✓ De faire une urgence la communication des résultats de la ponction lombaire au médecin traitant.
- ✓ De poursuivre l'étude afin d'identifier les différents serotypes isolés au Mali.

## FICHE SIGNALÉTIQUE

**Nom :** SANGARE

**Prénom :** Abdoul Karim

**Nationalité :** Malienne

**Année de soutenance :** 2009 - 2010

**Ville de soutenance :** Bamako

**Titre :** Diagnostic de la Cryptococcose neuro-méningée à Bamako - Mali

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie, Bamako, Mali.

**Secteur d'intérêt :** Santé publique- Parasitologie-Mycologie-Epidémiologie

### Résumé :

Ce travail avait pour but de déterminer la fréquence de la Cryptococcose neuro-méningée chez les patients VIH dans le district de Bamako.

Pour pouvoir mener ce travail, nous avons réalisé une étude transversale de juillet 2007 à décembre 2009 et portant sur 235 patients, VIH/SIDA.

L'analyse des données a montré que le CHU du point G était le site qui avait le taux de fréquence le plus élevé 11,16% (24/215) et le CHU du Gabriel Touré avec 10% (2/20). Ainsi tous les patients positifs à la cryptococcose avaient un taux de lymphocytes TCD4+ < 200/mm<sup>3</sup>. Le sex-ratio 1,8 était en faveur des hommes, l'âge moyen était de 36 ± 8 ans et la température moyenne 38,4 °C.

A l'inclusion 50% des patients atteints de Cryptococcose étaient sous thérapie ARV et cela nous a permis de prouver qu'il n'y avait pas de lien entre l'instauration des ARV et la survenue de la Cryptococcose.

Cependant, au terme de ce travail, il ressort que la fréquence globale de la CNM devient de plus en plus élevée avec 11,06% comparativement aux études antérieures, et que l'effondrement du taux de lymphocyte CD4+ est en relation avec la survenue de la maladie.

**Mots clés :** Cryptococcose neuro-méningée, VIH/SIDA, LCR, Diagnostic, Mali.

## IDENTIFICATION SHEET

**Name:** SANGARE

**First name:** Abdoul Karim

**Nationality:** Malian      **Year of completion:** 2009-2010      **City of defense:** Bamako

**Title:** Diagnosis of cryptococcosis neuro-meningitis in Bamako - Mali

**Location of Repository:** Library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Odonto-Stomatology, Bamako, Mali.

**Focus Area:** Public Health-Mycolology-Parasitology-Epidemiology

### **Abstract:**

This work aimed to determine the frequency of cryptococcosis neuro-meningitis among HIV patients in the district of Bamako.

To conduct this work, we conducted a cross-sectional study from July 2007 to December 2009 and on 235 patients, HIV / AIDS.

Data analysis showed that the CHU point G was the site that had the highest frequency highest 11.16% (24/215) and the Gabriel Toure Hospital with 10% (2 / 20).

Thus all patients positive for cryptococcosis had a rate of CD4 lymphocytes 200/mm<sup>3</sup>. The sex ratio was 1.8 for men, average age was 36 ± 8 years and the average temperature 38.4 °C.

At baseline 50% of patients with Cryptococcosis were on ART and this allowed us to prove that there was no link between the introduction of ARVs and the occurrence of cryptococcosis.

However, after this work it appears that the overall frequency of the CNM becomes increasingly higher with 11.06% compared to previous studies, and that the collapse rate of CD4 + lymphocytes is related to the occurrence of disease.

**Keywords:** Cryptococcosis neuro-meningitis, HIV / AIDS, Diagnosis, ARVs, Mali.

## REFERENCES

- 1- **GARI-TOUSSAINT M, MONDAIN-MITON V** – Cryptococcose. *Encycl.Méd. Chir* (Elsevier, Paris), Maladie infectieuse, 8-613-A-10,1996; 7p.
- 2- **KATLAMA C**- Manifestations neurologiques au cours de l'infection à VIH. IN : Sida, infection à VIH : aspects en Zone tropicale. Ellipses/Aupelf, 1989; pp. 129-140.
- 3- **DIAMOND RD**- *Cryptococcus neoformans*. In: MANDELL GL, DOUGLAS RG & BENNETT JE (Ed) – Principles and practice of infectious diseases. 4<sup>th</sup> ed Churchill Livingstone, New York 1995; pp. 2331-2340.
- 4- **Steven L, Chuck D, Merle A, Sande MD**: Infections with *Cryptococcus neoformans* in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1989; 321: 794-9
- 5- **Kovacs JA, Kovacs AA, Plois M et al.**: *Cryptococcus* in the immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1987; 103: 533-8.
- 6- **Vittecoq D, May T, Roue RT, Stern M, et al.**: Acquired Immunodeficiency Syndrome after travelling in Africa: an epidemiological study in seventeen caucasian patients. *Lancet* 1987; 612-5.
- 7- **Coulaud JP**. Manifestations cliniques de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine VIH chez l'africain: comparaison des cas observés en Afrique et en Europe. *Med Trop* 1988 ; 48 (4) : 327-35.
- 8- **GARI-TOUSSAIN M, MONDAIN-MITON V**. Cryptococcose. In *Encycl. Med Chirur : Maladies infectieuses*, 1998.
- 9- **Lamey B, Melaneka N** : Aspects cliniques et épidémiologiques de la Cryptococcose à Kinshasa, Zaïre. *Med Trop* 1982 ; 42 : 507-11.
- 10- **Mann JM, Francis H, Quinn T et al.**: Sureveillance for AIDS in Central African city, Kinshasa, Zaïre. *JAMA* 1986 ; 255 : 3252-5.
- 11- **KI-ZERBO G, SAWADOGO A, MILLOGO et al.** La Cryptococcose neuroméningée au cours du SIDA : étude préliminaire à l'hôpital de Bobo Dioulasso (Burkina Fasso) *Médecine d'Afr.Noire* : 1996 ; 43(1).
- 12- **Soumare M, Seydi M, Ndour CT et al.** : Profil épidémiologique, clinique et étiologique des affections cérébro-méningées observées à la clinique des maladies infectieuses du CHU de Fann à Dakar. *Med Mal Inf.* 2005 ; 35 : 383-9.
- 13- **EHOLIE S P, ADOU-BRYNH D, DAMOUA K, KAKOU A, EHUI E, GOUAMENE A, BONNARD D, MAOUSSI E, KADIO A**. Méningites lymphocytaires non virales de l'adulte à Abidjan (Cote d'Ivoire). *Bull Soc Pathol. Exot* 2000 ; 93 : 50-54.
- 14- **SOWS PS, DIOP B M, DIENGY et coll.**- Cryptococcose neuro-méningée au cours de l'infection à VIH à Dakar. *Med Mal Infect* 1998 ; 28 : 511-515
- 15- **TATTEVIN P, VITTECOQ D**. La Cryptococcose : mise au point. *La lettre de l'infectiologue* 1998 ; XIII, 1.

- 16- Drissa, C.** Cryptococcose neuroméningée à l'Hôpital du Point G, Bamako, Mali. Thèse, de Méd, FMPOS, 2005 ; 38.
- 17- MIERET S.** Profil étiologique clinique et pronostique de la méningite lymphocytaire à l'Hôpital National du Point « G ». Thèse, de Med, Bamako, 2003 ; 7.
- 18- BOUREE P, THULLIEZ.** Cryptococcose. Encycl Med Chir (Paris), Mal Infect, 8-127-A-10-1985 ; 5p.
- 19- KATLAMA C.** Manifestations neurologiques de l'infection à VIH. Edit Tech Enccl Med Chir (Paris), Neur, 17-051-B10, 1993 ; 8p.
- 20- GARGANI G, PINI G.** Caractères mycologiques et sensibilité aux antifongiques des souches de *Cryptococcus neoformans* isolées de patients atteints du SIDA ou d'autres provenances. J Mycol Med 1992; 140-3.
- 21- GIRARD P M, KATLAMA Ch, PIALOUX G.** Cryptococcose. In SIDA 1998; 510: 231-4.
- 22- PAL M, MEPROTRA B S.** Studies on the isolation of *Cryptococcus neoformans* from fruits and vegetables. Mycosen 1984 ; 28 : 200-5.
- 23- SWINNE D, TOULMAN H, BATUNG WANAYO J et al.** Contribution à l'étude de l'écologie de *Cryptococcus neoformans* en Afrique centrale. Med Trop 1994; 54: 53-5.
- 24- BRIAN P, CURRIE and CASADEVALL A.** Estimation of prevalence of cryptococcal infection among patient infected with the HIV in New-York city. Clin Infect Dis 1994; 19: 1029-33.
- 25- CHEN S, SORREL T, NIMMO G, SPEED B, CURIE B, ELLIS D et al.** Epidemiology and host and variety dependent characteristics of infection due to *Cryptococcus neoformans* in Australia and New Zeland. Clin Infect Dis 2000; 31: 499-508.
- 26- LEVITZ S M.** The ecology of *Cryptococcus neoformans* and the epidemiology of cryptococcosis. Rev Infect Dis 1991; 13: 1163-9.
- 27- TERESA B, JOSE P M, TORRES R, YOLAND M, CONCEPTION A, LOPEZ O et al.** Serotyping of *Cryptococcus neoformans* isolates form clinical and environnemental sources in spain. J Clin Microbiol 1999 ; 1170-2.
- 28- KWON-CHUNG K J, SORREL T C, DROMER F, FUNG E, LEVITZ S M.** Cryptococcose: clinical and biological aspects. Med Mycol 2000; 38 (suppl 1): 205-13.
- 29- DROMER F, AUCOUTURIER P, CLAUVEL J P, SAIMOT G, YENI P.** *Cryptococcus neoformans* antibody levels in patients with AIDS. Scand J Infect Dis 1988; 20: 283-5.
- 30- LINDEN P, PASCULLE A W, KRAMEN D J, KUSNE S, MANEZ R, MONTECALVO M A et al.** Isolation of a nutritionally aberrant shain of *Cryptococcus* from a patient whith AIDS. Clin Infect Dis 1995; 21: 1512-3.

- 31- LEVITZ S M, FARREL T P, MAZIARY R T.** Killing of *Cryptococcus neoformans* by human peripheral blood mononuclear cells in culture. J Infect Dis 1991; 163: 1108-13.
- 32- FEIGIN D S.** Pulmonary cryptococcosis: radiologic pathologic correlate of three forms. AJR 1983; 141: 1263-72.
- 33- DIAMOND R D, BENNET J E.** Pronostic factors in cryptococcal meningitis. A study of 111 cases. Ann Intern Med 1974; 80: 176.
- 34- DRIVER J A, SAUNDERS C A, HEINZE L B, SUGAR A M.** Cryptococcal pneumonias in AIDS: is cryptococcal meningitis preceded by clinically recognizable pneumonias. A J Acquir Immuno defic syndr Hum Retrovirol 1995; 1 (2) 168-71.
- 35- The American Foundation For AIDS Research.** (AMFAR): Cryptococcal meningitis. 2003; (1), 2, 392: 1999-2001.
- 36- KWON-CHUNG K J, SORREL T C, DROMER F, FUNG E, LEVITZ S M.** Cryptococcosis: clinical and biological aspects. Med Mycol 2000; 38 (suppl 1): 205-13.
- 37- DISMUKES W E.** Cryptococcal meningitis in patients with AIDS. J Infect Dis 1988; 157 (4): 624-628.
- 38- GUESBLOST M, GERBER O, VAILLAN P D, DRONSTER D.** Liquide céphalo-rachidien quasi-normal chez des patients atteints du syndrome d'immunodéficience acquise et d'une méningite à cryptocoque. Rev Neurol (Paris) 1987 ; 143 : 290-293.
- 39- RABEAU Ch, LEGR Ch, GEORGES E, KURES L et al.** Cryptococcoses atypiques au cours de l'infection par le VIH. Med Mal Infect 1997; 27 : 1016-20.
- 40- CHABASSE D, GUIGUEN CI, CONTET N A.** Cryptococcose: in Mycol Med 1999; 161-5.
- 41- HERNANDEZ A D.** Cutaneous cryptococcosis. Dermatol Clin 1989; 7 : 269-74.
- 42- KUMAR R K, LYKK AWJ.** Disseminated cryptococcosis with ocular involvement. Aust N Z J Med 1979; 9 : 444-7.
- 43- ERIC D, SPITZAR S G, SPITZER L F, FREUMDLICH A C.** Persistence of initial infection in recurrent *Cryptococcus neoformans* meningitis. Lancet 1993; 341: 6.
- 44- BEHRMAN R E, MASCI J R, NIHOLAS P.** Cryptococcal skeletal infections: case report and review. Rev Infect Dis 1990; 12: 181-90.
- 45- CHUCK S L, SANDE M A.** Infection with *Cryptococcus neoformans* in the acquired immunodeficiency syndrome. N Eng J Med 1989; 321: 794-9.
- 46- RAPPELLI P, ARE R, CASU G, LUIGIFIORI P, CAPPUCCINELLI P, ACETI A.** Development of a nested PCR for detection of *Cryptococcus neoformans* in cerebrospinal fluid. J Clin Mic 1998; 3438-40.



- 47- CLARKA R A, GREER D, ATKINSON W et al.** Septum of *Cryptococcus neoformans* infection in 68 patients infected with human immunodeficiency syndrome. Rev Infect Dis 1990; 12: 768-77.
- 48- BERLIN L, PINCUS J N.** Cryptococcal meningitis: false negative antigen, test results and cultures in nonimmunosuppressed patients. Arch Neur 1989; 46: 1312-6.
- 49- DE GANS J, PORTEGIES P, TIESENS G, ECFTINCK SCHATLENKERT J K, VAN BOXTEL C J, VAN KETEL R J et al.** Itraconazole compared with amphotericin B plus flucytosine in AIDS patients with cryptococcal meningitis. AIDS 1992; 6: 185-90.
- 50- WILSON M A, KOZEL T R.** Contribution of antibody in normal serum of early deponition of C3 into encapsulated and non encapsulated *Cryptococcus neoformans*. Infect Immun 1992 ; 60 : 754-61.
- 51- BAZINC C.** Tuberculose du système nerveux central. Encycl Med Chir (Paris), Edit Tech, Neurologie, 17054 A10, 1992; 12p.
- 52- CIRELLI A, PALADINI A, GORI S, SCASSO A.** *Cryptococcus neoformans* infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome: clinical forms and therapeutic possibilities Abstract: Current therapeutic research 1993; 54: 1.
- 53- SAAG M S, GRAYBILL R J, LARSEN R A, PAPPAS P G, PERFECT J, POWDERLY W B, GOBEL J D et al.** Practice guideline for the management of cryptococcal disease. Clin Infect Dis 2000; 30: 710-8.
- 54- LARSEN R A, BAUER M, THOMAS A M, GRAYBILL J R.** Amphotericin B and Fluconazole, a potent combination therapy for cryptococcal meningitis. Antimicrobial Agents Chemother 2004; 48: 985-91.
- 55- DING J C, BAUER M, DIAMOND D, LEAL M A, JOHNON D, WILLIAMS B K et al.** Effect of severity of meningitis on fungical activity of flucytosine combined with fluconazole in a murine model of cryptococcal meningitis. Antimicrob agent Chemother 1997; 41 (7) 1589-93.
- 56- VAN DERHOST C, SAAG M, CLAUD G et al.** Randomized double blind comparison of amphotericin B plus flucytosine to Ambalon, followed acute cryptococcal meningitis in patients with AIDS. (Abstract) 1216.35th ICAAC Sans Francisco 1995.
- 57- VALERO G, GMAYBILL J.** Successful treatment of cryptococcal meningitis with amphotéricin B colloidal dispersion: report of four cases. Antimiero ag and chemo 1995; 2588-90.
- 58- CASTANON-OLIVARES L R, LOPEZ-MARTINEZ R, BARRIGA-ANGULO G, RIOS-ROSAS C.** *Cryptococcus neoformans var gattii* in an AIDS patient: first observation in Mexico. J Med V et Mycol 1997; 35 (1) : 57-9.
- 59- Méningite à Cryptocoques.** Impact Médecin Guide Infection à VIH 2001; 62p.

**60- BISSAGNENE E, SYLLA KOKO F, COULIBALY M et al.** Méningite à cryptocoque chez les malades atteints de SIDA en Côte d'Ivoire. *Med Afr Noire* 1989; 36 : 849-54.

**61- BISSANGNENE E, OUHON J, KRA O. et KADIO A.** Aspects actuels de la Cryptococcose neuroméningée à Abidjan *Med Mal Infect.* 1994; 24. (spécial) : 580-5.

## ANNEXES

### **Annexe 1**

#### **Examen direct à l'encre de Chine**

**Objet** : Cette procédure décrit les différentes étapes de diagnostique du LCR.

**Principe** : Ce diagnostic permet de rechercher les Cryptocoques (levures) dans le liquide céphalo-rachidien généralement chez les sujets immunodéprimés (notamment chez les Sidéens).

#### **Mode opératoire :**

- a. Centrifuger le LCR à 1500 pendant 5 mn
- b. Récupérer le surnageant dans un cryotube
- c. Déposer 1 goutte (15 $\mu$ l) du culot sur deux lames
- d. Déposer sur l'une des deux lames 1 goutte d'encre de Chine
- e. Recouvrir les deux lames avec de la lamelle
- f. Observer au microscope Optique à l'Objectif 10, 40 x

**NB** : le surnageant récupéré subira le test d'agglutination (Test au Latex).

**Résultats** : On observe des levures bourgeonnantes de 4 à 6  $\mu$ m, capsulées (10-20  $\mu$ m), la capsule apparaissant en négatif par rapport au fond noir du à l'encre de Chine. Toute présence de Cryptocoques est pathogène, quelle que soit le nombre d'éléments.

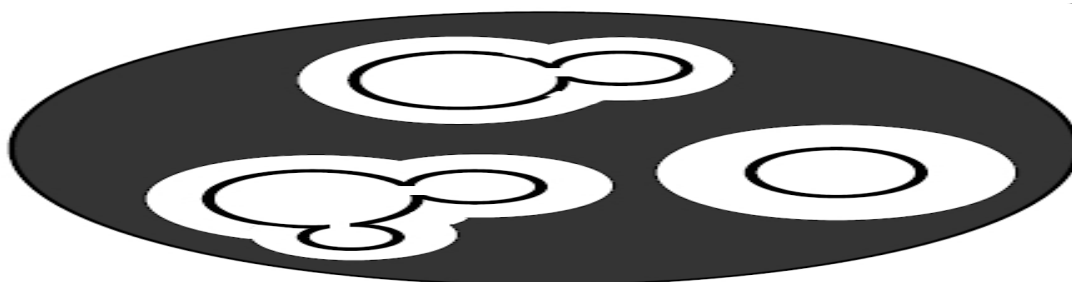


Fig6 : Représentation schématique de la levure de C. neoformans.

## **Annexe 2**

### **Test au Latex pour la mise en évidence des antigènes polysaccharidiques du *Cryptococcus neoformans* dans le sérum ou le liquide céphalo-rachidien**

**But** : Le test au Latex est un test immunologique rapide permettant la détection qualitative et quantitative des antigènes polysaccharidiques du ***Cryptococcus neoformans***, dans le sérum ou le liquide céphalo-rachidien.

**Principe** : Ce test est basé sur le principe de l'agglutination sur lame de particule de latex sensibilisés par des globulines de lapin anti-*Cryptococcus*.

Lorsque le réactif latex est mis en contact avec les antigènes polysaccharidiques de ***Cryptococcus neoformans*** contenu dans l'échantillon à analyser, il se forme un complexe antigène /anticorps conduisant à l'apparition d'une agglutination, visible à l'œil nu.

Le latex de contrôle, constitué de particules de latex sensibilisés avec des globulines de lapin normales, n'entraîne aucune agglutination des antigènes polysaccharidiques de ***Cryptococcus neoformans*** et permet donc d'éliminer les réactions non spécifiques.

#### **Matériels et Réactifs :**

- Réactif latex
- Latex de contrôle
- Diluant
- Contrôle positif (solution contenant des antigènes polysaccharidiques de ***Cryptococcus neoformans***)
- Contrôle négatif (origine animale)
- 2 plaques de verre à 10 puits
- Agitateurs à usage unique

- Notice d'utilisation

**Matériels nécessaires mais non fournis :**

- Micropipette délivrant 50µl
- Tubes à hémolyse
- Agitateur rotatif
- Conteneur pour déchets contaminés

**Stockage des réactifs :**

Les réactifs sont prêts à l'emploi. Ils doivent être stockés à +2° . . +8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret. Ne pas congeler.

**Recueil / Préparation / Conservation des échantillons :**

**Sérum :**

Utiliser du sérum fraîchement prélevé. Prélevé du sang sur tube stérile, sans anticoagulant. Laisser le sang coaguler à température ambiante (+21° . . +25°C) pendant 20 à 30 minutes Centrifuger à 1000 x g pendant 10 à 15 minutes ou jusqu'à ce que le surnageant soit clair et dépourvu de globules rouges. L'échantillon doit ensuite être versé dans un tube en verre ou en polyéthylène et fermé hermétiquement. Ne pas utiliser de plasma.

**Liquide Céphalo-rachidien (LCR)**

Utiliser un échantillon de LCR prélevé de façon aseptique selon les procédures en vigueur.

L'échantillon de LCR doit être clarifié par centrifugation à 1000x G pendant 10 minutes ou par filtration (filtre de 0,2 micron). L'échantillon clarifié doit ensuite être transvasé dans un tube en verre ou en polyéthylène et fermé hermétiquement.

- Avant d'être testés, les échantillons de sérum ou de LCR doivent être inactivés par chauffage (bain marie à 56°C) pendant 30 minutes.

- Ne pas utiliser d'échantillon hémolysé, lipémique, trouble ou contaminé.
- Les échantillons peuvent être conservés 24 heures à +2° . . +8°C. Si le test n'est pas effectué dans les 24heures qui suivent le prélèvement, ils doivent être congelés à -20°C. Il est recommandé de préparer des aliquotes pour éviter les congélations et décongélations successives.
- Si les échantillons doivent être expédiés, ajouter du thimérosal (à une concentration de 1/10 000<sup>ème</sup>), comme conservateur. Ils pourront alors être conservés à température ambiante (+18° . . +25°C) pendant 24 à 48 heures.

**Précautions d'utilisation :**

- Pour usage *in vitro*
- Pour usage professionnel uniquement.
- Ne pas utiliser de réactifs, de contrôle ni de diluant provenant de lots différents.
- Respecter l'instruction de la notice d'utilisation.
- Laisser les réactifs et les échantillons revenir à température ambiante avant d'effectuer le test.
- Agiter soigneusement le réactif latex et le latex de contrôle avant utilisation.
- En cas de versement accidentel de réactif, nettoyer le plan de travail à l'aide de papier absorbant et rincer avec de l'eau.
- En cas de versement de sérum ou de LCR, nettoyer à l'aide de l'eau de javel et de papier absorbant.
- Eviter tout contact de réactif avec la peau, les yeux, et les muqueuses.
- Ne pas ingérer.

- Les échantillons, les réactifs ainsi que le matériel et les produits contaminés seront éliminés dans un conteneur pour déchets contaminés, selon la recommandation et la réglementation en vigueur.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%). L'azide de sodium peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations pour former des composés explosifs. Il est donc recommandé de ne pas jeter les réactifs dans un évier sans rincer abondamment.
- Le réactif latex, le latex de contrôle positif et négatif contiennent du matériel d'origine animale. Par conséquent, ils doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés avec précaution.
- Entre chaque utilisation, rincer sous un filet d'eau chaude et désinfecter la plaque de verre à l'alcool isopropylique. Tout résidu lié à un test précédent pourrait entraîner des résultats erronés. Sécher à l'aide d'un papier absorbant. **Ne pas nettoyer à l'acide ni autoclaver la plaque en verre.**
- Veiller à éviter toute contamination des réactifs. ceci pourrait conduire à des résultats erronés. La présence d'un trouble dans le diluant et dans les contrôles positif et négatif peut indiquer leur détérioration.

### **Mode Opérateur :**

Laisser les réactifs et les échantillons revenir à la température ambiante avant l'utilisation.

### Technique Qualitative :

1. Déposer 50µl d'échantillon à analyser sur 2 des puits de la plaque de verre.
2. Déposer 50 µl de réactif latex préalablement homogénéisé dans le 1<sup>er</sup> puits contenant l'échantillon à analyser.
3. Déposer 50 µl de latex de contrôle préalablement homogénéisé dans le 2<sup>ème</sup> puits contenant l'échantillon à analyser.
4. A l'aide d'un agitateur à usage unique différent pour chaque puits, mélanger les solutions échantillon / latex et les étaler sur toute la surface du puits.
5. Placer la plaque de verre sur un agitateur rotatif pendant 10 minutes à température ambiante, à 160 tours / mn.
6. Observer immédiatement sous une source lumineuse et sur fond noir, la présence ou l'absence d'agglutination.

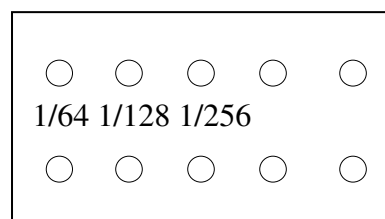
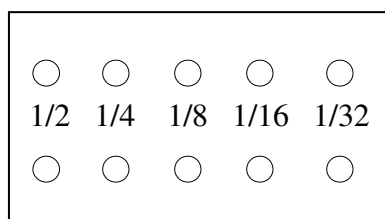
### Technique Quantitative

En cas de résultat positif du réactif latex ou du latex de contrôle et du réactif latex sur échantillon pur, il est possible d'évaluer le taux d'antigènes polysaccharidiques de ***Cryptococcus neoformans*** en testant des dilutions croissantes de l'échantillon à analyser, jusqu'à observation d'une réaction négative.

1. Préparer une série de dilution de l'échantillon du 1/2 au 1/256 dans le diluant.
2. Sur les rangs A et B, déposer 50 µl de chaque dilution sur 2 lames en suivant le schéma ci-dessous :

Rang A : Réactif latex

Rang B : Latex de contrôle





3. Ajouter : 50 µl de réactif latex dans les puits du rang A :

50 µl de latex de contrôle dans ceux du rang B :

Mélanger sur toute la surface des puits avec une baguette à usage unique.

4. Placer les plaques sur un agitateur rotatif (160 tours / min) pendant 10 minutes.

5. Observer immédiatement sous une source lumineuse et sur fond noir, la présence ou l'absence d'agglutination.

**Remarque** Si le titre trouvé est supérieur au 1/256 il est nécessaire de poursuivre les dilutions pour rechercher le titre d'agglutination limite.

### Lecture et Interprétation des résultats

Réactif latex	Latex de contrôle	Interprétation
-	-	<b>REACTION NEGATIVE</b>
-	+	► <b>Absence de <i>Cryptococcus neoformans</i></b>
+	-	<b>REACTION POSITIVE</b> Effectuer la technique quantitative (*)
+	+	<b>REACTION ININTERPRETABLE</b> A contrôler par la technique quantitative (**)

### Legende :

+ Agglutination franche du latex, visible à l'œil nu, avec éclaircissement du milieu.

- Absence d'agglutination, la solution reste homogène, laiteuse.

(\*) Cas du screening positif pour le réactif latex, à compléter par la technique quantitative.

- ⇒ Si la réaction est négative à la dilution  $\frac{1}{2}$ , le résultat doit être considéré comme douteux. Il est nécessaire de répéter l'examen 2 semaines plus tard, afin de déceler une éventuelle augmentation du titre en antigène.
- ⇒ Si la réaction est positive à la dilution  $\frac{1}{2}$ , voire au delà, il y a présence de ***Cryptococcus neoformans***.

(\*\*) Cas du screening positif pour les deux latex, à contrôler par la technique quantitative.

- ⇒ En cas d'agglutination du latex contrôle, le test est significatif de la Cryptococcose lorsque le titre obtenu avec le réactif latex est au minimum 4 fois supérieur à celui obtenu avec le latex contrôle (soit 2 puits d'écart).

**Exemple :** Réactif latex positif au 1/64

Latex de contrôle positif au 1/16

→ Présence de ***Cryptococcus neoformans***

Dans le cas contraire, le test est considéré comme douteux et doit être répété 2 semaines plus tard.

**Le titre de l'échantillon est donné par la plus grande dilution présentant une agglutination.**

#### **Contrôle de qualité interne :**

Chaque coffret **CRYPTO-LA TEST FUMOUIZE** contient des contrôles positif et négatif. Ils sont prêts à l'emploi et doivent être utilisés purs puis traités comme les échantillons à analyser. Ils permettent de valider le test. Le contrôle positif doit présenter une agglutination du réactif latex et une absence d'agglutination du latex de contrôle et le contrôle négatif une absence d'agglutination des deux latex. Si tel n'est pas le cas, le test n'est pas valide.

**Remarque :**

La présence d'antigènes cryptococcique dans des liquides corporels des patients non traités est l'indicateur d'une infection active. Chez des patients sous traitement, la baisse du titre d'antigènes est le signe d'une réponse à la chimiothérapie. Une stabilité du titre d'antigènes contenus dans les échantillons de sérum ou de liquide céphalo-rachidien suggère une thérapie inadaptée. Cependant, chez les patients sous traitement, dans certains cas, le résultat du test peut rester positif à une faible concentration pour une période indéfinie durant laquelle la levure n'est plus présente.

### **Annexe 3**

#### **La Culture**

**But** : Elle permet l'identification définitive de la levure et conduit au processus de la détermination du serotypes de la levure.

#### **Matériels utilisés**

- Deux (2) milieux de culture :

Milieu Sabouraud Chloramphénicol Actidione®

Milieu Sabouraud Chloramphénicol

- Sérum physiologique (sérum salé 0,9%)

- Pipette de transfert

- L'étuve

#### **Technique**

La culture est faite sur deux milieux respectifs.

Après l'examen à l'encre de Chine, on fait :

→ Diluer le culot LCR restant avec quelques gouttes (1 à 2) de sérum physiologique,

→ Couler la dilution sur la gélose des 2 milieux de culture à l'aide d'une pipette de transfert.

→ Garder les milieux à l'étuve à température 37°C.

La culture est positive généralement 48 heures après incubation.

Les cultures négatives au bout de 48 heures d'incubation doivent être gardées pendant 4 à 6 semaines (souches lentes).

**NB** : Seul le milieu de culture Sabouraud chloramphénicol sans actidione® permet la pousse de la levure.



Fig7 : Colonies de *Cryptococcus Spp* sur milieu Sabouraud sans actidione.

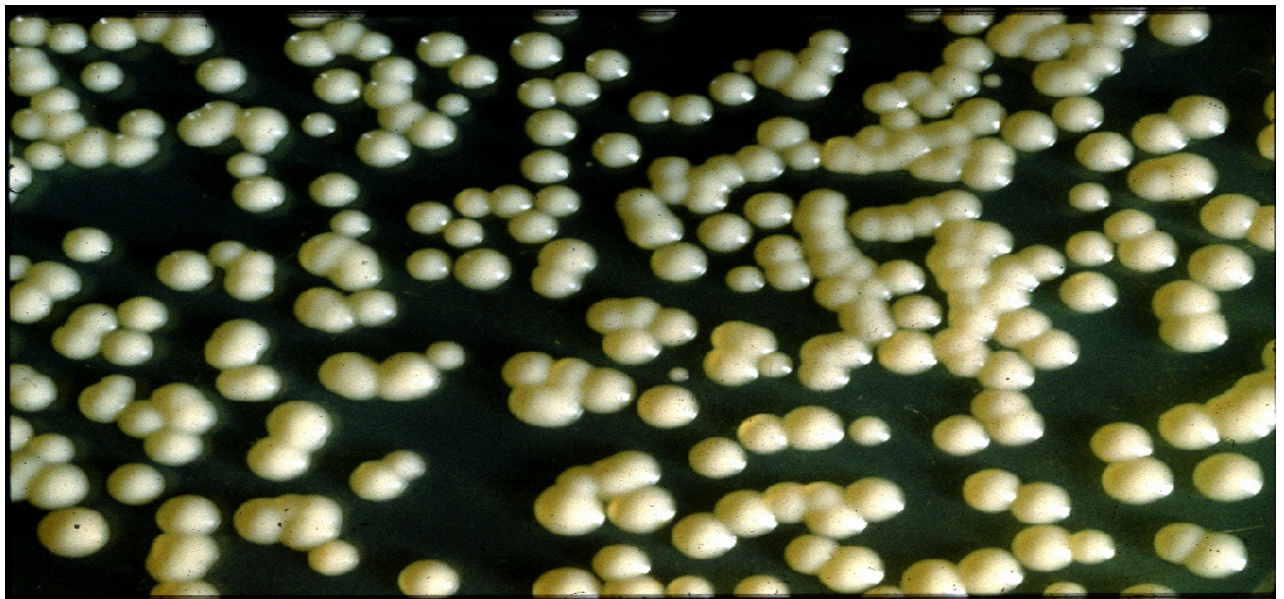


Fig8 : Aspect des colonies ⇒ crémeuses, à bords réguliers, coulantes, brillantes, blanchâtres de *Cryptococcus spp* à la culture.

## **SERMENT D'HIPPOCRATE**

En présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'être suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

**Je le jure.**

