

UNIVERSITE DE MONTPELLIER I

FAÇULTE DE PHARMACIE

IDENTIFICATION IMMUNOCHIMIQUE DES CANDIDA

PAR ANTICORPS POLYCLONAUX MONOSPECIFIQUES

Application au sérotypage de souches isolées
à Abidjan

T H E S E

présentée à la Faculté de Pharmacie de Montpellier pour obtenir le grade de
Docteur d'etat es Sciences Pharmaceutiques

par

Moussa KONE

Pharmacien

Assistant à la Faculté de Médecine d'Abidjan
Docteur de 3ème cycle de Parasitologie Tropicale
Certificat d'Etudes Spéciales de Diagnostic Biologique Parasitaire
Diplôme d'Etudes Approfondies de Parasitologie Tropicale

soutenue le 12 juillet 1985 devant la Commission d'Examen

JURY :	M.	J.M.	BASTIDE	Professeur Université de Montpellier I	-	Président
	M.	A.	RAMBAUD	Professeur Université de Montpellier I	-	
	Mme	I.	FOURASTE	Professeur Université de Montpellier I	-	Assesseurs
	M.	L.	EUZET	Professeur U.S.T.L. de Montpellier II	-	
	Mme	N.	LEGER	Professeur Faculté de Pharmacie, Reims	-	

HONORARIAT

Professeur M. MOUSSERON

M. DOLIQUE

M. JAULMES

M. SUSPLUGAS

M. GRANGER

M. RICHARD, Ancien Recteur

EMERITAT

Professeur SABON, Président honoraire de l'Université

DOYEN : Monsieur le Professeur ORZALESI

INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

DIRECTEUR : Monsieur le Professeur CHANAL

INSTITUT DES SCIENCES APPLIQUEES A LA PROTECTION DE L'HOMME

DIRECTEUR : Madame le Professeur BRUN

INSTITUT EUROPEEN DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES INDUSTRIELLES

DIRECTEUR : Monsieur le Professeur DELONCA

PROFESSEURS

M. ANDARY Claude	Botanique et Cryptogamie
M. ATTISSO Michel	Bactériologie et Biologie cellulaire
Mlle BARDET Lucette	Physique industrielle pharmaceutique
M. BALI Jean-Pierre	Biochimie
M. BASTIDE Jean-Marie	Immunologie, Virologie, Parasitologie
Mme BASTIDE Madeleine	Immunologie
M. BERLAN Jacques	Hématologie
M. BONNE Pierre	Physiologie
M. BONTOUX Jean	Hydrologie et Hygiène
M. BOUCARD Maurice, Doyen Honoraire	Pharmacodynamie
Mme BRUN Suzanne	Chimie analytique
M. CABANIS Jean-Claude	Chimie analytique

M. CASTEL Jean	Chimie thérapeutique
M. CHANAL Jean-Louis	Biophysique
M. CHAPAT Jean-Pierre	Chimie Organique Pharmaceutique
M. DELONCA Henri	Technique Pharmaceutique industrielle
M. DOREE Marcel	Pharmacodynamie
Mme FOURASTE Isabelle	Pharmacognosie
M. GELIS Christian	Biophysique
M. GRAS Georges	Toxicologie
Mlle HAMMELLE Geneviève	Toxicologie
M. HUGUET Robert	Biochimie
M. JACOB Maurice	Pharmacie Galénique
M. LALAUURIE Marc	Anatomie, Physiologie humaine
Mlle MANDROU Bernadette	Chimie analytique et Bromatologie
M. MARIGNAN Roger	Physique
Mlle MASSE Jacqueline	Chimie générale et minérale
M. MESTRES Robert	Chimie appliquée à l'expertise
M. ORZALESI Henri, Doyen	Chimie thérapeutique
M. PAU Bernard	Immunologie
M. PELLECUER Jacques	Pharmacognosie
M. PRIVAT Guy	Botanique et Cryptogamie
M. PUECH André	Pharmacie Galénique
M. RAMBAUD André	Hydrologie et Hygiène
M. ROSSI Jean-Claude	Chimie organique Pharmaceutique
M. SERRANO Jean-Jacques	Pharmacodynamie
Mme SIMEON DE BUOCHBERG Michèle	Bactériologie
Mlle SOLERE Maryse	Biochimie
Mme SOULIE Berthe	Bactériologie
Mme VAILHE Evelyne	Législation et Déontologie Pharmaceutique

MAITRES DE CONFERENCES

M. ALBEROLA Serge	Chimie Générale et Minérale
Mme ALLEGRINI Jeanine	Zoologie Parasitologie
Mlle ARNAVIEILHE BONY Marcelle	Biochimie
Mme ARTIS Anne-Marie	Pharmacie Chimique
M. AUDRAN Michel	Physique Pharmaceutique
M. AUSSEL Paul	Physique
M. BERGE Gilbert	Pharmacie Chimique
M. BONNET Pierre	Chimie organique
Mme BRES Jeanine	Chimie analytique et Toxicologie
Mlle BRESSOLLE Françoise	Chimie analytique et Toxicologie

Mme CASSANAS Geneviève	Physique Pharmaceutique
Mme CHARLOT Colette	Chimie Analytique et Toxicologie
M. CRASSOUS Jean-Claude	Chimie Organique
M. DARMANADEN Roland	Pharmacie Chimique
M. DURU Christian	Pharmacie Galénique
Mlle ENJALBERT Françoise	Botanique
M. ESCALE Roger	Chimie Organique
Mme FABREGUE Eliane	Physique industrielle Pharmaceutique
Mme FOURCADE Suzanne	Microbiologie
M. FRANCOIS Claude	Chimie Analytique et Toxicologie
M. FULCRAND Pierre	Pharmacie Chimique
Mlle GALEN Marie-Louise	Pharmacie Galénique Industrielle
M. GRIGNON Henri	Hygiène
M. GRIMMOPREZ Louis	Biochimie
Mme GUIBAL Jacqueline	Immunologie, Virologie
Mme ILLES Suzanne	Chimie Analytique et Bromatologie
M. JOACHIM Joseph	Pharmacie Galénique
Mme JOACHIM Gisèle	Pharmacotechnique
Mme MAILLOLS Hélène	Biophysique
Mme MAILLIE Michèle	Immunologie
M. MAURY Luc	Physique Industrielle Pharmaceutique
M. MILHAVET Jean-Claude	Chimie organique
M. MODAT Guy	Physiologie
Mme MONLEAUD Jacqueline	Pharmacie Galénique
Mme PASSET Jeanne	Pharmacie Industrielle
Mme PICOT Bernadette	Hydrologie et Hygiène
M. PROM Thuch	Biochimie
Mme RAMBAUD Joëlle	Chimie Générale et Minérale
Mme REMY HEINTZ Nicole	Biochimie
Mme RICHARD Anne	Botanique
M. ROBBE Yves	Chimie Organique Pharmaceutique
M. ROUSSEL Jean-Louis	Botanique
Mlle SABLAYROLLES Claire	Chimie Organique Pharmaceutique
M. SCHEIBER Dominique	Microbiologie
M. SUSPLUGAS Paul	Pharmacognosie
M. TEP Yutthay	Chimie Analytique et Toxicologie
Mme TEP Aline	Toxicologie
M. TEROL Alain	Chimie Générale et Minérale
M. TEULADE Jean-Claude	Chimie organique

MAITRES-ASSISTANTS

Mme BOURRET Evelyne	Physique Pharmaceutique
Mme CASTEX Françoise	Immunologie, Virologie, Parasitologie

Mme CAUSSE Colette	Chimie Appliquée à l'Expertise
Mlle FABRE Huguette	Chimie Analytique
Mme FRANCOIS Colette	Contrôle Pharmacodynamique des médicaments
Mlle GUENOUN Françoise	Pharmacie Galénique et Déontologie
Mme GUIBERT Marie-Sophie	Physique
Mme JANICOT Marguerite	Physiologie Pharmaceutique et Histologie
M. LASSERRE Yves	Pharmacie Galénique
Mme LIUTKUS Martine	Pharmacodynamie
M. RASCOL Jean-Pierre	Cryptogamie
M. UCCELLI Gérard	Pharmacodynamie
Mlle VIE Marie-Thérèse	Physique Pharmaceutique
Mme ZUCCARELLI Monique	Bactériologie, Zoologie.

D E D I C A C E S

A MON PERE ET A MA MERE,

Pour leurs conseils et leurs encouragements
Ils ont consenti pour moi beaucoup de sacrifices,
leur dévouement mériterait mieux que ce modeste
témoignage de mon infime reconnaissance et de ma
profonde affection.

A TOUTE MA FAMILLE,

Avec toute mon affection.

A MA FEMME EMILIE,

Je salue son courage et sa patience son soutien
fut capital.

Qu'elle trouve ici le témoignage de mon amour.

A MON FILS MALICK,

A MA BELLE FAMILLE,

A MES AMIS,

A MONSIEUR LE DOCTEUR DOUCHET,

DIRECTEUR DU CENTRE MURAZ DE BOBO-DIOULASSO.

Il nous a inspiré le travail de cette thèse et nous a donné toutes les facilités pour sa réalisation. Nous étions surtout impressionnés par ses grandes qualités humaines et combien notre joie était grande de travailler aux côtés d'un homme aussi passionné et passionnant. Pour son accueil, son aide matérielle et ses conseils, nous le remercions de tout coeur et nous l'assurons de notre profonde reconnaissance.

Son amitié et sa sympathie resteront pour nous un perpétuel stimulant intellectuel.

A TOUT LE PERSONNEL DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE
DE L'INSTITUT NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE D'ABIDJAN
ET EN PARTICULIER,

à Madame GELARD. Technicienne de Laboratoire, pour sa précieuse contribution à la réalisation de ce travail.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. ASSALE,

- CHEF DE SERVICE DU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE
DE LA FACULTE DE MEDECINE D'ABIDJAN.

Il nous a fait l'honneur de nous accueillir dans son service. Que la soutenance de cette thèse soit pour nous l'occasion de vous témoigner de notre reconnaissance pour vos conseils, vos encouragements, ainsi que votre extrême gentillesse.

A MADAME LE DOCTEUR M. FERLY-THERIZOL,

Qui nous a guidé, conseillé et aidé tout au long de l'élaboration de cette thèse.
En témoignage de notre gratitude et notre profond respect.

A L'ENSEMBLE DE L'EQUIPE DU LABORATOIRE DE PARASTIOLOGIE ET
DE BACTERIOLOGIE DE LA FACULTE DE MEDECINE D'ABIDJAN, ET PLUS
PARTICULIÈREMENT,

A Madame DOSSO Mireille, Monsieur le Docteur OUHON Jean,
Madame MANGLE, et à Monsieur ZOZAN Emile.

Pour leur gentillesse et leur aide.
Qu'ils trouvent ici le témoignage de notre sincère
amitié.

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THESE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR J.M. BASTIDE,

- PROFESSEUR D'IMMUNOLOGIE, VIROLOGIE ET PARASITOLOGIE
A LA FACULTE DE PHARMACIE DE MONTPELLIER.

Il nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de
cette thèse.

Notre séjour dans son service en tant que stagiaire, nous a
permis d'apprécier l'étendue de ses connaissances, la grandeur
de ses qualités humaines et la chaleur de son accueil,
En témoignage de notre respectueuse gratitude.

A NOS MAÎTRES ET JUGES,

MONSIEUR LE PROFESSEUR RAMBAUD ANDRÉ,

- PROFESSEUR D'HYDROLOGIE ET D'HYGIENE
A LA FACULTE DE PHARMACIE DE MONTPELLIER.

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger ce travail. Nous avons pu apprécier durant les quelques rencontres que nous avons eues, vos qualités de coeur.

Veillez croire à nôtre respectueuse reconnaissance.

MADAME LE PROFESSEUR FOURASTÉ ISABELLE,

- PROFESSEUR DE PHARMACOGNOSIE A LA FACULTE
DE PHARMACIE DE MONTPELLIER.

Vous avez tout de suite accepté de participer au Jury de cette thèse et chaque fois que l'occasion s'est présentée, vous n'avez pas hésité à nous prodiguer vos conseils et vos encouragements, nous vous en remercions infiniment et nous vous assurons de notre total dévouement et de notre profond respect.

MONSIEUR LE PROFESSEUR EUZET LOUIS,

- PROFESSEUR DE PARASITOLOGIE COMPAREE
A L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU
LANGUEDOC DE MONTPELLIER.

Nous vous remercions du grand honneur que vous nous avez fait en acceptant de juger cette thèse et nous vous assurons de notre profond respect.

MADAME LE PROFESSEUR LÉGER NICOLE,

- PROFESSEUR DE PARASITOLOGIE A LA FACULTE
DE PHARMACIE DE REIMS.

Vous nous avez initié à la Parasitologie. Vous nous avez toujours appris que cette matière occupe une place importante dans les pays comme le nôtre.

Pour votre enseignement de très grande qualité, vos conseils et vos encouragements, nous vous exprimons notre infinie gratitude, notre estime et notre amical souvenir.

S O M M A I R E

S O M M A I R E

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>I. - LES MÉTHODES IMMUNOCHIMIQUES APPLIQUÉES À LA CLASSIFICATION DES LEVURES</u>	3 - 21
1. - Détection immunochimique des antigènes cytoplasmiques solubles..	
1-1. l'analyse immunoélectrophorétique	
1-2. études immunoélectrophorétiques bidimensionnelles.	
2. - Détection immunochimique des antigènes pariétaux : la classification de Tsuchiya.	
<u>II. - LES METHODES DE DIAGNOSTIC DES LEVURES</u>	22
<u>A. - LES METHODES CLASSIQUES</u>	22-35
1. - Les caractères culturaux	
2. - Les caractères morphologiques	
2-1. formation de pseudomycélium ou de vrai mycélium.	
2.2. formation de chlamydo-spores	
2.3. blastèse	
3. - Caractères sexuels (ascospores, basidiospores)	
4. - Caractères physiologiques	
4.1. utilisation des sucres	
4.2. fermentation des sucres	
4.3. utilisation des composés azotés	
4.4. hydrolyse de l'urée.	

5. - Les autres caractères

- 5.1. résistance à la cycloheximide (actidione)
- 5.2. réduction du chlorure de Triphényl tétrazolium(C.T.T.)
- 5.3. Température d'étude
- 5.4. Pouvoir pathogène expérimental

B. - LES METHODES RAPIDES.....36 - 47

- 1. - Système API zymogramme et auxanogramme 20C
- 2. - Système API 20C auxanogramme
- 3. - The uni-yeast-Tek kit
- 4. - Mycotube Roche
- 5. - Nouveau Kit de l'Institut Pasteur
- 6. - Sérotypage : Candida Check Kit

III. - TRAVAUX PERSONNELS..... 48

A. - PREPARATION DES IMMUNSERUMS.....48 - 55

- 1. - Choix des animaux
- 2. - Choix des souches
- 3. - Préparation de la suspension antigénique
- 4. - Protocole et méthodologie d'immunisation des lapins.

B. - PREPARATION DES SERUMS MONOSPECIFIQUES.....56 - 99

- 1. - Principe
- 2. - Préparation du sérum anti 1
- 3. - Préparation du sérum anti 4
- 4. - Préparation du sérum anti 5
- 5. - Préparation du sérum anti 6
- 6. - Préparation du sérum anti 7
- 7. - Préparation du sérum anti 8
- 8. - Préparation du sérum anti 9

- 9. - Préparation du sérum anti 10
- 10. - Préparation du sérum anti 11
- 11. - Préparation du sérum anti 13
- 12. - Préparation du sérum anti 13 b
- 13. - Préparation du sérum anti 34

C. - UTILISATION DES ANTISERUMS PREPARES DANS L'IDENTIFICATION DES SOUCHES DE LEVURES100 - 112

D. - SEROTYPAGE DES SOUCHES DE CANDIDA ALBICANS RENCONTREES EN COTE D'IVOIRE.....113 - 122

E. - DISCUSSION 123

CONCLUSION 128

BIBLIOGRAPHIE..... 134

I N T R O D U C T I O N

Les levures sont des champignons qui se reproduisent asexuellement par des blastospores et sexuellement par des basidiospores ou ascospores et qui très fréquemment fermentent les sucres avec dégagement de CO_2 (146).

Dans le cadre de notre étude, nous nous intéresserons surtout au groupe des champignons imparfaits c'est-à-dire ceux dont les formes de reproduction parfaite ne sont pas connues. Dans ce groupe, nous nous limiterons plus précisément au diagnostic des levures du genre Candida et du genre Torulopsis.

L'identification précise d'une levure n'est pas toujours aisée. L'article de DOBY et Coll. (28) montre très bien les difficultés rencontrées dans l'identification des levures. En effet, pour une même souche de levure, 14 laboratoires de compétence reconnue ont attribué une dizaine de noms d'espèces appartenant à deux genres différents Candida et Torulopsis.

En pratique courante la distinction entre les levures du genre Candida et les levures du genre Torulopsis est basée sur la capacité de former du pseudomycélium pour les premiers et l'absence ou la formation de pseudomycélium rudimentaire pour les seconds (176)

A priori ces résultats discordants sur le genre ne devraient pas exister. LODDER et KREGER RIJ (90) admettent l'utilité de ce critère pour différencier le genre Candida du genre Torulopsis mais soulignent que la formation de pseudomycélium peut être affectée par des facteurs externes. Ce fait est mis en évidence par DOBY et Coll. (28) qui mentionnent que sur les 14 laboratoires ayant étudié la même souche, certains d'entre eux obtenaient des

résultats diamétralement opposés sur des milieux théoriquement identiques. Il se pose donc le problème de la standardisation des milieux d'isolement et des méthodes de travail, cela a fait l'objet d'un article paru dans le bulletin de la Société Française de Mycologie Médicale (10).

Pour le diagnostic des levures le laboratoire dispose de tout un arsenal de méthodes. La plupart d'entre elles font intervenir classiquement des caractères morphologiques et physiologiques, c'est avant tout la classification de LODDER. Cependant d'autres critères basés sur l'étude génétique et sur la structure antigénique et pariétale des levures permettent de préciser la taxonomie de certains genres et de certaines espèces. Dans ce travail, nous avons choisi pour l'identification des levures la méthode immunologique d'agglutination sur lame, pour sa rapidité, sa facilité d'exécution et pour les résultats satisfaisants obtenus par plusieurs auteurs.

Dans une première partie, nous nous intéresserons aux méthodes immuno-chimiques appliquées à la classification des levures, ensuite nous verrons dans une deuxième partie les méthodes de diagnostic des levures (méthodes classiques et méthodes rapides), et enfin dans une troisième partie nous ferons état de nos travaux personnels, travaux personnels qui ont trait à la préparation des sérums monospécifiques et à leur utilisation dans l'identification des principales levures d'intérêt médical.

I. - LES MÉTHODES IMMUNOCHIMIQUES APPLIQUÉES À LA CLASSIFICATION DES LEVURES

A côté des méthodes faisant intervenir les critères morphologiques, physiologiques et génétiques la taxonomie des levures est basée également sur l'étude de la structure antigénique soit des antigènes cytoplasmiques solubles soit des antigènes de la paroi des levures.

1. - Détection immunochimique des antigènes cytoplasmiques solubles.

1-1. l'analyse immunoélectrophorétique

En étudiant différentes espèces de Candida (Candida albicans, C.stellatoidea, C.tropicalis, C.zeylanoides, C.krusei, C.pseudotropicalis et C.macedoniensis) Biguet et Coll. (14-15) montrent l'hétérogénéité du genre Candida et l'existence de fractions antigéniques spécifiques à chaque espèce.

L'analyse immunoélectrophorétique rapproche C.stellatoidea, de C.albicans, permet de voir que C.tropicalis et C.albicans possèdent deux fractions spécifiques, que Candida zeylanoides contient 7 fractions majeures dont l'une semble particulière, que Candida krusei a une fraction mineure caractéristique, et que Candida macedoniensis et Candida pseudotropicalis ont un diagramme immunoélectrophorétique, avec une fraction spécifique que ne possèdent pas les autres Candida. L'étude immunoélectrophorétique des antigènes de C.robusta et de S.cerevisiae (cette dernière levure étant la forme ascosporee de la

précédente fait la preuve de leur étroite parenté antigénique (16) mais non de leur identité totale, (131-132) comme l'a montré les travaux de l'école Japonaise de Tsuchiya.

Ces remarques ont conduit les auteurs (15) à faire des rapprochements taxonomiques. Ainsi ils confirment la parenté antigénique de Candida macedoniensis et de Candida pseudotropicalis [parenté signalée par les auteurs Japonais utilisant la méthode sérologique d'agglutination (143)], le rapprochement sur le plan antigénique de Candida stellatoidea et de Candida albicans, à un moindre degré de Candida tropicalis et de C.zeylanoides, mais distinguent nettement ces deux espèces de C.krusei, C.macedoniensis et de C.pseudotropicalis.

Biguet et Coll.(15) pensent que sur le plan taxonomique, la méthode immunoélectrophorétique en mettant en évidence un plus grand nombre de fractions antigéniques, présente l'avantage de pouvoir séparer des espèces très proches antigéniquement, ce que ne peut pas toujours faire les méthodes explorant la structure pariétale des levures, c'est le cas de C. macedoniensis et de C.pseudotropicalis qui ont la même structure antigénique par la méthode d'agglutination de Tsuchiya et Coll.(143), mais qui diffèrent par les fractions antigéniques 47 et 48 par la méthode immunoélectrophorétique de Biguet et Coll.(15).

1-2. études immunoélectrophorétiques bidimensionnelles.

Des études d'immunoélectrophorèse bidimensionnelles appliquées à l'analyse des antigènes cytoplasmiques solubles a permis à Guinet et Coll.de comparer C. albicans sérotype A et B (Hansenclaver et Mitchell ont montré en 1961 (70) en utilisant des réactions d'agglutinations que C. albicans pouvait être divisé en 2 groupes :

C. albicans sérotype A et C. albicans sérotype B) et C. tropicalis. Cette méthode a permis de montrer la complexité des antigènes cytoplasmiques des levures (65 à 78 fractions antigéniques différentes), une meilleure séparation des composants antigéniques spécifiques à chaque espèce et à chaque sérotype de C. albicans et surtout elle a permis de montrer que C. tropicalis est plus proche antigéniquement du groupe A de C. albicans que du groupe B, et que C. albicans groupe A est plus proche du groupe B que de C. tropicalis (64, 65, 66, 67). Récemment l'équipe du Pr. Bastide (89 bis) a étudié la structure antigénique de C. albicans sérotype A par une nouvelle technique d'immunoélectrophorèse bidimensionnelle. Après la première séparation électrophorétique du mélange protéique, une quantité déterminée d'antisérum spécifique est déposée sur la couche d'agarose puis répartie uniformément à la surface à l'aide d'un film P.V.C. En utilisant cette technique l'équipe a pu révéler 77 arcs de précipitation sur la même plaque.

Cette technique a également permis de démontrer la présence de constituants antigéniques solubles d'origine pariétale dans les extraits cytoplasmiques solubles de C. tropicalis et ils ont montré que ces antigènes sont spécifiques de C. tropicalis (63-67).

Ces auteurs pensent que l'analyse immunologique en immunoélectrophorèse bidimensionnelle des antigènes pariétaux solubles peut permettre une nouvelle approche taxonomique des levures. Gabriel et Guinet (54) en utilisant l'immunoélectrophorèse bidimensionnelle ont étudié différentes activités enzymatiques (activité phosphatase acide, estérase alpha et bêta) sur les pics de précipitation. Ils ont étudié 10 espèces de Candida avec le sérum anti C. tropicalis et ont montré que l'estérase alpha est commune aux espèces étudiées, que la phosphatase acide est commune aux espèces dont le taux de GC % est voisin de celui de C. tropicalis et que l'estérase bêta est spécifique de C. tropicalis.

L'étude enzymatique des antigènes des levures en immun-
électrophorèse quantitative peut donc être utile dans la taxonomie
des levures.

2. - Détection immuno-chimique des antigènes
pariétaux : la classification de
Tsuchiya.

Les antigènes de surface des levures sont surtout consti-
tués de polysaccharides (120, 8). Plusieurs auteurs ont montré
que la structure pariétale des levures possède des propriétés anti-
géniques d'une grande valeur taxonomique (119-76, 6).

Fukazawa et Coll.(51) et Summer et Coll.(120) ont démontré
que ce sont les composants antigéniques de la paroi qui sont spé-
cifiques de sérotype A et B de C. albicans (Hasenclever (1961. a et
1961 b) a démontré que C.albicans répond à deux sérotypes A et B).

Déjà Benham en 1931 (12) en utilisant la réaction d'agglu-
tination en tube montrait des similarités antigéniques entre plu-
sieurs souches de Candida, et entre Willia anomala et Saccharomyces
cerevisiae, deux espèces produisant des ascospores, prouvant des
relations antigéniques entre 2 souches morphologiquement et cultura-
lement semblables. Il rapportait que les anticorps sériques peuvent
servir dans la distinction entre C. albicans et C.stellatoidea et
entre plusieurs espèces de levures.

Martin D.S. en 1942 (94), en utilisant le test d'agglutination avec des sérums de lapins hyperimmunisés, obtenait avec C. albicans et C. tropicalis des résultats qui ne montraient aucune différence antigénique entre ces deux espèces, il concluait que la réaction d'agglutination n'était pas fiable et ne devrait être utilisée que pour confirmer une identification par d'autres moyens.

D'autres chercheurs Jonsen, Thjotta, et Rash en 1953 (77) ont obtenu des résultats fiables et reproductibles avec l'agglutination. Les travaux les plus importants sur la réaction d'agglutination ont été effectués par Tsuchiya et Coll.(143-145) qui ont étudié plus de 140 espèces ascosporees et anascosporees et ont proposé un nouveau système de classification des levures basé sur les résultats sérologiques obtenus. Dans leur classification les auteurs ont tenu compte de certains caractères morphologiques (ascospores), de certains caractères biochimiques (fermentation et assimilation du glucose, du galactose, du saccharose, du maltose et du lactose, de l'assimilation du nitrate de potassium, de la présence d'uréase) et de la formation de pigments caroténoïdes (Tb I et II). Dans ce travail nous allons souvent nous référer aux tableaux I et II de Tsuchiya et Collaborateurs, qui ont trait à la structure antigénique de diverses espèces de levures étudiées. Le tableau I est celui publié en 1965 (143) et le tableau II celui publié en 1974 (145)..

Nous avons volontairement mis ces deux tableaux en annexe, à la fin du texte, pour permettre au lecteur de se retrouver facilement.

Dans cette classification les antigènes thermostables sont représentés en chiffre arabe et les antigènes thermolabiles en lettre alphabétique. Les noms d'espèces suivent la classification de LODDER. Les espèces analysées antigéniquement sont réparties en 5 groupes sur la base d'antigènes spécifiques à chaque groupe. Les 5 groupes se répartissent comme suit (Tab. III).

- Le groupe de Candida albicans appartenant à la sous-famille des Saccharomycetoideae de Tsuchiya et Coll, dans ce groupe on rencontre des espèces appartenant à la sous-famille des Saccharomycetoideae et à la sous-famille des Cryptococcoideae de LODDER.

- Le groupe de Schizosaccharomyces pombe appartenant à la sous-famille des Endomycetoideae de Tsuchiya mais également de LODDER.

- Le groupe des Sporobolomyces appartenant à la sous-famille des Sporobolomycetoideae de Tsuchiya et à la sous-famille des Sporobolomycetaceae de LODDER.

- Le groupe de Rhodotorula appartenant à la sous-famille des Sporobolomycetoideae de Tsuchiya et à la sous-famille des Cryptococcoideae de LODDER.

- Enfin le groupe de Cryptococcus neoformans qui comprend C. curvata et Torulopsis aerea appartenant à la sous-famille des Cryptococcoideae de Tsuchiya mais également de LODDER.

Il n'y a pas de réactions croisées entre les espèces des différents groupes, par conséquent les antigènes symbolisés

en chiffres arabes tels que les antigènes 1,2,3, etc... de C. albicans, de Schizosaccharomyces, de Rhodotorula, de Sporobolomyces et de Cryptococcus sont différents dans les 5 groupes même si les chiffres représentant les antigènes sont identiques.

Le groupe de C. albicans est divisé en 7 sous-groupes sur la base d'antigènes communs et spécifiques. Ces 7 sous-groupes ont en commun la présence de l'antigène 1 de C. albicans, l'absence d'uréase ; la répartition en sous-groupe se fait sur la présence d'antigènes spécifiques de sous-groupe tels que les antigènes 6,9,10,11,13,16,(18),24 et (28). Les antigènes entre parenthèses indiquent des antigènes qui existent en petite quantité et qui peuvent éventuellement manquer. Dans ce groupe de C. albicans on a les subdivisions suivantes. (voir tableaux I et II).

Groupe I : c'est le groupe de C. albicans proprement dit. Il est appelé Groupe Castellonia; mais chaque espèce garde son nom de genre reconnu par Lodder.

Groupe II : c'est le groupe Saccharomyces, il comprend 3 sous-groupes : le sous-groupe Saccharomyces proprement dit, le sous-groupe Hanseniaspora et le sous-groupe Kluyveomyces. Les antigènes spécifiques du groupe II sont les antigènes thermostables 8 et 10 et / ou 18, le sous-groupe Hanseniaspora est caractérisé en plus par l'antigène thermostable 28 et l'antigène thermolabile L ; le sous-groupe Kluyveomyces par les antigènes 28, 31, et a ou 28 et 32 ou 14 et 31. Le sous-groupe Saccharomyces par l'antigène 35.

Groupe III : c'est le groupe Pichia

Groupe IV : le groupe Mycocandida. Mais chaque espèce de ces deux groupes garde son nom de genre reconnu par Lodder. Ainsi, dans le groupe IV, C. parapsilosis ne s'appelle pas Myco-

Tableau III :
La classification des levures selon TSUCHIYA et Coll. (143).

Subfamily or Family (LODDER & KREGER-VAN RIJ)	Subfamily (TSUCHIYA, FUKAZAWA & KAWAKITA)	Group or Genus (TSUCHIYA et al.)	Group specific antigen	Species	Urease	"Starch"	Carotenoid	Pellicle	KNO ₃	Fermentation of sugars	Ascospores
Saccharo- mycetoideae	Pichia Group (III)	Pichia Group (III)	A1, 11	<i>P. membranaefaciens</i>	—	—	—	2+	±	±	RH
				<i>C. mycoderma</i> <i>T. inconspicua</i>	—	—	—	—	—	—	—
	Hansenula Gr. (VI)	Hansenula Gr. (VI)	A1, 16	<i>H. anomale</i>	—	—	—	+	2+	m	HS
				<i>C. pelliculosa</i> <i>T. utilis</i>	—	—	—	—	—	—	—
Saccharo- mycetoideae	Debaryomyces Gr... (V)	Debaryomyces Gr... (V)	A1, 9	<i>D. hansenii</i> , <i>C. guilliermondii</i> <i>T. jamata</i>	—	—	—	(+)	±	w	Rw
				<i>Mycocandida</i> Gr... (IV)	<i>Mycocandida</i> Gr... (IV)	A1, 13	<i>C. parapsilosis</i> <i>H. holstii</i> <i>T. ernobii</i>	—	—	—	—
Cryptococ- coideae	Castellania Gr... (I)	Castellania Gr... (I)	A1, 6	<i>S. exiguus</i> <i>C. albicans</i> <i>T. holmii</i>	—	—	—	—	—	m	R
Sacchar- mycetoideae	Saccharomyces Gr... (II)	Saccharomyces Gr... (II)	A1, 10	<i>S. fragilis</i> <i>C. pseudotropicalis</i> <i>T. sphaerica</i>	—	—	—	—	±	s	RK
				Torulasporea Gr... (VII)	Torulasporea Gr... (VII)	A1, 24	<i>S. rosei</i> , <i>T. colliculosa</i> <i>T. stellata</i>	—	—	—	—
Endomycet- oideae	Endomycet- oideae	Schizosaccha- romyces	S1	<i>Schiz. pombe</i> <i>C. lipolytica</i> <i>T. bacillaris</i>	+	±	—	—	—	w	R
Sporobolo- mycetaceae	Sporobolo- mycetaceae	Sporobolo- myces	R1	<i>Sp. salmonicolor</i> <i>Sp. odorus</i>	+	±	+	—	(+)	—	B
			R4	<i>Sp. gracilis</i>	+	±	+	—	—	—	—
Cryptococ- coideae	Sporobolo- mycetoideae	Rhodotorula	R1	<i>R. glutinis</i> <i>R. mucilaginoso</i>	+	±	+	—	(+)	—	—
			R4	<i>R. minuta</i> <i>R. pallida</i>	+	±	+	—	—	—	—
Cryptococ- coideae	Cryptococ- coideae	Cryptococcus	C1	<i>Cr. neoformans</i> <i>C. curvata</i> <i>T. aevia</i>	+	2+	—	—	(+)	—	—

A1, S1, R1, R4 and C1 mean antigen 1 or 4 of *C. albicans*, *Schiz. pombe*, *R. glutinis*, *R. minuta* and *Cr. neoformans*, respectively. R, H, S, Rw, K mean round, hat-, saturn-shaped, round and warty or kidney like ascospores, respectively. B means ballistospores, and w, m, s mean weak, moderate or strong fermentation reaction.

candida parapsilosis.

Groupe V : il désigne le groupe Debaryomyces

Groupe VI : le groupe Hansenula

groupe VII : le groupe Torulospira

Cette classification appelle plusieurs remarques ; on constate que les genres Geotrichum et Trichosporon ne sont pas classés. selon les auteurs, ces genres présentent des formes trop compliquées pour intervenir dans cette classification. Au cours de notre travail nous avons remarqué que les souches de ces deux genres étaient souvent autoagglutinables, c'est peut-être également une autre raison qui a amené les auteurs à ne pas les utiliser dans leur classification ; d'autre part on remarque que chaque groupe ne renferme pas forcément des espèces d'un même genre. Si l'on prend le groupe III de C. albicans, c'est-à-dire le groupe Pichia, on rencontre bien entendu des espèces du genre Pichia, mais également des espèces du genre Candida, du genre Hansenula et du genre Torulopsis.

Quelles sont les relations entre les structures antigéniques et les caractères morphologiques et biochimiques des espèces classées ?

a) Les espèces sérologiquement identiques, malgré des différences dans leur morphologie et leurs caractères biologiques sont classées dans le même groupe. Deux cas se présentent :

- Les espèces ascosporeuses et les espèces asporogènes correspondantes sont classées dans le même groupe. A quelques exceptions près, il a été confirmé que toutes les espèces asporogènes sont sérologiquement identiques aux espèces ascosporeuses correspondantes. Ainsi, Pichia Pijperi est sérologiquement identique à C. solani, le premier étant la forme parfaite de la seconde,

de même, Pichia kudriavzevii et C. krusei ont la même structure antigénique, Pichia kudriavzevii étant la forme parfaite de C. krusei (100-143).

Jones et coll. (76) ne partagent pas ce point de vue, ils démontrent en utilisant la réaction d'agglutination en tube, que les levures ascosporigènes possèdent des antigènes qui n'existent pas dans les levures asporogènes correspondantes et vice versa, et ils donnent l'exemple de Kloeckera apiculata qui est la forme asexuée de Hanseniaspora valbyensis mais est sérologiquement distincte. Tsuchiya et coll. (143), en utilisant la même méthode d'agglutination mais sur lame, ont démontré que ces deux espèces ont la même structure antigénique (Tb I).

Des espèces présentant des différences dans la formation de pseudomycélium et / ou de vrai mycélium mais ayant des structures antigéniques semblables sont classées dans le même groupe. Ainsi Torulopsis sake et C. tropicalis antigéniquement identiques appartiennent au groupe Castellania (Tb I).

De même C. robusta et Saccharomyces cerevisiae qui ont les antigènes thermostables 1, 2, 3, 10, 14, 18 et 31 et les antigènes thermostables a et e appartiennent au même groupe, le groupe II de Saccharomyces.

b) **Des espèces qui possèdent des structures antigéniques** et des caractères biologiques qui les rapprochent des espèces de genre différent sérologiquement sont transférées dans ce genre. Ainsi, C. curvata, C. humicola, Torulopsis aerea qui hydrolysent l'urée, assimilent l'inositol et synthétisent l'amidon sont plus étroitement apparentées sérologiquement à Cryptococcus neoformans qu'à d'autres espèces du genre Candida ou du genre Torulopsis. Elles font partie du groupe de Cryptococcus neoformans

c) Des espèces qui sont identiques ou étroitement apparentées biochimiquement, mais différentes sérologiquement sont considérées comme des espèces différentes.

Ainsi Saccharomyces chevalieri et Saccharomyces fructuum considérées comme des synonymes, Saccharomyces bisporus et S. mellis, S. carlsbergensis et S. uvarum acceptées comme des variétés, sont considérées comme des espèces différentes vue leur structure antigénique.

Cependant, Tsuchiya et coll. (145) admettent que S. uvarum et S. logos soient fusionnées en une seule espèce en regard de leur structure antigénique (S. logos et S. uvarum étant considérées comme des synonymes par Lodder (90)). Ces résultats sont corrélés par le spectre PMR des polysaccharides de ces espèces (61)

d) Lorsqu'une espèce d'un genre donné est plus étroitement apparentée antigéniquement à plusieurs espèces d'un autre genre, cette espèce est transférée dans cet autre genre. Exemple : Pichia vini, du genre Pichia au lieu de faire partie du groupe III c'est-à-dire celui de Pichia, appartient au groupe Debaryomyces, où les espèces lui sont antigéniquement plus proches.

e) Les espèces ayant deux antigènes spécifiques de groupe sont classées en tenant compte d'autres critères.

Exemple : C. intermedia a deux antigènes spécifiques de groupe : l'antigène 6 spécifique du groupe I (groupe Castellania) et l'antigène 24 spécifique du groupe VII Torulasporea. Candida intermedia a été rangé dans le groupe VII compte tenu de la présence de l'antigène 24, et du taux en GC du D.N.A qui est en rapport avec les autres espèces de ce genre. Mais les auteurs font remarquer que le spectre PMR des polysaccharides de l'espèce Candida intermedia ressemble à la fois à celui des espèces du groupe I et VII.

Cet exemple démontre bien qu'une classification pour être acceptable doit tenir compte de plusieurs critères qui doivent se recouper.

f) Identification sérologique des espèces difficiles à identifier par les caractères biochimiques.

Van Der Walt J.P dans <<the yeast>> 1971 (147) mentionne que Saccharomyces vafer qui de par la fermentation de certains sucres ressemble à Saccharomyces exiguus et Saccharomyces chevalieri est considérée comme très voisine de Saccharomyces delbrueckii, Saccharomyces microellipsodes et Saccharomyces pretoniensis. De même Saccharomyces dairensis ressemble à Saccharomyces unisporus, Saccharomyces delbrueckii, Saccharomyces globosus etc...

Saccharomyces delbrueckii ressemble à Saccharomyces unisporus, Saccharomyces dairensis, Saccharomyces globosus etc.: et est considérée comme très apparentée à Saccharomyces vafer. Quant à Saccharomyces rosei elle est étroitement apparentée à Saccharomyces inconspicuus et à Saccharomyces fermentati.

Van Der Walt J.P (147) considère Saccharomyces delbrueckii comme une espèce métastable difficile à classer .

Kudriavrev cité par Lodder (90) dans sa description de plusieurs espèces du genre Saccharomyces mentionne que certaines souches changent leur propriété d'assimilation et de fermentation après culture prolongée sur des milieux renfermant certains sucres, elle acquièrent la capacité d'assimiler et même de fermenter les sucres avec lesquels elles sont en contact. De telles souches sont difficiles à classer.

Tsuchiya et coll.après analyse de la structure antigénique de Saccharomyces delbrueckii, Saccharomyces vafer,

Classification sérologique de diverses espèces de levures très proches sur le plan taxonomique, d'après TSUCHIYA et Coll.(145).

Species labelled	Group	No. of strains	Ascospores	Pseudomycelium	Fermentation and assimilation					Antigenic structure	Serological identification (in 1964 or 1973)	Species after 1970 (van d. Walt)
					Glucose	Galctose	Tyucrose	Maltose	Lactose			
<i>S. delbrueckii</i>	1	9	-	-	+	+	-	-	-	3,4,4,6,10,23	<i>S. delbrueckii</i>	<i>S. unisporus</i> T.
	2	3	+	-	+	+	-	-	-	3,4,5,6,10,23	<i>S. delbrueckii</i>	<i>S. unisporus</i>
	3	1	-	-	+	+	-	-	-	3,4,5,6,10,26	<i>S. exiguus</i>	<i>S. dairensis</i>
	4	1	-	-	+	+	-	-	-	3,4,24	<i>S. roseu</i>	<i>S. delbrueckii</i>
	5	3	-	-	+	+	+	-	-	3,4,24	<i>S. rosei</i>	<i>S. delbrueckii</i> T.
<i>S. exiguus</i>	6	6	-	-	+	+	+	-	-	3,4,5,6,10,26	<i>S. exiguus</i>	<i>S. exiguus</i> T.
	7	3	-	-	+	+	-	-	-	3,4,5,6,10,23	<i>S. delbrueckii</i>	<i>S. unisporus</i>
	8	1	-	-	+	+	+	-	-	3,4,24	<i>S. rosei</i>	<i>S. vafer</i> T.
<i>S. rosei</i>	9	11	-	-	+	-	+	-	-	3,4,24	<i>S. rosei</i>	<i>S. rosei</i> T.
	10	1	+	+	+	+	+	+	-	2,3,10,14,18,31,a,e,	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>
<i>S. fermentati</i>	11	1	-	-	+	-	+	+	-	3,4,24	<i>S. rosei</i>	<i>S. fermentati</i>
<i>S. uniporus</i>	12	3	-	-	+	+	-	-	-	3,4,5,6,10,23	<i>S. uniporus</i>	<i>S. uniporus</i>
<i>S. exiguus</i>	13	1	-	-	+	+	+	-	-	3,4,5,6,10,26	<i>S. exiguus</i>	<i>S. exiguus</i>
<i>S. dairensis</i>	14	2	+	-	+	+	-	-	-	3,4,5,6,10,26	<i>S. exiguus</i>	<i>S. dairensis</i>
<i>S. vafer</i>	15	1	+	-	+	+	+	-	-	3,4,24	<i>S. rosei</i>	<i>S. vafer</i>
<i>S. rosei</i>	16	2	-	-	+	-	+	-	-	3,4,24	<i>S. rosei</i>	<i>S. rosei</i>
<i>S. inconspicuus</i>	17	2	-	-	+	-	+	-	-	3,4,24	<i>S. rosei</i>	<i>S. inconspicuus</i>
	18	1	-	-	+	-	-	-	-	3,4,24	<i>S. rosei</i>	<i>S. inconspicuus</i> ^T

Saccharomyces inconspicuus , Saccharomyces fermentati et Saccharomyces rosei, indiquent que ces espèces sont très voisines, voire identiques (135-139-142-145).

Ces résultats sont confirmés par le spectre PMR des polysaccharides et du contenu en GC des chaînes d'A.D.N de ces différentes espèces (61). Les auteurs proposent que ces espèces soient considérées toutes comme des représentantes de Saccharomyces rosei, et pensent que la capacité d'assimilation et de fermentation des sucres ne convient pas à la distinction des espèces du genre Saccharomyces.

Discussion :

Dans la classification de Tsuchiya, C. albicans sérotype B n'ayant pas l'antigène 6 spécifique du groupe Castellania n'aurait pas dû figurer dans ce groupe.

Les travaux de Poulain (107) indiquent que des sérums de lapins infestés par des souches de C. albicans de sérotype B ont encore une réactivité anti-sérotype A même après adsorption poussée avec des souches homologues ou hétérologues de sérotype B. Ainsi des antisérums spécifiques du sérotype B totalement adsorbés par des blastospores de la souche homologue continuent de réagir avec des blastospores de souches de C. albicans sérotype A et de Candida tropicalis ainsi qu'avec les formes parasitaires des souches de sérotype B recueillies in vivo. Un tel antisérum réagit également avec des tubes germinatifs émis in vitro par des blastospores de sérotype B alors que les cellules-mères sont dépourvues de cette propriété. Mais quand ces antisérums étaient adsorbés par des souches de sérotype A ils perdaient leur réactivité anti-Candida albicans.

Ces observations suggèrent que les cellules de Candida albicans sérotype B dans certaines conditions et à un moment donné de leur cycle cellulaire sont susceptibles d'exprimer in vitro et in vivo des antigènes jusqu'ici considérés comme spécifiques du sérotype A. Autrement dit, les travaux de Poulain démontrent que C. albicans sérotype B dans certaines conditions, soit synthétise soit laisse apparaître un antigène 6 spécifique du sérotype A. Ceci montre bien que les sérotypes A et B de Candida albicans ne peuvent être dissociés, réconfortant ainsi la position taxonomique de C. albicans B dans le groupe de Castellania de Tsuchiya.

De même l'étude de la pathogénicité chez le lapin des sérotypes A et B de C. albicans, montre que ces deux sérotypes ont le même pouvoir pathogène (72). D'autre part, les travaux de Poulain (106) montrent que les levures fraîchement isolées sont plus réactives en Immunofluorescence indirecte (IFI) que les levures entretenues par cultures depuis plusieurs mois au laboratoire, cette différence de réactivité est due à la présence chez les levures fraîchement isolées d'antigènes dénommés P. Ces antigènes sont susceptibles de disparaître au moins en partie quand les souches sont entretenues in vitro par repiquage successifs. Ils arrivent à la conclusion que les variations de structure pariétale observées pourraient provenir d'un phénomène de compétition entre les clones riches et pauvres en antigènes P. Les premiers se dével. oppant préférentiellement dans les tissus de l'hôte et les seconds lorsque C. albicans est cultivé in vitro (104-105). Les auteurs ont démontré que ces antigènes P sont plus abondants chez les souches ayant l'antigène 6 telles que Torulopsis glabrata et C. tropicalis et que les sérums de lapins infestés

avec des souches de sérotype B, réagissaient plus fortement avec de telles souches, qu'avec les souches homologues de C. albicans ayant servi à l'inoculation.

Ces observations ont des implications sur le diagnostic sérologique des candidoses. En effet, si une souche de levure a la capacité d'exprimer in vivo des antigènes différents de ceux trouvés dans la souche in vitro, cela peut entraîner une identification erronée.

Les travaux de Guinet (63) montrent que des anti-sérums de lapins préparés par inoculation de parois purifiées de C. tropicalis révèlent en immunoélectrophorèse bidimensionnelle des antigènes pariétaux présents dans les extraits cytoplasmiques solubles de C. tropicalis. Tout se passe comme si des antigènes pariétaux induisaient la fabrication par le lapin d'anticorps contre les constituants cytoplasmiques de la levure.

Des résultats analogues ont été obtenus par Hasenclever et coll. (71) qui ont observé que l'adsorption d'un antisérum anti- C. stellatoidea avec des suspensions de cellules entières de C. stellatoidea ou de C. albicans B ne supprime pas toutes les propriétés agglutinantes de ce sérum contre C. albicans groupe A ou C. tropicalis mais cette adsorption supprime toutes les propriétés agglutinantes contre les souches homologues et les souches de C. albicans B. Par contre l'adsorption avec une suspension de cellules broyées de C. stellatoidea ou de C. albicans B supprime tous les anticorps contre C. albicans A ou C. tropicalis.

Il semble que le lapin fabrique des anticorps contre des antigènes résidant en profondeur et non sur la paroi de Candida stellatoidea et donc l'absorption avec des cellules entières ne supprime pas ces anticorps. C. albicans A et C. tropicalis

posséderaient ces antigènes sur leur surface ce qui explique qu'elles agglutinent avec de tels antisérums.

Ces observations appellent une remarque importante : l'inoculation au lapin d'une levure donnée, entrainerait - elle la formation d'anticorps réagissant contre une autre espèce de levure ? Cette remarque a une implication directe dans la préparation des sérums monospécifiques, comme nous verrons dans le chapitre concernant ce sujet, et par voie de conséquence une influence sur les réactions d'agglutination utilisant des sérums monospécifiques.

Bastide et coll. (7, 7bis, 7ter), en étudiant la structura antigénique des protoplastes de C. macedoniensis (selon Tsuchiya la forme levure de C. macedoniensis présente les Ag. 8-10-28 et 31) et en utilisant les antisérums 3-4-6-8-9-et10, ont remarqué que les protoplastes obtenus par l'action du mélange lytique chlorhydrate de mercaptoéthylamine + bêta 1-3-D glucanase révélaient une fluorescence très forte des sites antigéniques 8 et10 et une fluorescence faible des sites antigéniques 3-6 et 9.

Tout se passe comme si l'action de ce système enzymatique dévoilait des sites antigéniques nouveaux. Imaginons que les Ag. 3-6 et 9 existent effectivement chez C. macedoniensis et qu'ils soient situés en profondeur sur la membrane cytoplasmique. Si ces antigènes induisent la fabrication d'anticorps correspondants il y aura donc une réaction croisée entre un tel antisérum et les levures ayant ces antigènes.

Ces mêmes auteurs (68), en comparant par immunoélectrophorèse des antigènes de C. albicans et de sa forme protoplaste, ont mis en évidence 13 fractions antigéniques dont 11 sont communes. Il y a 2 fractions antigéniques spécifiques de la forme

protoplaste. Ces deux fractions spécifiques peuvent éventuellement induire la fabrication d'anticorps.

D'autre part Coudert et coll. (25), en utilisant du sérum humain prélevé au cours d'une septicémie à C. albicans, ont testé plusieurs levures du genre Candida. Ils ont étudié de façon quantitative ce sérum par l'agglutination et l'immunofluorescence en déterminant le taux d'anticorps pouvant être mis en évidence en employant comme antigène différentes levures. Pour C. krusei et C. zeylanoides, ils trouvent des taux en agglutination qui sont contradictoires avec la structure antigénique de ces levures selon Tsuchiya (143-145).

En effet, pour C. zeylanoides et C. krusei ils trouvent un taux en agglutination et en immunofluorescence identique à celui obtenu avec C. albicans sérotype A, (taux de 1/160). La classification de Tsuchiya (Tb I) permet de noter que C. zeylanoides et C. krusei ont respectivement 4 et 3 fractions antigéniques sur 7 de communes avec C. albicans.

Ils arrivent à la conclusion que l'étude antigénique comparée de diverses levures ne peut s'appuyer sur la seule détermination qualitative des fractions antigéniques communes, mais il faut considérer la réactivité antigénique de chaque fraction et son importance quantitative pour chaque espèce considérée.

Nous partageons ce point de vue et nous pensons comme MULLER.

(98) qu'il n'y a pas de corrélation directe entre le nombre d'antigènes communs et le degré de réactivité croisée entre deux espèces, et qu'un antigène donné peut être très immunogène dans une espèce, et ne se comporter que comme un antigène accessoire dans une autre espèce.

Tsuchiya dans sa classification ne tient pas compte

de l'importance quantitative de chaque antigène, mais il mentionne les antigènes existants en très faible quantité entre parenthèses. Pour notre part, nous ne pensons pas que l'importance quantitative de chaque antigène puisse entraîner des résultats différents dans la classification de Tsuchiya. Lorsqu'un Ag. est présent, quelle que soit son importance, ce qui compte c'est son existence, et sa présence oriente vers l'appartenance à tel ou tel groupe.

A propos de la classification de Tsuchiya, Lodder (90) fait remarquer que C. pulcherrima et C. reukauffii qui sont très voisines, voire identiques par leurs propriétés biochimiques sont rangées dans des groupes différents, respectivement les groupes IV et III des Candida (Tb I). Lodder pense que la méthode sérologique est utile dans la classification des levures, mais qu'un système de classification basé uniquement sur la sérologie est inacceptable.

Pour Lodder "la plus parfaite des classifications doit être naturelle c'est-à-dire basée sur la phylogénie". En ce qui concerne les levures il n'y a pas de classification naturelle adéquate ce qui explique la multitude des critères proposés. En définitive, la meilleure classification serait celle qui regrouperait le maximum de caractères, mais tous ces caractères doivent se recouper ; de plus cette classification doit comporter au moins deux des méthodes suivantes : le spectre PMR de la paroi polysaccharidique, les caractéristiques sérologiques, la quantité en guanine-cytosine de l'A.D.N, l'hydrolyse enzymatique de la paroi en plus des propriétés physiologiques usuelles, car ces méthodes analysent la structure pariétale et génétique des levures, caractères qui, selon nous, sont fondamentaux à une classification acceptable.

II - LES METHODES DE DIAGNOSTIC DES LEVURES

II - Les méthodes de diagnostic des levures

Avant d'entreprendre toute identification, il est indispensable de partir de souches pures. Plusieurs techniques de purification, notamment l'ensemencement sur milieu de Raulin ont été préconisées. Dans notre travail, nous avons procédé de la façon suivante: nous choisissons une colonie isolée dans la primoculture et nous l'ensemencions sur boîte de Pétri gelosée, nous isolons une nouvelle colonie que nous réensemencions sur gelose inclinée.

A - Les méthodes classiques

1) Les caractères culturaux

Toutes les levures peuvent pousser en milieu liquide ou en milieu solide. L'aspect macroscopique des cultures peut quelquefois orienter vers le diagnostic de telle ou telle levure. En milieu liquide, les caractères fondamentaux sont la présence ou l'absence de sédiment, d'anneau et d'un voile aéré ou membraneux. En milieu solide, les colonies de levures peuvent être bombées ou plates, crémeuses à surface lisse ou rugueuse, d'aspect brillant et humide ou mat et sec, les bords des colonies réguliers ou festonnés. La couleur des colonies blanche, chamoise, beige ou franchement pigmentée. Il faut reconnaître que ces caractères culturaux ont un intérêt limité dans l'identification des levures.

2) Les caractères morphologiques microscopiques

2 - 1 Formation de pseudomycélium ou de vrai mycélium

Le pseudomycélium est un mycélium bourgeonnant, il est formé de bourgeons qui sont attachés, les uns aux autres,

il n'y a pas de véritables cloisons (89).

Le mycélium vrai est formé de tubes plus ou moins ramifiés, il peut être cloisonné ou non (89). L'étude de la formation de pseudomycélium et / ou de vrai mycélium se fait sur des milieux pauvres (renfermant la quantité minima indispensable de protides et de glucides) tels que le milieu de Taschdjian à la crème de riz, agar et au tween (R.A.T.) ou le milieu à base de pomme de terre carotte et bile (P.C.B.) (milieu de Pavlatou et Marcelou).

La distinction entre le genre Candida et le genre Torulopsis se fait sur la capacité de former du pseudomycélium par les levures du genre Candida et l'absence ou la formation de pseudomycélium rudimentaire pour les levures du genre Torulopsis (2-10-89-116-146). Une atmosphère enrichie en CO₂ (20 %) favorise la formation de pseudomycélium (2). Cependant, il faut avoir présent à l'esprit qu'il a été démontré que certaines espèces et Torulopsis, telle que Torulopsis sake, produisent du pseudomycélium (90). Ce critère peut donc conduire à une identification absurde. D'autre part à l'intérieur du groupe des Candida chez quelques espèces la formation de pseudomycélium est très variable. Par exemple il est bien connu que certaines souches de Candida pseudotropicalis donnent un pseudomycélium abondant, alors que dans d'autres souches le pseudomycélium est rare, voire absent (108). De plus il faut noter que ce caractère dépend largement du milieu de culture, d'où la nécessité de standardiser les techniques et les milieux de culture. Ce problème a fait l'objet de la préoccupation d'un groupe de travail réunissant 10 laboratoires de mycologie. Ce groupe d'études a proposé des milieux standards pour l'isolement et l'identification des levures et des dermatophytes et il a fait des recommandations utiles pour améliorer la qualité des analyses (10)

Kamaya T (79) dans des conditions expérimentales bien définies arrivent à différencier sur Corn-meal-agar C. albicans qui ne donne que des formes levures de C. stellatoidea qui donne de longs filaments fins. (le test de Kamaya consiste à inoculer un milieu liquide de Sabouraud au dixième avec les organismes à tester, on incube à 37 ° pendant une heure, ensuite on ensemence par inondation

la surface du milieu corn-meal-agar avec cette suspension de blastospores et la culture est incubée à 37°C pendant 24 heures).

2 - 2 - Formation de chlamydoespores

Les chlamydoespores selon LANGERON (89) sont des spores volumineuses à paroi épaisse et à contenu lipidique dense. Elles peuvent être terminales ou intercalaires, et les protochlamydoespores, sont des articles renflés sur lesquels naissent chez les levures, du groupe C. albicans une ou deux rarement trois chlamydoespores.

La recherche de chlamydoespores se fait sur des milieux pauvres en glucose et riches en polysaccharides. Pour certains auteurs les monosaccharides, essentiellement le glucose, inhibent la formation de chlamydoespores, alors que les polysaccharides favorisent leur développement (44-96-98). Un certain nombre de milieux sont utilisés, citons le milieu R.A.T et le milieu P.C.B.

Les facteurs favorisant la chlamydosporulation sont : un pH alcalin, une légère anaérobiose, l'épaisseur du milieu, une tension superficielle faible (rôle du tween 80 dans le milieu R.A.T.), (46-47-48-96). Cependant, WALKER et HUPPERT (150) pensent que si le tween augmente la formation de chlamydoespore, il induit la chlamydosporulation chez certains Candida tel que C. tropicalis.

La formation de chlamydoespore est favorisée par une incubation à l'obscurité, une dilution appropriée de la levure (environ 10^6 cellules / ml) des cultures jeunes etc... (3-4-44-45). La température optimale d'incubation se situe entre 20 et 28° C, à 37° C on note une inhibition de la chlamydosporulation (89).

L'étude de la chlamydosporulation peut se faire par culture sur lame, par ensemencement en strie et en profondeur, par la technique de DALMAU (27) qui selon plusieurs auteurs donne d'excellents résultats, ou par la technique décrite par ANDRIEU et THERIZOL (2) qui est une variante de la technique de DALMAU .

Seuls C. albicans et C. stellatoidea produisent des chlamydospores, 90 à 95 % des souches donnent des chlamydospores sur des milieux appropriés (2-96).

2 - 3 - La blastèse

Le phénomène de germination des levures en un long tube germinatif a été signalé par LANGERON et TALICE en 1932 (88).

C'est LANGERON et GUERRA qui l'ont décrit en 1940 sous le nom de blastèse (87). TASCHDJIAN en 1960 (124) montre que la formation de <<germ-tubes>> peut être utilisée en routine pour l'identification de C. albicans et de C. stellatoidea. Il a été montré par certains auteurs (95) que quelques souches de C. tropicalis provenant de la cavité buccale produisent des <<germ-tubes>>, mais que ce phénomène regresse avec les subcultures répétées in vitro de ces souches.

BOWMAN et AHEARN dans l'un de leurs travaux (17) soulignent que quelques souches de C. tropicalis peuvent former des éléments pseudomycéliens qui ressemblent grossièrement à des <<germ-tubes>>, mais qu'à la différence des <<germ-tubes>> typiques de C. albicans, ce sont des cellules allongées présentant par endroit des constriction. Ces auteurs font remarquer que quelques souches de C. albicans peuvent produire des tubes germinatifs cloisonnés mais que seuls les <<germ-tubes>> sans cloisons posent le diagnostic de C. albicans. WARWOOD (151) proposent le milieu à base de crème de riz + agar pour différencier les germ-tubes de Candida albicans et les pseudomycélium de Candida tropicalis.

Ce procédé d'identification de C. albicans est basé sur la rapide formation de tube germinatif par les levures dans le sérum humain, animal ou dans des milieux appropriés. L'incubation se fait à 37° C et la germination est obtenue en moins de 4 heures.

La production de <<germ-tubes>> est influencée par le pH (favorisée par un pH voisin de la neutralité), la densité d'ensemencement (le pourcentage de tubes germinatifs est directement proportionnel à la concentration en sérum et inversement proportionnel à la concentration en blastospores, 10^5 à 10^6 cellules / ml constituent l'inoculum optimum), la température d'incubation (la germination n'est pas influencée par

une incubation à 32°C, 37°C ou 42°C, mais elle est réduite quand l'étude est effectuée à 4°C, 25°C ou 45°C), une contamination bactérienne, le milieu utilisé (le sérum humain peut contenir de la ferritine qui diminue le développement de <<germ-tubes>>, l'âge de la colonie de levure (de préférence des colonies jeunes), l'adjonction d'une petite quantité de glucose ou de proline favorise la formation de <<germ-tubes>>, par contre, l'adjonction d'antifongiques tels que l'amphotéricine B et la nystatine réduisent le taux de <<germ-tubes>> (96-5-26-86-49-92).

3) Caractères sexuels

Nous ne citerons que la recherche d'ascospores.

L'ascospore est caractéristique des Ascomycètes. C'est une spore qui prend naissance dans une enveloppe particulière : l'asque. L'une des étapes dans l'identification d'une levure est de savoir si oui ou non une levure est capable de former des ascospores. Quelques levures Ascomycètes forment volontiers des ascospores sur le premier milieu d'isolement, d'autres par contre exigent des milieux spéciaux. La capacité de former des ascospores varie d'un isolement à l'autre et peut être complètement perdue chez des vieilles souches de laboratoire.

Les milieux spéciaux pour ascospores diffèrent des autres milieux car ils contiennent très peu de sucre. Plusieurs milieux ont été proposés, entre autres le milieu Gorodkova agar, le milieu V-8 juice agar et le milieu YM agar. Le milieu doit être incubé en aérobiose à une température de 20 à 25° C et il faut partir de souches jeunes. Certaines levures donnent des ascospores en 2 ou 3 jours, d'autres demandent un temps beaucoup plus long trois à six semaines.

4) Les caractères physiologiques

Le diagnostic d'espèce de levures repose essentiellement sur les caractères biochimiques tels que l'étude de l'assimilation et de la fermentation des sucres ainsi que l'étude des substances azotées.

4 - 1 Utilisation des sucres (auxanogramme du carbone)

L'assimilation désigne la possibilité pour une levure de se développer en utilisant tel ou tel sucre pur.

Les milieux pour l'étude de l'utilisation des sucres sont des milieux synthétiques à base de sulfate d'ammonium, de vitamines et de sels minéraux mais exempts de sucre. Ces milieux doivent avoir un pH voisin de 5,8 et doivent être incubés à 25 ou 28° C. Il faut éviter l'incubation à 37° C car à cette température beaucoup de disaccharides peuvent être dissociés en leur sucre respectif. Plusieurs méthodes ont été préconisées pour étudier l'assimilation des sucres, elles sont toutes des variantes des techniques auxanographiques de Beijerinck cité par Langeron (89).

Lodder (90) préconise l'emploi d'au moins 7 sucres qui sont : le glucose, le galactose, le saccharose, le maltose, le lactose, le mélibiose, et le raffinose. Les résultats de l'assimilation auxanographique sont lus en 2 ou 4 jours par l'apparition d'un halo laiteux autour du point de dépôt du sucre considéré, traduisant une prolifération des blastospores.

Selon Lodder (90) il faut avoir présent à l'esprit que certaines souches de certaines espèces de levure peuvent acquérir la capacité d'utiliser certains sucres après maintenance prolongée sur des milieux tel que le milieu malt-agar.

4 - 2 Fermentation des sucres (zymogramme)

C'est la désintégration des sucres en anaérobiose accompagnée de la formation d'acide carbonique (formation de bulle de gaz). Le milieu de base pour la fermentation doit contenir une quantité adéquate de composés nitrés, de vitamines et d'éléments minéraux. La présence d'un indicateur de pH tel que le réactif d'Andrade, le bleu de bromothymol ou autre est souvent utile.

Un changement de couleur de l'indicateur traduit soit une désintégration du sucre, soit une contamination bactérienne, soit les deux.

Dans le test de fermentation le virage de l'indicateur ne doit pas être lu comme une fermentation positive mais primitivement comme une assimilation du sucre, car si un sucre est fermenté il est aussi assimilé. C'est l'une des lois des fermentations de Kluyver-Dekker. Ces lois sont les suivantes :

- 1) Toutes les levures assimilent le glucose.
- 2) Toute levure qui fait fermenter un sucre l'assimile nécessairement.
- 3) Toute levure qui ne fait pas fermenter le glucose, ne fait fermenter aucun sucre.
- 4) Toute levure qui fait fermenter le glucose fait fermenter aussi le fructose et le mannose.
- 5) Aucune levure ne fait fermenter en même temps le maltose et le lactose.

C'est la production de gaz qui indique que la fermentation est positive. Les milieux doivent être incubés à 25 - 30°C; et comme pour l'assimilation il faut éviter une incubation à 37°C car à

cette température les disaccharides ainsi que d'autres sucres peuvent être dissociés en leur sucre de base et ces derniers peuvent être fermentés. Pour beaucoup d'auteurs la fermentation est moins stable que l'assimilation (20,60,125). Langeron et Guerra (87) ne partagent pas ce point de vue, pour eux les divergences des résultats proviennent de 3 causes principales.

- a) Emploi de souches contaminées par des bactéries.
- b) Emploi de souches impures.
- c) Emploi de sucres impurs.

Les propriétés enzymatiques des levures sont dues à la constatation selon Kalström d'après Langeron (89) qu'il y a deux types principaux d'enzymes : les enzymes de constitution qui sont formés par les microorganismes quel que soit le substrat, et les enzymes d'adaptation qui résultent d'une stimulation chimique. La capacité de former les enzymes d'adaptation se transmet de souche à souche, mais peut disparaître si l'on modifie la composition du milieu. Cette dernière hypothèse semble confirmée par plusieurs auteurs qui ont vu les caractères fermentaires de levures modifiées après entretien prolongé sur le milieu malt-agar (90).

Pour Rhoades d'après Langeron (89) une mutation pourrait entraîner des modifications stables dans la formation des enzymes. Il semble que les aptitudes fermentaires d'une levure soient très sensibles aux phénomènes d'adaptation et de mutation.

Pour étudier les propriétés fermentaires d'une levure Lodder (90) préconise dans un premier temps l'emploi de six sucres qui sont : le glucose, le maltose, le lactose, le saccharose, le galactose et le raffinose.

4 - 3 L'utilisation de composés azotés

L'assimilation des composés azotés peut être utile dans l'identification des levures. Plusieurs d'entre elles sont capables d'utiliser le sulfate d'ammonium, l'asparagine, la peptone, l'urée etc... Comme seule source d'azote, par contre le nitrate de potassium, le nitrate de sodium et quelques acides aminés sont utilisés sélectivement par différentes levures. Pour l'étude, de l'utilisation des composés azotés on peut pratiquer la méthode auxanographique,

4 - 4 L'hydrolyse de l'urée

C'est un caractère biochimique important dans l'identification des levures. Presque toutes les levures sont capables d'assimiler l'urée, mais elles ne possèdent pas toutes une uréase. L'hydrolyse de l'urée a été proposée par Seeliger (115) dans l'identification des levures. Les levures uréase + appartiennent à quelques genres a fermentatifs tels que Cryptococcus, Rhodotorula, Sporobolomyces, Trichosporon et Candida. Ce test permet une différence de genre, mais les diverses espèces et leurs variétés ne peuvent pas être distinguées l'une de l'autre sur la base de l'hydrolyse de l'urée. De peu d'intérêt dans l'identification d'espèce, ce test a l'avantage de permettre une séparation rapide des Cryptocoques, des autres levures a fermentatives. Pour la recherche de l'uréase on peut utiliser soit le milieu gélosé à l'urée de Christensen, soit le milieu liquide, urée-indole. L'incubation se fait à 30 ou 37° C. Le test est positif si le milieu vire du jaune ou rouge violacé.

5) Les autres caractères

5 - 1 Résistance à la Cycloheximide (actidione)

L'actidione est un antibiotique isolé de Streptomyces griseus. D'après Lodder (90), c'est Whiffen qui le premier en 1948 a rapporté que les levures variaient dans leur sensibilité à l'actidione. La sensibilité à l'actidione est un bon <<test d'approche>> dans l'identification des levures, plus particulièrement dans l'identification des levures du genre Candida, il faut souligner que Cryptococcus neoformans est sensible à l'actidione. Selon plusieurs auteurs (147) dans certaines conditions des souches entretenues en laboratoire peuvent acquérir la propriété de résister à l'actidione, ce phénomène est plus volontiers observé avec des souches de Saccharomyces cerevisiae (147). Cependant ce test garde sa valeur sur les souches de primoculture, repiquées sur milieu de Sabouraud + actidione. L'incubation est effectuée à 25° C et la lecture 24 à 48 heures plus tard, mais seul le résultat de 24 heures a une importance taxonomique (- 37).

5 - 2 Réduction du chlorure de triphényl tétrazolium (T.T.C)

L'étude de la réduction du T.T.C se fait sur le milieu de Pagano, Levin et Trejo. Le groupe d'études de la société Française de mycologie médicale sur la standardisation de l'utilisation des principaux milieux d'isolement et d'identification en analyse mycologique, souligne qu'on peut utiliser indifféremment le T.T.C à la concentration de 50 ou 100 µg/ ml

toutes les levures se développent sur ce milieu, mais certaines réduisent^{le} chlorure de triphényl tétrazolium et cela se traduit après 48 heures à 26°c (10) par le virage de la colonie

du blanc au rouge plus ou moins foncé suivant les espèces.
Ce groupe d'études préconise d'interpréter l'intensité du virage du T.T.C selon l'échelle suivante.

Pas de coloration	-
rose pâle	±
rose franc	+
rouge à saumon	+ +
lie de vin	+ + +

Cette échelle est similaire à celle proposée par Mallie et coll. (93) après 24 heures de culture à 26° C.

Selon ce groupe d'études, la réduction du T.T.C est très utile pour améliorer la rapidité de l'identification des levures. Ceci est confirmé par les travaux de Mallie et coll (93) sur la valeur de ce milieu pour l'identification rapide des levures des genres Candida , Saccharomyces, Torulopsis et Hansenula.

Parmi les souches non réductrices on trouve des espèces fréquemment isolées comme C. albicans et C. krusei. Par contre, C. stellatoidea, C. pseudotropicalis, C. macedoniensis, Torulopsis glabrata réduisent nettement le T.T.C , enfin, C. tropicalis et C. guilliermondii et de nombreuses espèces de Saccharomyces le réduisent intensément. Pour cette étude il est utile d'ajouter du chloramphénicol au milieu au T.T.C, afin d'éviter d'éventuelles contaminations bactériennes qui fausseraient les résultats ; en effet, les bactéries réduisent intensément le T.T.C.

5 - 3 L'étude de la température de développement

En plus des propriétés physiologiques et morphologiques l'identification de quelques levures peut être orientée par la détermination de la capacité à pousser à température élevée.

La plupart des levures ont une température optimale de croissance située entre 20° C et 28° C. Du point de vue taxonomique, il est intéressant de déterminer si oui ou non une levure est capable de pousser à 37° C. Cryptococcus neoformans, espèce pathogène peut être distinguée de la plupart des autres membres du genre Cryptococcus par sa propriété de croître à 37° C. Une autre espèce Cryptococcus lactativorus est capable de pousser à 37° C, mais c'est une espèce non pathogène isolée de l'eau de mer.

Saez et coll (113) étudiant la température maximale de développement de 3 Cryptococcus : Cryptococcus neoformans, Cryptococcus uniguttulatus, et Cryptococcus luteolus, font observer que Cryptococcus neoformans et Cryptococcus uniguttulatus (espèce pouvant être isolée chez l'homme) ne peuvent se différencier en testant simplement le développement de la souche à 37° C, car cette dernière espèce tolère des températures allant de 32° C à 37° C. Ces résultats sont en contradiction avec ceux de Phaffet Fell (103) qui trouvent une température maximale de développement de 34°C pour Cryptococcus uniguttulatus.

L'étude de la température de développement à elle seule ne suffit donc pas à identifier l'espèce Cryptococcus neoformans, il faut faire intervenir d'autres caractères tels que la présence d'uréase, l'assimilation de l'inositol etc...

5 - 4 Etude de la pathogénicité chez l'animal

C'est un caractère important, qui peut servir au diagnostic de C. albicans et de Cryptococcus neoformans.

L'animal de choix pour l'étude du pouvoir pathogène des Candida est le lapin. Toutes les souches de C. albicans, inoculées

par voie intra-veineuse provoquent la mort de l'animal en 3 à 7 jours, suivant la concentration de l'inoculum (37).

C. albicans se présente dans tous les tissus sous forme filamenteuse et sous forme de levures rondes ou ovales, bourgeonnantes. On trouve de nombreux abcès surtout dans le rein et le cerveau (37).

L'injection sous cutanée peut provoquer un abcès en 48 heures. C. tropicalis est à un moindre degré, pathogène pour le lapin. Les autres espèces ne le sont pas.

Drouhet fait remarquer que les lésions anatomo-pathologiques du lapin dues à C. tropicalis sont semblables à celles provoquées par C. albicans, la seule différence résidant dans la forme des parasites. Dans l'infection à C. tropicalis, ce sont les formes levures qui prédominent(37) Pour certains auteurs (91-152), la formation de filaments dans les tissus doit être considérée, comme un accroissement de la pathogénicité, car les filaments sont phagocytés plus difficilement que les formes levures (152). Cette hypothèse semble confirmer par l'expérience de Drouhet qui montre que 3 souches de C. tropicalis non mortelles pour le lapin provoquent néanmoins des lésions rénales et cérébrales avec des parasites levuriformes. Cependant, Gresham et coll (162) ont démontré que C. albicans peut provoquer chez le lapin une infection mortelle, même quand la formation de filaments est inhibée par l'administration d'Isoniaside.

Hasenclever et coll. (72) ont montré que la sensibilité des lapins aux souches de C. albicans sérotype B est considérablement plus grande que celle de C. stellatoidea. Bien qu'il y ait une étroite ressemblance antigénique entre ces deux organismes (60-71-74-77), cette similarité n'est pas reflétée dans la virulence

chez le lapin. D'autre part la virulence des souches de Candida albicans sérotype A ou B est nettement plus élevée que celle de C. tropicalis. Les auteurs (72) concluent que la pathogénicité chez le lapin est un moyen fiable pour séparer C. albicans de C. stellatoidea et C. tropicalis, et que cette pathogénicité est d'une signification taxonomique importante.

Parmi les Cryptococcus seul Cryptococcus neoformans est pathogène (116). L'animal le plus sensible est la souris. L'inoculation intracrânienne à cet animal d'une émulsion légèrement opalescente d'une culture de Cryptococcus neoformans provoque la mort de la souris en 3 à 8 jours avec atteinte du système nerveux central (116). A la ponction ou à l'autopsie on trouve dans les méninges écrasées entre lame et lamelle des levures encapsulées.

B - Les méthodes rapides

L'identification précise d'une levure par les méthodes classiques demande parfois plusieurs jours voire un mois, cela du fait de la variabilité éventuelle des propriétés biologiques mais également des propriétés morphologiques. L'ascosporogénèse, la chlamydosporulation ou la formation de pseudomycélium et/ou de vrai mycélium pouvant faire défaut.

Or en clinique, ou en milieu industriel on ne peut pas toujours se permettre d'attendre trop longtemps pour une thérapeutique ou pour interrompre une chaîne de fabrication. Ceci est particulièrement vrai lorsqu'on se trouve en présence de septicémies à Candida (101), à Torulopsis glabrata (13) ou à d'autres levures (114). Septicémies relativement fréquentes avec l'utilisation intensive d'antibiotiques et d'immuno-suppresseurs, d'où la nécessité de disposer d'une méthode de diagnostic fiable et rapide. Plusieurs chercheurs ont mis au point divers kits de diagnostic rapide des levures ; après présentation de ces différentes méthodes, nous étudierons la fiabilité et la rapidité de chacune d'entre elles.

1) Le système API zymogramme et auxanogramme 20 C

Ce système comprend huit microtubes destinés à l'étude de la fermentation du glucose, du galactose, du saccharose, du lactose, du raffinose, du tréhalose, du mélibiose, et dix microtubes destinés à l'étude de l'assimilation de ces mêmes sucres plus l'inositol et le cellobiose. Un autre tube permet d'apprécier la croissance en présence d'actidione.

Pour pallier à l'insuffisance de cette méthode, Gille et Guinet (59) ont proposé les modifications suivantes:

- adjonction à ce système de la recherche de la réduction

du trichlorure de triphényl tétrazolium, modification de la grille de lecture en considérant que Geotrichum candidum et Trichosporon cutaneum acidifient le glucose et le galactose et poussent en présence d'actidione (ces deux levures connues pour leur résistance à l'actidione ont poussé en présence de l'anti-fongique dans plusieurs cas).

- utilisation d'un inoculum faible pour les assimilations et plus dense pour les fermentations.

Avec ces modifications, les auteurs obtiennent de bons résultats en 48-72 heures.

Le système API zymogramme et auxanogramme 20 C est un système utile en pratique courante, mais l'étude de la résistance à l'actidione et surtout les fermentations des hydrates de carbone étant insuffisantes (98), ce système peut dans certains cas être à l'origine de résultats erronés. L'adjonction à ce système de l'étude des caractères morphologiques et d'autres modifications sont certainement nécessaires pour obtenir des résultats satisfaisants. La difficulté de lecture et la variabilité des résultats du zymogramme, ont obligé la firme à abandonner les caractères zymographiques et à n'utiliser que des caractères auxanographiques plus stables. Ainsi a été conçu le nouveau système API 20 C auxanogramme.

2) Le système API 20 C auxanogramme

La galerie API 20 C auxanogramme est conçue pour l'identification précise des levures les plus rencontrées en pathologie humaine, dans un délai assez court 48 à 72 heures au plus.

Ce système se compose d'une galerie de 20 cupules contenant des substrats déshydratés et d'un milieu d'inoculation

permettant l'identification des principales levures du genre Candida et des autres genres rencontrés en clinique tels que Cryptococcus, Torulopsis, Geotrichum, Trichosporon, Rhodotorula et Saccharomyces

L'identification de la levure se fait à l'aide d'un tableau de résultats, ou à l'aide d'un index comportant la liste des levures dont les caractéristiques ont été codées.

Un inconvénient majeur de ce système est qu'il n'est pas rare qu'on obtienne des résultats qui ne correspondent à aucune levure dans le tableau des résultats, ou dans l'index. D'autre part, pour une levure donnée il arrive qu'il y ait plusieurs profils dans l'index. C'est le cas de Saccharomyces cerevisiae qui a plus d'une dizaine de profils dans l'index, ceci peut conduire à des confusions. par exemple Dans l'index, Saccharomyces cerevisiae et Rhodotorula rubra ont des profils identiques. Ces deux levures différent uniquement par la formation d'ascospores.

Ce système à lui seul ne suffit donc pas toujours à identifier une levure donnée, il faut lui associer certains caractères morphologiques, et cela peut nécessiter plus de 72 heures. Douchet et coll (32) ont obtenu de bons résultats avec ce système dans l'identification des levures de détermination difficile c'est-à-dire des levures qui n'ont pas pu trouver un nom précis à l'aide des tests courants de laboratoire. Ils ont mis en évidence un groupe important de levures : Torulopsis Candida, très souvent isolées sur la peau en cas de dermatoses. Il faut souligner que les auteurs n'ont pas pu mettre en évidence Torulopsis Candida avec le système API zymogramme et auxanogramme 20 C. Shinoda et coll (117) ont cependant obtenu de très bons résultats (95 % de diagnostic précis) avec cette microméthode.

Le système API 20 C auxanogramme, est un kit fiable de manipulation et d'interprétation facile à condition de travailler dans les normes préconisées par le fabricant et sur des souches purifiées. Cependant, ces microcupules ne permettent pas de noter les mélanges de souches, tels qu'on peut les voir avec la méthode classique. D'autre part, ce kit relativement rapide, résultat en 72 heures, durée parfaitement compatible avec le travail de routine, donne de meilleurs résultats lorsqu'on l'associe aux caractères morphologiques.

3) The uni-yeast-tek kit

Le uni-yeast-tek kit est composé de plusieurs microtubes, 7 d'entre eux contiennent de la gelose avec 7 composés carbonés pour l'assimilation du Saccharose, du lactose, du maltose, du raffinose, du cellobiose, du trehalose, et de l'amidon soluble, un tube renferme de la gelose plus de l'urée pour la recherche de l'uréase, un autre du nitrate de potassium pour étudier l'assimilation de ce produit, un microtube contient de la farine de maïs avec du tween 80 pour la formation de pseudomycélium et de chlamydospores, enfin, un dernier tube contient de l'extrait de boeuf et du glucose pour la production de germ-tubes.

Ce kit est conçu pour l'identification de 16 levures communément isolées en médecine humaine (7 levures du genre Candida 4 du genre Cryptococcus, 2 du genre Rhodotorula, Saccharomyces cerevisiae, Torulopsis glabrata et Trichosporon cutaneum. En utilisant ce kit Bowman et Ahearn, obtiennent 99,8 % d'identification correcte sur 436 levures communément rencontrées en clinique. Pour les auteurs en dehors des seize levures prévues par le kit, l'identification des autres levures isolées doit être

considérée comme présomptive et nécessite donc une étude plus complète des caractères morphologiques et physiologiques.

Pour BOWAN et AHEARN (17), ce kit est pratique, de manipulation facile, relativement rapide puisqu'il donne des résultats fiables en 3 à 4 jours dans la plupart des cas. Cependant l'identification précise de certaines espèces telle que Cryptococcus neoformans nécessite l'étude d'un plus grand nombre de caractères. Pour notre part, nous pensons que les caractères utilisés dans ce kit sont insuffisants pour une identification précise.

4). - "Mycotube" Roche

Le "Mycotube" Roche est une galerie prête à l'emploi pour l'identification biochimique des levures les plus importantes en médecine.

Il comporte huit compartiments renfermant des milieux spécifiques qui permettent de mettre en évidence simultanément 10 caractères biochimiques différents: fermentation du glucose et la production de gaz, la fermentation du xylose, la fermentation du saccharose et production de gaz, la fermentation du raffinose, la fermentation du lactose, la fermentation du tréhalose, l'utilisation du citrate et la présence d'uréase.

Tous les 8 compartiments sont ensemencés en une seule manipulation et l'interprétation des résultats s'effectue après 2 à 3 jours d'incubation à 30°-37°c.

Les laboratoires Roche préconisent d'associer à cette galerie, l'étude des caractères morphologiques (Chlamydozoïdes, tubes germinatifs, arthrospores, capsule, pseudomycélium) et la détermination

de la sensibilité à la cycloheximide (actidione). Ce kit fait intervenir surtout les caractères fermentaires des levures. Plusieurs auteurs ont évoqué le faible stabilité de la fermentation par rapport à l'assimilation (60-125-133). Nous n'avons pas l'expérience de ce kit, mais les laboratoires Roche soulignent la fiabilité des milieux spécifiques utilisés.

5). - Nouveau kit de l'Institut Pasteur (43)

Ce kit comprend une galerie en boîte plastique avec 7 minitubes en un seul bloc pour l'étude des caractères morphologiques (1° milieu P.C.B. pour l'étude du pseudomycélium et / ou des formes levures, 2° milieu sérum pour l'étude des tubes germinatifs) et physiologiques (3° milieu urée-indole pour la recherche de l'uréase, 4° milieu de Sabouraud + actidione, 5° milieu de Sabouraud + tétrazolium + chloramphénicol pour la recherche de la réduction du tétrazolium, 6° milieu pour l'étude de la fermentation du glucose, 7° milieu pour l'étude de la fermentation du maltose.

A côté de ces 7 minitubes, le système comporte des boîtes carrées de 12 cm de côté en plastique et des milieux appropriés pour l'étude de l'assimilation de 16 produits carbonés et de 2 produits azotés (nitrate de potassium et sulfate d'ammonium).

Selon les auteurs, ce kit permet l'identification de toutes les levures d'intérêt médical ou industriel. La galerie des 7 microtubes permet l'identification des principaux genres de levure et de l'espèce C. albicans. L'auxanogramme des éléments carbonés et

azotés permet de déterminer les espèces une fois que le genre a été reconnu, et permet également de confirmer certains genres.

Ce nouveau kit est plus rapide, plus performant, plus sensible et plus reproductible que la galerie auxanographique à 20 caractères (1), et en utilisant à la fois les caractères morphologiques des levures et surtout en utilisant beaucoup plus de composés carbonés que la plupart des kits qui associent ces deux caractères, cette nouvelle méthode augmente les chances d'une identification plus précise.

6°) Sérotypage : Candida check kit

Jusqu'à un passé récent, les tests sérologiques ont été peu utilisés en routine pour l'identification des levures. Cela s'explique d'une part par les réactions croisées existant entre diverses levures, et par les difficultés rencontrées pour obtenir les sérums monospécifiques.

Ces réactions croisées ont été mises en évidence entre les espèces de levure du même genre mais également entre des espèces de genres différents. Plusieurs méthodes ont été utilisées pour détecter ces parentés antigéniques : l'immunoélectrophorèse (16), l'immunofluorescence (6-82), l'agglutination directe (22-137), la déviation du complément (76) mais également des tests d'hypersensibilité immunitaire. Gargani et coll (56) en utilisant cette dernière méthode ont étudié les éventuelles réactions croisées entre C. albicans, C. maltosa, C. utilis et C. lipolytica par inoculation intradermique au cobaye, ils ont démontré la présence de réactivité croisée entre C. albicans, C. utilis et C. maltosa en ce qui concerne la réponse du cobaye sensibilisé à l'inoculation intradermique.

La souche de C. lipolytica est dépourvue de réactivité croisée avec les autres espèces. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Tsuchiya et coll. En effet, C. albicans et C. utilis appartiennent au groupe de C. albicans de Tsuchiya alors que C. lipolytica appartient au groupe de Schizosaccharomyces pombe, groupe tout à fait différent du point de vue antigénique du groupe Candida. Il n'y a donc pas de réaction croisée possible entre ces 2 groupes (145).

Bastide et coll (9) ont obtenu des résultats analogues. Ils ont observé chez le lapin une hypersensibilité retardée croisée entre C. albicans et Saccharomyces cerevisiae. Ces résultats concordent également avec la classification de Tsuchiya, ces deux levures faisant partie du groupe de C. albicans.

Tsuchiya et coll, grâce à un travail approfondi, utilisant la méthode d'agglutination sur lame, ont établi la structure antigénique de plus de 140 espèces de levures (143-145). Ils ont préparé dès 1965, des sérums monospécifiques, par des procédés d'immunisation de lapins, et d'adsorption des immunosérums obtenus par des antigènes hétérologues adéquats. (Nous étudierons ces procédés dans la troisième partie de ce travail).

Ces auteurs ont montré l'intérêt de la méthode d'agglutination sur lame, dans l'identification des espèces du genre Candida en utilisant des sérums monospécifiques.

Sweet et Kaufman en 1970, en utilisant également leurs propres sérums monospécifiques ont démontré la fiabilité de la méthode d'agglutination dans l'identification de diverses espèces de Candida. (121)

Fukazawa et coll(52) ont montré en 1968, la haute spécificité des fractions IgG dans les réactions antigène-anticorps

où interviennent les levures du genre Candida. Ces travaux très importants ont permis aux laboratoires Iatron de mettre au point un kit le <<Candida check>> renfermant des sérums monospécifiques préparés à partir des fraction IgG.

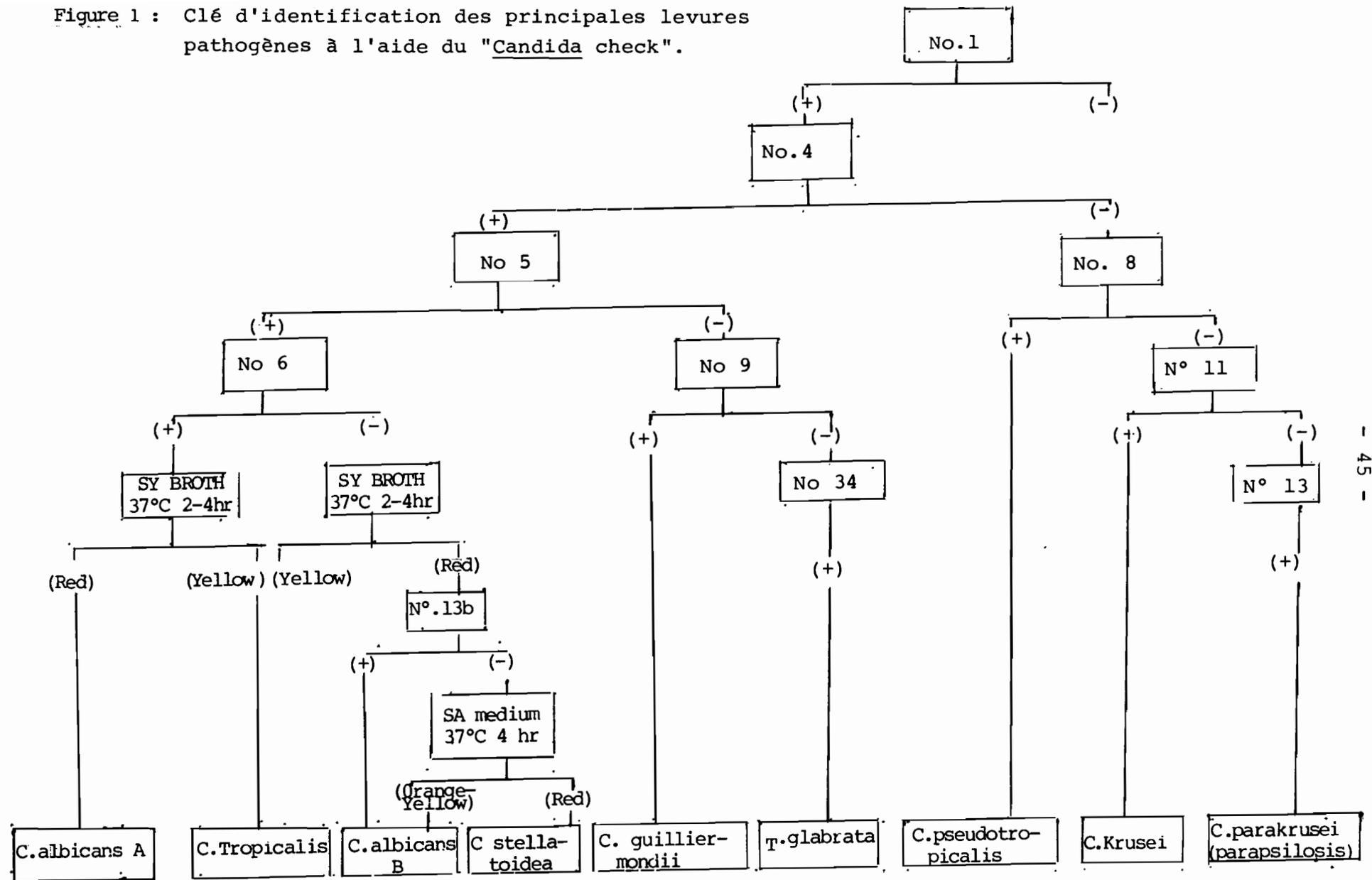
Le <<candida check>> est conçu pour identifier 8 espèces de Candida d'importance médicale ce sont : C. albicans sérotype A et B, C. tropicalis, C. stellatoidea, C. guilliermondii, C. parapsilosis, C. krusei, C. pseudotropicalis et Torulopsis glabrata. (Dans la classification de Tsuchiya Torulopsis glabrata fait partie du groupe des Candida).

Ce kit se compose de 10 sortes de sérums monospécifiques qui détectent les antigènes 1-4-5-6-8-9-11-13-13b et 34 du groupe des Candida de Tsuchiya. Ce kit comprend également un test pour l'assimilation du saccharose et un test pour sa fermentation.

l'agglutination s'effectue avec les blastospores isolés d'une culture de 24 à 48 heures sur milieu de Sabouraud, une grosse öse de culture de levure est émulsionnée dans un 1/2ml de sérum physiologique dans des tubes à hémolyse. Sur des plaques en verre pour agglutination, on dépose une goutte de sérum monospécifique. Ensuite, à l'aide d'une pipette fine, on dépose une goutte de suspension de levures ; puis, on agite la plaque pendant 30 secondes à 2 minutes d'un mouvement lent et rotatif. La lecture est faite dans les 5 minutes qui suivent.

Les sérums sont utilisés dans l'ordre indiqué par la figure 1. En cas d'autoagglutination les levures sont portées au bain marie bouillant pendant 2 heures et le test d'agglutination est repris. Le test d'assimilation du saccharose permet de différencier C. tropicalis de C. albicans sérotype A, ces deux espèces ayant la même structure antigénique (antigènes 1-2-3-4-5-6, il faut

Figure 1 : Clé d'identification des principales levures pathogènes à l'aide du "Candida check".



noter que quelques souches de C. albicans sérotype A peuvent posséder l'antigène 13b, dans ce cas le diagnostic est facile :

Ce test est constitué par des disques imprégnés d'une solution concentrée de saccharose ; le test consiste à introduire dans un tube à hémolyse renfermant 0,5ml d'eau distillée un disque ensuite on émulsionne 2 anses de platine d'une culture de levures de façon à avoir une suspension épaisse. On incube à 37°C pendant 4 heures. Les souches de Candida tropicalis attaquent le saccharose au bout de 4 heures, cela se traduit par une acidification du milieu et un changement de couleur du milieu du rose au jaune (l'indicateur de pH n'est pas indiqué par le fabricant).

Le test de fermentation du saccharose permet de distinguer C. albicans B de C. stellatoidea. Ces deux espèces ont la structure antigénique suivante : antigènes : 1-2-3-4-5-(7) et 13b pour C. albicans B et les antigènes 1-2-3-4-5-10 et 32 pour C. stellatoidea (Tb I et II) ; il faut noter que le Candida check n'a pas les antisérums 7-10 et 32, et que certaines souches de C. albicansB peuvent manquer l'antigène 13b.

Ce test consiste à inoculer la surface d'une bande de papier imprégnée de gelose et de saccharose, avec une suspension épaisse de levures, et à incuber le tout à 37°C pendant 4 heures. Au bout de ce temps, la bande de papier imprégnée de la suspension de C. stellatoidea change de couleur, elle passe de la couleur jaune à la couleur rose, témoignant de l'assimilation du saccharose par cette espèce.

En pratique, les souches réagissant avec les antisérums 1-4-5-6 sont soit des souches de C. albicans A soit des souches de C. tropicalis, de telles souches sont identifiées par la fermentation du saccharose.

Les souches réagissant avec les sérums monospécifiques 1-4-5 mais pas avec les antisérums 6 et 13b sont soit des souches de C. albicans B soit de C. stellatoidea ; de telles souches sont identifiées par le test de l'assimilation du saccharose.

III - TRAVAUX PERSONNELS

A - PREPARATION DES IMMUNSERUMS

1) CHOIX DES ANIMAUX

Nous avons utilisé des lapins mâles ou femelles de poids variant entre 3 à 5 kg qui provenaient du même élevage. Nous n'avons pas jugé utile de vérifier la présence d'agglutinines anti-Candida chez nos animaux, comme le préconisent SWEET et KAUFMAN (121), car nos conditions de travail ne nous permettaient pas d'éliminer systématiquement les lapins positifs.

2) CHOIX DES SOUCHES

Les souches utilisées pour la préparation des sérums monospécifiques doivent être des souches dont l'analyse antigénique a été effectuée avec soin. Les souches retenues doivent donc répondre à une structure antigénique bien définie. Cette étape est très importante dans la préparation des sérums monospécifiques, car d'elle dépendra le résultat final.

Nous tenons à exprimer nos remerciements au Docteur SHINODA qui a eu l'extrême obligeance de nous adresser les souches suivantes :

- Candida albicans sérotype A : IFO* 1060
- Candida norvegensis : IFO 0734
- Candida catenulata : IFO 0720
- Candida guilliermondii : IFO 0679
- Saccharomyces bisporus : IFO 0723
- Saccharomyces cerevisiae : FIO 0718

* IFO : Institut for Fermentation, Osaka, Japan.

, - De même, les souches suivantes, utilisées dans ce travail, proviennent de l'Institut Pasteur de Paris, grâce à l'amabilité du Pr. DROUHET, que nous tenons à remercier :

- <u>Candida claussenii</u>	IP*	807
- <u>Candida zeylanoïdes</u>	IP	46
- <u>Candida tropicalis</u>	IP	857
- <u>Candida pulcherrima</u>	CBS**	622

* IP : Institut Pasteur

** CBS : Central Bureau voor Schimmelcultures, Baarn (Nederland).

, - Les souches ci-après proviennent de l'Institut Pasteur de Lyon, grâce au Docteur GUINET :

- <u>Candida tropicalis</u>	IPL*	81 7633
- <u>Candida pseudotropicalis</u>	IPL	82 4694
- <u>Candida krusei</u>	IPL	82 2782
- <u>Candida parapsilosis</u>	IPL	82 3371
- <u>Candida guilliermondii</u>	IPL	83 838
- <u>Torulopsis glabrata</u>	IPL	82 3311

* IPL : Institut Pasteur de Lyon

, - Les souches de référence :

- Souche 3153	<u>Candida albicans</u> A
- Souche V W	<u>Candida albicans</u> A
- Souche 3656	<u>Candida albicans</u> B

proviennent du laboratoire du Professeur BIGUET et nous ont été fournies par Monsieur POULAIN.

,- Les autres souches :

- <u>Candida albicans</u> B	INSP*	6 BR
- <u>Candida albicans</u> B	INSP	5412
- <u>Candida albicans</u> A	INSP	2 BR
- <u>Candida tropicalis</u>	INSP	697
- <u>Candida tropicalis</u>	INSP	911
- <u>Candida krusei</u>	INSP	2930
- <u>Candida pseudotropicalis</u>	INSP	2071
- <u>Candida guilliermondii</u>	INSP	2830
- <u>Torulopsis glabrata</u>	INSP	2058

* INSP : Institut National de Santé Publique d'Abidjan

ont été isolées dans nos laboratoires et identifiées par les méthodes biologiques classiques.

La structure antigénique de chacune des souches, sans exception, a été contrôlée plus de trois fois par les dix sérums monospécifiques du "Candida check" des auteurs Japonais. Il faut souligner que le "Candida check" n'ayant pas le sérum monospécifique anti 7, il ne nous a pas été possible de vérifier

Nous tenons à remercier ici toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

la présence de l'antigène 7 dans la souche de Candida claussenii I P807, ainsi que dans les souches de Candida albicans sérotype A et B.

Tout au long de cet exposé, nous allons très souvent ramener le lecteur aux deux tableaux (Tableau I et Tableau II) de TSUCHIYA, qui se trouvent à la fin de ce texte et qui rappellent la structure antigénique de différentes levures.

Le tableau I étant celui publié en 1965 (143) et le tableau II celui publié en 1974 (145).

3) PREPARATION DE LA SUSPENSION ANTIGENIQUE

Les levures sont cultivées sur milieu gélosé de Sabouraud à 20 p. 1000 additionné de chloramphénicol pendant 48 h à 37°C sur boîte de Roux ; les levures sont récoltées dans du sérum physiologique stérile et lavées trois fois par centrifugation ; on rejette le surnageant et le dernier culot est mis en suspension de façon à obtenir une concentration équivalente à l'échelle n°9 de Mac FARLAND. L'échelle de Mac FARLAND est utilisée dans la préparation des autovaccins. Le principe de cette méthode est de comparer l'opacité de la suspension microbienne à celle d'une gamme de suspension de sulfate de baryum d'opacité croissante.

La gamme étalon est préparée comme suit (75) :

- On prend une série de 10 tubes semblables, dans lesquels on mettra respectivement des solutions aqueuses d'acide sulfurique et de chlorure de baryum à 1 p. 100 dans les proportions suivantes :

TUBES N ^o S	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	cm ³									
Sol Cl ₂ Br 1p.100	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Sol SO ₄ H ₂ 1 p.100	9,9	9,8	9,7	9,6	9,5	9,4	9,3	9,2	9,1	9

La suspension de levure correspondant à l'opacité n°9 dans l'échelle de Mac FARLAND contient approximativement 5.10^7 levures/ml. La suspension ainsi obtenue est portée au Bain-marie bouillant pendant 2 h.

4) PROTOCOLE ET METHODOLOGIE D'IMMUNISATION DES LAPINS
TITRAGE DES SERUMS BRUTS.

Plusieurs protocoles d'immunisation ont été proposés (14-111-81-69-125). Nous avons utilisé le protocole d'immunisation préconisé par KANNO et SUZUKI (81). Dans ce protocole les lapins sont immunisés contre les diverses souches de levures par injection I.V. dans la veine marginale de l'oreille de la suspension antigénique bouillie de concentration égale à l'échelle n° 9 de Mac FARLAND, selon le schéma suivant :

Les lapins reçoivent 0,5,1,2,4,4 ml de suspension antigénique à 3 jours d'intervalle

J ₁	——>	0,5 ml
J ₄	——>	1 ml
J ₇	——>	2 ml
J ₁₀	——>	4 ml
J ₁₃	——>	4 ml

Les lapins sont saignés 7 jours après la dernière injection. Le sérum brut est recueilli et les anticorps agglutinants sont titrés par une technique d'agglutination en tube décrite par SWEET et KAUFMAN (121) et modifiée par DOUCHET et MÜLLER (30.).

Préparation de la suspension antigénique pour agglutination

A 10 ml de sérum physiologique on ajoute 15 gouttes de la suspension antigénique ayant servi à l'immunisation (suspension antigénique d'opacité n° 9 dans l'échelle de Mac FARLAND). On obtient ainsi une suspension antigénique pour agglutination de concentration voisine de $6 \cdot 10^6$ levures/ml.

Technique :

Dans des tubes à hémolyse identiques on met 0,25ml de chaque dilution du sérum à tester (1/10 1/20.....1/5120) en contact avec 0,25 ml de la suspension antigénique pour agglutination. On centrifuge les tubes à 3000tr/mn pendant 5mn (modification que nous avons apportées par rapport à la méthode initiale de DOUCHET et coll.) Après centrifugation, on remet le culot en suspension par simple

agitation et on fait une première lecture, une deuxième lecture est effectuée après 24 h d'incubation à la température du laboratoire.

Un tube témoin négatif est toujours effectué. Un bon sérum doit avoir un titre voisin de 1000 ou plus.

Les sérums titrés sont conservés + 8°C avec adjonction d'azide de sodium à la concentration 1 o/oo pour éviter les contaminations bactériennes.

Résultats et commentaires :

Nous avons obtenu des antisérums de titre élevé c'est-à-dire supérieur à 1000 avec les levures suivantes :

Candida albicans B	INSP	(6 Br)	:	1/1280
Candida albicans A	INSP	(2 Br)	:	1/1280
Candida claussenii			:	1/2560
Candida guilliermondii			:	1/1280
Candida krusei			:	1/1280
Candida tropicalis			:	1/1280
Torulopsis glabrata			:	1/2560
<u>Antisérums de titre moyen</u>				
Candida pseudotropicalis			:	1/640
<u>Antisérums de titre faible</u>				
Candida para krusei			:	1/160
Candida pulcherrima			:	1/80
Saccharomyces bisporus			:	1/320

Nous tenons à faire remarquer que certaines levures donnent volontiers des titres élevés; c'est le cas de Candida albicans, de Candida tropicalis, de Candida guilliermondii et de Torulopsis glabrata dont nous nous sommes servis à plusieurs reprises pour préparer des antisérums.

Ce n'est pas le cas des levures Candida pseudotropicalis et Candida pulcherrima qui nous ont toujours donné des titres peu élevés.

Lors du titrage des sérums bruts nous faisons toujours deux séries de tubes; dans l'une d'entre elles nous utilisons comme antigène la levure ayant servi à l'immunisation, et dans l'autre série nous utilisons comme antigène une autre levure. C'est ainsi que lors du titrage du sérum anti Candida tropicalis nous avons utilisé dans la deuxième série de tubes, comme Ag. Candida albicans B.

Nous avons obtenu deux types d'agglutinats très distincts. Dans la série de tubes où l'Ag était la levure Candida albicans B, nous avons obtenu une agglutination sous forme de particules, c'est ce type d'agglutinat que nous avons l'habitude d'obtenir.

Dans la lère série de tubes où l'Ag utilisé était C. tropicalis, nous avons obtenu une agglutination en flocons.

Pour le titrage du sérum anti candida albicans B (INSP 5412) nous avons utilisé dans la 2ème série de tube comme Ag une suspension de levure Candida tropicalis. Nous avons obtenu un titre de 1/1280 avec Candida albicans B (INSP 5412) et un titre légèrement plus élevé 1/2560 avec Candida tropicalis. Ce résultat tend à confirmer l'hypothèse selon laquelle les mêmes antigènes varient quantitativement d'une espèce à l'autre.

B - PREPARATION DES SERUMS MONOSPECIFIQUES

1) PRINCIPE : Purification des antisérums par absorption

A un volume de sérum brut dilué ou non suivant la richesse en anticorps, nous avons ajouté un volume de culot à 50 % de levures hétérologues (levures préalablement bouillies pendant 2h) Dans la majeure partie des cas nous avons utilisé pour absorption des sérums de titre voisin de $1/256^e$, titre préconisé par FUKAZAWA et coll. (53) mais, nous avons volontairement utilisé parfois des sérums de titre supérieur, pour avoir des sérums monospécifiques de titre intéressant, ceci pour pallier à un inconvénient majeur, celui de la baisse du taux des anticorps agglutinants avec le temps (.131.) . C'est pour cette même raison que nous n'avons pas retenu le titre de $1/128^e$ comme titre de départ, titre proposé par plusieurs auteurs (100-131-143). L'antisérum était absorbé avec un égal volume de culot de levures bouillies. L'absorption était exécutée à l'étuve à 37°C pendant 3h puis toute la nuit au réfrigérateur. Le lendemain le mélange est centrifugé et le surnageant est à nouveau traité comme précédemment. L'absorption est répétée jusqu'à élimination complète des anticorps non spécifiques.

Plusieurs combinaisons (entre espèces pour immunisation et absorption) sont possibles pour préparer les sérums monospécifiques (127, 128, 129, 130, 136, 143).

Nous avons choisi à quelques variantes près les combinaisons préconisées par KANO et collaborateurs (81).

Les tableaux suivants IV, a, b et c résument les combinaisons préconisées par TSUCHIYA et collaborateurs 1974 (145), KANO et collaborateurs 1975 (81) et nos combinaisons qui sont très proches de celles de KANO et collaborateurs.

Il est important de connaître parfaitement la structure antigénique de la levure qui sert à faire l'antisérum ; ainsi si l'on veut préparer un sérum monospécifique anti 13 B à partir d'un sérum anti Candida para krusei qui contient l'antigène 13B on risque d'être gêné par les anticorps dirigés contre les autres fractions antigéniques 14-15 et 13 qui doivent être éliminées par une levure ayant ces motifs antigéniques. Ainsi en pratique, il faut bien choisir la levure ayant la structure la plus simple, Candida albicans sérotype B par exemple, l'immunsérum correspondant, neutralisé par un Candida tropicalis donnera un bon sérum monospécifique anti 13 b (voir tableau II de TSUCHIYA).

Tableau IV a : Préparation des sérums monospécifiques par absorption selon TSUCHIYA et Coll. (145).

Group of factor sera	Factor sera	ANTISERUM FOR	ORGANISMS FOR ABSORPTION
Group specific	A1	<i>C. albicans</i> (1060)	none
	6	<i>C. albicans</i>	<i>C. stellatoidea</i> (0692)
	8	<i>C. pseudotrop.</i> (0586)	<i>C. albicans</i>
	9	<i>C. guillierm.</i> (0679)	<i>C. albicans</i>
	11	<i>C. catenulata</i> (0720)	<i>C. albicans</i>
	13	<i>C. pulcherrima</i> (0561)	<i>C. albicans</i>
	16	<i>C. pelliculosa</i> (0677)	<i>C. parakrusei</i> (0640)
	24	<i>S. rosei</i> (0428)	<i>C. albicans</i> , <i>C. parakrusei</i>
Subgroup specific	7	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i> (1070)
	10	<i>S. bisporus</i> (0723)	<i>C. albicans</i>
	12	<i>C. mycoderma</i> (0734)	<i>C. krusei</i> (0584)
	18	<i>C. robusta</i> (0718)	<i>C. alb.</i> , <i>C. parakr.</i> , <i>C. pseudotr.</i> (0586)
	20	<i>C. pelliculosa</i>	<i>C. alb.</i> , <i>C. utilis</i> (0619), <i>C. robusta</i>
	40	<i>K. antillarum</i> (0669)	<i>C. alb.</i> , <i>C. guillierm</i>
Fairly specific or species specific	4	<i>C. albicans</i>	<i>C. parabrusei</i>
	5	<i>C. albicans</i>	<i>C. guillierm.</i>
	13b	<i>C. albicans</i> B(NIH 792)	<i>C. tropicalis</i>
	19	<i>C. rugosa</i> (0591)	<i>C. alb.</i> , <i>C. krusei</i>
	21	<i>H. saturnus</i> (0117)	<i>C. lab.</i> , <i>C. utilis</i> , <i>C. pellicul.</i>
	23	<i>S. unisporus</i> (0724)	<i>C. albicans</i>
	25	<i>C. melinii</i> (0747)	<i>C. alb.</i> , <i>C. utilis</i> , <i>C. pellicul.</i> , <i>C. pseudotr.</i>
	26	<i>S. bisporus</i>	<i>C. alb.</i> , <i>C. pseudotr.</i>
	34	<i>T. glabrata</i> (0005)	<i>C. alb.</i> , <i>C. pseudotr.</i>
35	<i>T. anomala</i> (1228)	<i>C. alb.</i> , <i>C. pseudotr.</i> , <i>S. melis</i> (0485)	
Group specific	S1	<i>Schiz. pombe</i> (0358)	none
	R1	<i>R. glutinis</i> (0559)	none
	R4	<i>R. minuta</i> (0387)	none
	C1	<i>C. curvata</i> (0732)	none

A1, S1, R1, R4 and C1 mean antigen 1 of *C. albicans*, *Schiz. pombe*, *R. glutinis*, and *Cr. neof.* respectively. Strain number is as per IFO (Institute for fermentation, Osaka) except *C. albicans* B.

Tableau IV b : Préparation d'anticorps spécifiques pour l'identification de levures d'intérêt médical, d'après KANO et Coll. (81).

Factor N°	IgG fraction of antisera for	Absorption with	Antigenic factors
1	<u>C. albicans</u>	-	1 - 6....
4	"	<u>C. parakrusei</u>	4, 6....
5	"	<u>C. guillerm.</u>	5, 6....
6	"	<u>C. stellatoidea</u>	6....
8	<u>C. pseudotrop.</u>	<u>C. albicans</u>	8,10...
9	<u>C. guillerm.</u>	"	9
11	<u>C. krusei</u>	"	11
13	<u>C. parakrusei</u>	"	13....
13b	<u>C. parakrusei</u> or <u>C. albicans B</u>	<u>C. tropicalis</u> or <u>C. guillerm.</u>	13, 13b....
34	<u>T. glabrata</u>	<u>C. albicans</u>	34...

Tableau IV c : Combinaisons utilisées pour
préparer nos sérums monospécifiques.

SERUMS MONOSPECIFIQUES N °	ANTISERUM CONTRE	ABSORPTION AVEC
1	<i>Candida albicans</i>	-
4	<i>Candida albicans</i> B	<i>C. parakrusei</i>
5	<i>Candida albicans</i> B ou	<i>C. guilliermondi</i>
6	<i>Candida tropicalis</i>	<i>T. glabrata</i> + <i>C. guilliermondi</i>
7	<i>Candida tropicalis</i>	<i>C. albicans</i> B.
8	<i>Candida clausenii</i>	<i>C. tropicalis</i>
9	<i>Candida pseudotropicalis</i>	<i>C. albicans</i> A + <i>S. cerevisiae</i>
10	<i>Candida guilliermondi</i>	<i>C. albicans</i> B.
11	<i>Candida pseudotropicalis</i> ou	<i>C. albicans</i> A.
13	<i>Saccharomyces bisporus</i>	<i>C. albicans</i> B.
13 b	<i>Candida krusei</i>	<i>C. albicans</i> B.
34	<i>Candida pulcherrima</i> ou	<i>C. albicans</i> A ou B + <i>S. cerevisiae</i>
13 b	<i>Candida parakrusei</i>	<i>C. albicans</i> B.
34	<i>Candida albicans</i> B ou	<i>C. albicans</i> A.
34	<i>Candida albicans</i> B	<i>C. tropicalis</i>
34	<i>T. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> A + <i>C. pseudotropicalis</i> .

2) PREPARATION DU SERUM ANTI 1 :

L'antisérum 1 est du sérum anti Candida albicans convenablement dilué.

Le sérum brut donne une agglutination trop intense avec les diverses souches de levures. Il faut donc trouver une dilution adéquate. Dans les divers articles des auteurs Japonais que nous avons lus, on ne parle nulle part du mode de préparation du sérum anti 1.

Dans notre expérience nous avons préparé l'antisérum 1 à partir du sérum anti Candida albicans B INSP (6Br) de titre 1/1280. Ce sérum dilué au 1/15e nous donne des agglutinations très fortes, floconneuses.

La dilution au 1/20e nous donne une agglutination assez forte (++++), mais la dilution au 1/25e nous donne une bonne agglutination pour toutes les espèces de levures sauf avec Candida krusei où nous n'obtenons pas d'agglutination. Ce résultat confirme ceux de DOUCHET et Coll. (communication personnelle) qui ont démontré que l'Ag 1 de C. krusei est très faible. Nous avons donc choisi la dilution 1/20e comme celle de notre antisérum n° 1.

L'antisérum n° 1 est donc un sérum anti Candida albicans suffisamment dilué de telle sorte que les anticorps correspondant aux autres antigènes de Candida albicans ne puissent pas s'exprimer.

3) PREPARATION DU SERUM ANTI 4

Pour la préparation de l'antisérum 4, comme pour la préparation de tous les autres antisérums nous avons obtenu des agglutinations inattendues lors de nos contrôles ; c'est-à-dire que si nous partons d'un antisérum X, que nous absorbons avec des levure Y, nous obtenons des agglutinations avec des levures Z qui ont, soit la même structure antigénique que les levures Y,

soit une partie des Ag des levures Y, soit des Ag supplémentaires par rapport aux levures Y.

Antisérum utilisé : sérum anti Candida albicans B (INSP 6Br) 1/1280.

Suspension antigénique utilisée pour absorption : Candida parakrusei . Après 4 absorptions de l'antisérum dilué au 1/3 nous avons obtenu un antisérum qui n'agglutinait plus avec les levures Candida parakrusei. Nous avons ensuite contrôlé la spécificité de notre antisérum 4 en effectuant des tests d'agglutination sur lame avec les autres espèces de Candida. Ce contrôle nous permet d'arrêter ou de poursuivre les absorptions.

Tableau : V :

Vérification de la spécificité du sérum anti 4
par agglutination sur lame

Ag	Antisérum C. albicans B absorbé 4 x avec C. pk.	Puis 2 x avec C. pt.
INSP 6Br (C.albicans B)	+++	+++
C. tropicalis	++	++
C. pseudotropicalis	++	-
C. krusei	-	-
C. parakrusei	-	-
C. guilliermondii	++	++
T. glabrata	+++	+++

C. pk. : C. parakrusei

C. pt. : C. pseudotropicalis

L'intensité de l'agglutination est chiffrée de la façon

suivante :

- + Agglutination faiblement positive
- ++ Agglutination moyennement positive
- +++ Agglutination fortement positive
- Agglutination négative.

La vérification de la spécificité des sérums monospécifiques est indispensable, car elle permet de déceler des agglutinations non spécifiques.

Dans le cas du sérum anti 4 on s'explique mal l'agglutination positive avec les levures C. pseudotropicalis qui n'ont pas l'Ag 4 et qui ont une structure antigénique très simple :
Ag 1, 8 (10), 28, 31, a.

Trois hypothèses sont susceptibles d'expliquer cette agglutination inattendue.

La première résulte des observations de HA SENCLEVER et collaborateurs (71) qui ont remarqué que l'absorption d'un antisérum Candida stellatoidea avec des suspensions de cellules entières de C. stellatoidea ou de C. albicans B ne supprime pas toutes les propriétés agglutinantes de C. albicans A ou de C. Tropicalis, cette absorption supprime les anticorps contre les souches homologues et contre les souches de C. albicans B. Par contre l'absorption avec une suspension de cellules broyées de C. stellatoidea ou de C. albicans B supprime tous les anticorps contre C. albicans A ou C. tropicalis. Il semble donc que le lapin fabrique des anticorps contre des antigènes résidant en profondeur et non sur la paroi de Candida stellatoidea et donc l'absorption avec des cellules entières ne supprime pas ces anticorps.

Pour revenir à notre exemple, l'inoculation au lapin de levures C. albicans B a-t-elle entraîné la fabrication d'anticorps réagissant contre les levures Candida pseudotropicalis ?

La 2ème hypothèse découle des travaux de MARTIN (94).

MARTIN fait remarquer que les différents Ag contenus dans une substance peuvent différer complètement dans leur capacité de stimuler

la formation d'anticorps si bien que le nombre relatif d'anticorps individuels produit par injection d'une substance complexe n'est pas nécessairement proportionnel à la quantité relative de chaque Ag dans le matériel de départ.

Ainsi il a observé qu'un sérum anti C. albicans absorbé avec des levures C. albicans réagissait encore avec des levures C. tropicalis et C. parakrusei.

MARTIN explique cette anomalie en suggérant que les différents anticorps produits par injection de levures C. albicans n'étaient pas dans les mêmes proportions que les Ag dans le matériel injecté, si bien que la quantité minimale de levures C. albicans nécessaire pour absorber tous les anticorps du sérum anti C. albicans, ne supprimait qu'une partie des anticorps. Un tel sérum peut donc réagir avec des levures d'une autre espèce, ayant un ou plusieurs Ag communs avec Candida albicans, à condition que l'Ag ou les Ag communs trouvent dans le sérum un surplus d'anticorps correspondant aux Ag communs, qui n'auront donc pas été absorbés par les levures Candida albicans.

MARTIN a observé le même phénomène avec le sérum anti C. stellatoidea qui, absorbé avec des levures C. stellatoidea, réagissait encore avec des levures C. tropicalis et C. albicans (cette observation rejoint celle d'HASENCLEVER (71)

Cette deuxième hypothèse appelle une remarque : un sérum anti C. albicans absorbé plusieurs fois avec des levures homologues C. albicans conserverait - il toujours un surplus d'anticorps - ?

La 3ème hypothèse résulte de nos observations :

La structure antigénique de C. pseudotropicalis possède l'Ag 10,

celui-ci possède une certaine parenté avec l'Ag 7, ce point particulier sera développé en détail quand nous parlerons du sérum anti 7. Nous sommes partis de l'antisérum anti 6 B r ; un Candida albicans qui possède l'Ag 7, celui-ci n'est pas neutralisé par C. parakrusei (qui n'a pas l'Ag 7), pour l'éliminer il est donc nécessaire d'avoir recours au C. pseudotropicalis; mais comme il y a parenté antigénique entre Ag 7 et Ag 10, on fait baisser les anticorps correspondant à l'Ag 7.

Cette observation renforce l'hypothèse sur l'antigène 7 voisin de l'antigène 10, comme nous l'avons observé lors de la préparation du sérum anti 7.

4) - PREPARATION DU SERUM ANTI 5

KANO et SUZUKI (Tableau IV a) et TSUCHIYA et Coll. (Tableau IVb) préconisent pour la préparation du sérum anti 5 la combinaison suivante : sérum anti Candida albicans absorbé par des levures C. guilliermondii.

Structure antigénique des différentes levures :

<u>Candida albicans</u>	A :	1 4, 5 , 6 (13b)	2,3
<u>Candida albicans</u>	B :	1 4, 5 (7) 13b,	2-3
<u>Candida guilliermondii</u>		1 4 9 ,	2-3

Si nous partons du sérum anti C. albicans A absorbé avec des levures C. guilliermondii, nous remarquons qu'après absorption il subsistera dans le sérum des anticorps anti 6, et éventuellement les anticorps anti 13b.

Si nous choisissons le sérum anti C. albicans B absorbé avec des levures C. guilliermondii, nous remarquons qu'après absorption il restera des anticorps anti 13b, et éventuellement des anticorps anti 7. Cette deuxième combinaison peut être retenue car, l'anticorps anti 13b est peu gênant dans la mesure où l'antigène 13b est rare parmi les levures, et toutes les levures qui ont l'Ag 13b ont également l'antigène 5. (tableau II). Mais cette combinaison ne permet pas d'obtenir un sérum monospécifique.

Dans le souci d'avoir un sérum monospécifique, nous avons pensé à la combinaison suivante: sérum anti C. tropicalis absorbé avec des levures Torulopsis glabrata qui n'ont pas l'Ag 5. Il est très important de vérifier l'absence d'Ag 5 chez la souche de T. glabrata choisie car certaines souches possèdent l'Ag 5.

Après absorption du sérum avec cette souche de Torulopsis glabrata, resteront les Ac correspondant aux Ag 4 et 2 qu'on supprimera par des levures C. guilliermondii

Structure antigénique des différentes levures :

<u>C. tropicalis</u>	: 1 - 4 - 5 - 6	, 2, 3
<u>T. glabrata</u>	: 1	6 3 10 34
<u>C. guilliermondii</u>	: 1 4	9, 2, 3

Malheureusement nous n'avons pas pu obtenir un bon antisérum 5 avec cette combinaison. De même la combinaison proposée par les auteurs Japonais ne nous a pas donné plus de succès. Ci-dessous la description de nos différentes tentatives d'obtention du sérum anti 5.

Notre combinaison :

- Antisérum utilisé : sérum anti C. tropicalis: 1 / 1280 ;

- suspension antigénique utilisée pour absorption :

Torulopsis glabrata qui n'a pas l'Ag 5 : K7

Après 3 absorptions de l'antisérum C. tropicalis dilué au 1 / 3 nous avons obtenu un antisérum qui n'agglutinait plus avec les levures K 7.

Contrôle de la spécificité du sérum anti 5, et poursuite éventuelle des absorptions avec d'autres espèces de levures.

Tableau VI :
VERIFICATION DE LA SPECIFICITE DU SERUM ANTI 5 PAR LA METHODE
D'AGGLUTINATION SUR LAME

Ag	Antisérum <i>C. tropicalis</i> absorbé 3 x avec K 7	Puis 1 x avec <i>C. guilliermondii</i>
6 B r	-	-
<i>C. albicans</i> A	3 +	2 +
<i>C. tropicalis</i>	3 +	2 +
<i>C. pseudotropicalis</i>	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-
<i>C. Parakrusei</i>	3 +	2 +
<i>C. guilliermondii</i>	+	-
K 7	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-
<i>C. catenulata</i> et	+	-
<i>C. norvegensis</i>	+	-

Pour comprendre ce tableau nous demandons au lecteur de se reporter aux deux tableaux de TSUCHIYA relatifs à la structure antigénique des levures, et situé avant la bibliographie.

Ce tableau nous montre qu'après 3 absorptions du sérum anti *C. tropicalis* par les levures K 7 (*T. glabrata* sans Ag 5), on note une absence d'agglutination avec les levures 6 B r (*C. albicans* B) ce qui est anormal., une faible agglutination avec les levures *C. guilliermondii* ce qui est normal puisque *C. guilliermondii* possède les Ag 4 et 2

dont les Ac correspondants n'ont pas été supprimés par K 7, une faible agglutination avec les levures C. krusei, C. catenulata et C. norvegensis et une forte agglutination avec C. albicans A et C. tropicalis.

Cet antisérum absorbé une fois avec C. guilliermondii, ne donne plus d'agglutination avec C. guilliermondii, mais ne donne plus non plus d'agglutination avec les levures C. krusei, C. catenulata et C. norvegensis; par contre, il donne de bonnes agglutinations avec C. albicans A, C. tropicalis et C. parakrusei. Cet antisérum ainsi préparé ne permet donc pas la détection de toutes les levures ayant l'Ag 5. Cette expérience nous permet de nous poser la question de savoir s'il y a deux sous-groupes d'Ag 5: un sous-groupe spécifique de C. krusei, C. catenulata et C. norvegensis et un sous-groupe spécifique de C. albicans A, C. tropicalis et C. parakrusei.

L'absence d'agglutination avec les levures I N S P 6 B r après 3 absorptions avec K 7 peut laisser supposer que C. albicans B (6 B r) a un Ag 5 assez faible, de même on pourrait dire que C. krusei, C. catenulata et C. norvegensis ont un Ag 5 relativement faible; mais les travaux de TSUCHIYA (143-145) ne nous permettent pas d'affirmer cela car l'Ag 5 de ces différentes levures n'a jamais été mis entre parenthèses.

Des résultats similaires ont été obtenus par SWEET et KAUFMANN (121) qui ont obtenu après absorption d'un sérum anti C. tropicalis avec des levures C. guilliermondii, un sérum qui agglutine bien les levures C. albicans A et C. tropicalis mais qui n'agglutine plus C. krusei, C. albicans B, C. stellatoidea et même C. parakrusei. Ceci démontre bien la difficulté de préparation des sérums monospécifiques.

Il faut noter qu'avec le sérum anti 5 du "Candida check" on n'obtient pas d'agglutination avec toutes les levures C. parakrusei (33) qui possèdent pourtant l'Ag 5 normal dans le tableau de TSUCHIYA (Tableau I et II). Malgré l'absence d'agglutination sur lame, C. parakrusei a quand même l'Ag 5.

Pour revenir à notre expérience ; pour préparer le sérum anti 5, nous avons absorbé l'antisérum C. tropicalis avec la levure K 7 (Torulopsis glabrata sans Ag 5), cette levure a peut-être un Ag 5, très faible, qui peut faire baisser le titre du sérum anti. C.tropicalis mais qui ne permet pas d'obtenir une agglutination sur lame.

L'antigène 5 de C. albicans B est souvent très faible (34). On peut faire les mêmes remarques pour C. parakrusei et pour T.glabrata . Ces observations nous permettent de souligner une fois de plus que la structure antigénique d'une levure n'est pas uniforme. Nous avons déjà observé lors de la préparation du sérum anti 1 que l'Ag 1 de C. krusei est très faible alors qu'il est très fort chez C. albicans. Cet aspect a été bien observé par MULLER et Collaborateurs (communication personnelle) avec des anticorps marqués à la ferritine et l'observation au microscope électronique, l'Ag 1 de C. albicans, montre un gros amas d'anticorps anti 1 marqué à la ferritine visible au microscope électronique alors que celui de C. krusei est presque invisible.

2ème tentative de préparation du sérum anti 5 avec la combinaison préconisée par les auteurs Japonais

- Antisérum utilisée : sérum anti C. albicans B (6 B r) :
1 / 1280.
- Suspension antigénique utilisée pour absorption: C. guil-
liermondii

Après 4 absorptions de l'antisérum C. albicans (6 B r)
dilué au 1/3 sur C. guilliermondii nous avons obtenu un antisérum
qui n'agglutinait plus les levures C. albicans B (6 B r).
Contrôle de la spécificité du sérum anti 5 et poursuite éventuelle
des absorptions avec d'autres espèces de levures.

Tableau VII :

VERIFICATION DE LA SPECIFICITE DU SERUM ANTI 5 PAR LA
METHODE D'AGGLUTINATION SUR LAME

Ag	Antisérum 6 B r absorbé 4 x avec <i>C. guilliermondii</i>	Puis 4 x avec K 7
6 B r	+++	+ (tardif)
<i>C. albicans</i> A	+++	+
<i>C. tropicalis</i>	+++	+
<i>C. pseudotropicalis</i>	-	-
<i>C. krusei</i>	+	+
<i>C. parakrusei</i>	+++	+
<i>C. guilliermondii</i>	-	-
K 7	++	-
Tg. 2058	++	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-
<i>C. catenulata</i>	+	+
<i>C. norvegensis</i>	+	+

Ce sérum anti 5 préparé selon la combinaison des auteurs Japonais ne nous a pas donné les résultats escomptés. En effet après 4 absorptions par *C. guilliermondii* nous avons un sérum qui agglutine curieusement les levures K 7 (*T. glabrata*) qui n'ont pourtant pas l'Ag 5 ; le sérum obtenu agglutine assez fortement les levures K 7 car il faut 4 absorptions pour supprimer toute agglutination avec les levures K 7.

Après ces 4 absorptions nous obtenons un sérum très moyen car celui-ci agglutine tardivement 6 B r, et agglutine faiblement C. albicans A, C. tropicalis, C. krusei, C. parakrusei, C. catenulata et C. norvegensis

5) - PREPARATION DU SERUM ANTI 6.

Les auteurs Japonais proposent la combinaison suivante: sérum anti Candida albicans A absorbé par des levures C. stellatoidea. Nous avons préféré partir d'un sérum anti C. tropicalis que nous avons absorbé avec des levures C. albicans B, car plusieurs travaux montrent que l'Ag 6 de C. tropicalis est très immunogène.

Antisérum utilisé : sérum anti C. tropicalis 1 / 1280.

Suspension antigénique utilisée pour absorption C. albicans 6 B r. Après 5 saturations de l'antisérum dilué au 1/2 (nous sommes partis volontairement d'un sérum anti C. tropicalis de titre assez élevé 1/640 dans le souci d'avoir un très bon antisérum 6) nous avons obtenu un sérum qui n'agglutinait plus les levures C. albicans B (6 B r). Contrôle avec les autres espèces de levures, et poursuite éventuelle des absorptions.

Tableau VIII :

VERIFICATION DE LA SPECIFICITE DU SERUM ANTI 6
PAR AGGLUTINATION SUR LAME

Ag.	Antisérum <i>C. tropicalis</i> absorbé 5 x avec 6 B r	Puis 2 x avec <u><i>C. guilliermondii</i></u>
6 B r	-	-
<i>C.albicans</i> A	3+	3+
<i>C.tropicalis</i>	3+	3+
<i>C.pseudotropicalis</i>	-	-
<i>C.krusei</i>	-	-
<i>C.parakrusei</i>	-	-
<i>C.guilliermondii</i>	3+	-
<i>T.glabrata</i>	2+	2+
<i>S.cerevisiae</i>	-	-
<i>C.catenulata</i>	-	-
<i>C.norvegensis</i>	-	-
<i>C.zeylanoides</i>	-	-

6 B r : *C. albicans* B

Nous avons rencontré très peu de difficultés dans la préparation du sérum anti 6 ; néanmoins nous nous expliquons très mal la forte agglutination du sérum anti *C.tropicalis* privé des Ag communs à *C.albicans* avec *C.guilliermondii*. *C.guilliermondii* ayant une structure antigénique très simple: 1 - 4 - 9 - 2 - 3, nous nous sommes demandés si l'Ag 4 de *C. guilliermondii* n'était pas particulièrement très agglutinogène, c'est l'hypothèse que nous retenons ;

mais cette anomalie peut également s'expliquer par les hypothèses d'HASENCLEVER et de MARTIN que nous avons développées lors de la préparation du sérum anti 4.

Pour terminer nous dirons que nous avons préparé un très bon sérum anti 6, sérum très sensible et d'une très grande spécificité.

6) - PREPARATION DU SERUM ANTI 7

Avant d'entamer la préparation du sérum anti 7, nous tenons à faire quelques remarques ; le sérum anti 7 n'existe pas dans le "Candida check" des Japonais..S'il existait, ce sérum nous aurait permis d'identifier avec plus de précision un certain nombre de levures et plus particulièrement C. albicans C et C. clausenii. D'autre part ce sérum nous aurait permis de distinguer rapidement C. clausenii de C. albicans A et C. tropicalis qui n'ont pas l'antigène 7.

Nous tenons à mentionner la communication orale que nous avons eu avec le Pr. DROUHET, communication selon laquelle les auteurs Japonais seraient revenus sur le sérotype C. Le sérotype C n'existerait donc pas et par conséquent l'Ag 7 ne serait pas spécifique de ce sérotype. Pour la préparation du sérum anti 7, TSUCHIYA et Coll (145) proposent la combinaison suivante : sérum anti C. albicans absorbé avec des levures C. tropicalis. Les auteurs ne précisent pas le sérotype de Candida albicans à utiliser. Il faut souligner que tous les premiers travaux des auteurs Japonais (143-145) ont toujours fait cas de la présence de l'Ag 7 chez tous les Candida albicans.

Dans le tableau de TSUCHIYA de 1974 (145) sur la structure antigénique des différentes espèces de levures, il ressort que : le sérotype C de C.albicans a toujours l'Ag 7, que le sérotype B a l'Ag 7 mais que celui-ci peut manquer, et que le sérotype A n'a jamais l'Ag 7. Il serait donc plus logique de préparer le sérum anti 7 à partir du sérotype C de Candida albicans . Pour contourner cette difficulté nous avons choisi comme levures immunisantes le Candida clausenii qui a toujours l'Ag 7 et comme levures absorbantes C.tropicalis

- Antisérum utilisé : sérum anti C. clausenii 1/2560. Il faut souligner le haut titre de ce sérum.

- Suspension antigénique utilisée pour absorption: C.tropicalis. Après 3 absorptions de l'antisérum dilué au $1/\beta$ nous avons obtenu un anti-sérum qui n'agglutinait plus les levures C.tropicalis

Tableau IX :

VERIFICATION DE LA SPECIFICITE DU SERUM ANTI 7
PAR AGGLUTINATION SUR LAME

Ag	A.S . C.claussenii absorbé 3 x avec <u>C. tropicalis</u>	Puis 2 x avec C. pK.	Puis 3 x avec <u>T. glabrata</u>
C.albicans B (6 B r)	2 +	+	+
C.albicans A	+	-	-
C.tropicalis	-	-	-
C.pseudotropicalis*	2 +*	2+	+(tardif)
C.krusei	-	-	-
C.parakrusei	2 +	-	-
C.guilliermondii	-	-	-
C.claussenii	+	+	+
T.glabrata*	2 +*	2 +	-
S.cerevisiae*	2 +*	2 +	+

A. S : antisérum

C.tr : C.tropicalis

C.pK : C.parakrusei

* Les levures C.pseudotropicalis,
T.glabrata et S.cerevisiae ont
l'antigène 10.

Pour comprendre ce tableau, il est utile de rappeler la structure anti-génique de quelques unes des levures utilisées comme antigènes :

<u>Candida</u>	<u>claussenii</u> : Ag	1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7	
"	<u>tropicalis</u>	1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6	
"	<u>pseudotropicalis</u>	1	8 (10) 28-31
"	<u>parakrusei</u>	1 2 - 3 5	13 13b, 14-15
<u>Torulopsis</u>	<u>glabrata</u>	1 3	10 34
<u>Saccharomyces</u>	<u>cerevisiae</u>	1 2 3	10 18 14 31

Nous ne sommes pas parvenus à préparer un sérum anti 7 monospécifique à partir de l'antisérum C. claussenii, qui avait pourtant un titre très élevé (1 /2560). En effet cet antisérum agglutine toujours les levures ayant l'Ag 10 (C. pseudotropicalis T. glabrata et S. cerevisiae)

Ce talbeau appelle 4 remarques :

La première, c'est qu'il semble y avoir une parenté antigénique très étroite entre les Ag 7 et 10.

La deuxième, c'est que l'antisérum anti 7 ainsi obtenu agglutine les levures C. albicans B, mais pas les levures C. albicans A . Ce résultat est en accord avec ceux de TSUCHIYA, qui mentionne la présence de l'Ag 7 dans les levures C. albicans de sérotype B, mais pas dans le sérotype A.

La troisième remarque c'est que l'antisérum C. claussenii absorbé 3 fois avec C. tropicalis, agglutine faiblement les levures homologues C. claussenii. L'Ag 7 de C. claussenii est-il peu immunogène ?

La quatrième remarque c'est l'agglutination inattendue du sérum anti C. claussenii privé d'anticorps correspondant à C. tropicalis, avec les levures C. parakrusei.

Pour les auteurs Japonais il y a pour l'espèce C. albicans 3 sérotypes A - B - C.

Le sérotype C est un sérotype A qui a l'Ag 7 ou bien le sérotype A est un sérotype C qui n'a pas l'antigène 7. D'après tous les travaux antérieurs à 1974 les C. albicans avaient tous l'antigène 7 (plus de 2000 exemples). Les auteurs Japonais n'arrivent pas à

fabriquer un bon sérum monospécifique anti 7 à partir de C.albicans (52-136) ; ils ont pu obtenir un antisérum 7 à partir de fractions polysaccharidiques de C.albicans couplé à l'adjuvant complet de FREUND (51). Dans ce travail les auteurs ne parlent pas de la spécificité de l'antisérum obtenu. Nous nous demandons si cet antisérum n'avait pas la même spécificité que le nôtre.

L'antigène 7 a une certaine communauté avec l'antigène 10. D'ailleurs nous avons obtenu à partir de l'antisérum C.albicans B (I N S P 6 B r) un sérum anti 7 qui agglutinait aussi C.pseudotropicalis.

7, - Préparation du sérum anti 8

Pour préparer cet antiserum, nous avons retenu la combinaison proposée par les auteurs Japonais mais en y apportant une légère modification. En effet TSUCHIYA et Coll. (145), ainsi que KANO et Coll. (81) utilisent comme levure immunisante C.pseudotropicalis et comme levure absorbante C. albicans. Ces deux levures ont les structures antigéniques suivantes:

C. pseudotropicalis : 1 - 8 - (10) 28, 31, a

C. albicans A : 1 - 4-5-6 (13b) 2,3

Nous remarquons qu'après absorption du sérum anti C.pseudotropicalis par des levures C. albicans A, il restera dans l'antisérum C.pseudotropicalis des anticorps correspondant aux Ag (10), 28 et 31. Nous avons introduit la modification qui consiste à réabsorber l'antisérum C. pseudotropicalis par des levures S. cerevisiae, ce qui aura l'avantage de supprimer les anticorps correspondant aux Ag (10) et 31.

S. cerevisiae: 1 - 10 - 18 2,3- (14), 31, a, e.

Après absorption avec S. cerevisiae, il restera éventuellement dans le sérum anti C. pseudotropicalis des anticorps correspondant à l'Ag 28, mais ces anticorps ne nous gênent pas car les levures d'intérêt médical n'ont pas l'antigène 28.

Il faut noter que nous n'avons pas pu vérifier la présence des Ag 10, 28 et 31 dans notre souche de C.pseudotropicalis, par manque d'antisérum correspondant.

- Titre du sérum anti C.pseudotropicalis : 1 / 640

Suspension antigénique ayant servi à l'absorption: C. albicans A.
Après 3 absorptions de l'antisérum C.pseudotropicalis non dilué nous avons obtenu un sérum qui n'agglutine plus les levures C.albicans A. Ensuite 2 absorptions par les levures S. cerevisiae ont permis d'éliminer du sérum tous les anticorps correspondant à S. cerevisiae.

Tableau X :
Vérification de la spécificité du sérum anti 8.
Par agglutination sur lame.

Ag	Sérum anti <u>C. pseudotropicalis</u>	
	Absorbé 3 X avec <u>C.albicans A</u>	Puis 2 X avec <u>S. cerevisiae</u>
6 B r	-	-
<u>C.albicans A</u>	-	-
<u>C.tropicalis</u>	-	-
<u>C.pseudotropicalis</u>	3+	3+
<u>C.krusei</u>	-	-
<u>C.parakru sei</u>	-	-
<u>C.guilliermondii</u>	-	-
<u>T.glabrata</u>	+	-
<u>S.cerevisiae</u>	+	-

6 B r, C. albicans B

Nous avons préparé assez facilement le sérum anti 8. Nous avons obtenu un bon sérum, sensible et relativement spécifique (il subsiste éventuellement les anticorps correspondant à l'Ag 28).

Les agglutinations observées avec les levures S. cerevisiae et T. glabrata après 3 absorptions par les levures C. albicans s'expliquent par la présence de l'antigène 10 chez ces deux levures.

8. - Préparation du sérum anti 9

La combinaison proposée par les auteurs Japonais est l'absorption d'un sérum anti C. guilliermondii avec des levures C. albicans. Pour notre part nous avons adopté cette combinaison, mais nous avons non seulement utilisé comme levure absorbante Candida albicans B, mais également C. tropicalis.

Structure antigénique des différentes levures.

<u>C. guilliermondii</u>	1- 4 - 9 2,3
<u>C. albicans A</u>	1 - 4-5-6 (13b), 2,3
<u>C. albicans B</u>	1 - 4-5 (7) 13b, 2,3
<u>C. tropicalis</u>	1 - 4-5 6 <u>2,3</u>

- Titre du sérum anti C. guilliermondii 1 / 1280

- Suspension antigénique ayant servi à l'absorption : C. albicans B.

Après 2 absorptions de l'antisérum C. guilliermondii dilué au 1/3 nous avons obtenu un sérum qui n'agglutinent plus des levures C. albicans B (6 B r).

Tableau XI :

Vérification de la spécificité du sérum anti 9.

Ag	Sérum anti <u>C. guilliermondii</u>		
	absorbé 3 X avec 6 B r	Puis 3 X avec <u>C.tropicalis</u> .	Puis 2 X avec <u>T.glabrata 2058</u>
C.albicans B(6 B r)	-	-	-
C.albicans A	3+	-	-
C.tropicalis	3+	-	-
C.pseudotropicalis	-	-	-
C.krusei	-	-	-
C.parakrusei	-	-	-
C.guilliermondii	3+	3+	-
T.glabrata 2058	2+	2+	-

6 B r: C. albicans B

Cette première tentative de préparation du sérum anti 9 a donc échoué; nous avons pensé à une erreur de manipulation qui se situerait au niveau de l'utilisation du T.glabrata 2058. Pour la 2ème tentative de préparation du sérum anti 9 nous avons changé d'antigène pour la première absorption, car l'utilisation de C.albicans B (6 B r) comme levure absorbante ne supprime pas du sérum anti C.guilliermondii tous les anticorps dirigés contre C.albicans A et C.tropicalis, ce qui ne s'explique pas par les différentes structures antigéniques.

2è tentative de préparation du sérum anti 9.

- sérum anti C.guilliermondii 1 / 1280
- Levure absorbante : C.tropicalis

Après 4 absorptions du sérum anti C.guilliermondii dilué au 1 / 3 nous obtenons un sérum qui n'agglutine plus C.tropicalis

Tableau XII :
Contrôle de la spécificité du sérum anti 9
par agglutination sur lame

Ag	Sérum anti <u>C. guilliermondii</u>	
	Absorbé 4 X avec <u>C.tropicalis</u>	Puis 3 X avec <u>T.glabrata</u> (K 7)
<u>6 B r</u>	-	-
<u>C.albicans A</u>	-	-
<u>C.tropicalis</u>	-	-
<u>C.pseudotropicalis</u>	-	-
<u>C.krusei</u>	-	-
<u>C.parakrusei</u>	-	-
<u>C.guilliermondii</u>	3+	2+
<u>T.glabrata</u> (K 7)	2+	-
<u>S.cerevisiae</u>	-	-

Nous obtenons des résultats similaires en utilisant à la place de C.tropicalis, C.albicans A comme levure absorbante. Cette deuxième tentative de préparation du sérum anti 9 semble réussie, mais malheureusement lors de nos identifications de levures avec ce sérum anti 9 que nous pensons monospécifique, nous avons trouvé 2 anomalies : 2 souches de T.glabrata que nous avons vérifiées à l'aide des caractères sérologiques et biochimiques agglutinaient avec notre sérum anti 9. L'absorption de notre sérum par ces 2 levures, a entraîné la perte de son pouvoir agglutinant vis-à-vis non seulement de ces 2 souches de Torulopsis glabrata mais également de C.guilliermondii. On retrouve donc ce qui s'est passé avec la souche de Torulopsis glabrata 2058 lors de la première tentative de préparation du sérum anti 9.

Après ces deux expériences on peut se demander s'il n'y a pas une parenté antigénique étroite entre les Ag 9 et 34.

Pour notre part nous avons préparé un sérum anti 9 qui conserve une certaine activité anti T. glabrata.

Nous tenons à faire remarquer que SWEET et KAUFMAN (120), pour préparer leur sérum anti 9, ont absorbé l'antisérum C.guilliermondii successivement avec C.albicans A, Candida albicans B, C.stellatoidea et C.tropicalis; ces différentes absorptions rappellent les étapes que nous avons suivies lors de la première tentative de préparation du sérum anti 9. Il faut souligner que SWEET et KAUFMAN n'ont pas vérifié la spécificité de leur sérum anti C.guilliermondii vis-à-vis des souches de T.glabrata.

9. - Préparation du sérum anti 10.

Ce sérum monospécifique n'existe pas dans le "Candida check" des Japonais. Pour préparer le sérum anti 10, TSUCHIYA et Coll (145) proposent l'absorption d'un antisérum S.bisporus avec des levures C.albicans.

Nous nous sommes servis de cette combinaison pour préparer notre sérum anti 10.

Rappel de la structure antigénique des souches choisies:

Saccharomyces bisporus: 1 - 3 - 4 - 10 - 26

C.albicans B: 1 - - 4-5 (7), 13b, 2,3

Nous remarquons qu'après absorption de l'antisérum S.bisporus avec C.albicans B, il restera dans l'antisérum des anticorps correspondant à l'Ag 26. Ceci n'est pas gênant car toutes les levures qui ont l'Ag 26 ont également l'Ag 10; mais en fin d'absorption nous n'aurons pas un sérum monospécifique.

- Titre du sérum anti S.bisporus: 1 / 320

Après 3 absorptions de l'antisérum S.bisporus non dilué nous obtenons un sérum qui n'agglutine plus les levures C.albicans B (6 B r).

Tableau XIII :

Vérification de la spécificité du sérum anti 10 :
par agglutination sur lame

Ag	Sérum anti <i>S. bisporus</i>	
	Absorbé 3 X avec 6 B r	Puis 2 X avec <i>C. krusei</i>
6 B r	-	-
<i>C. albicans</i> A	-	-
<i>C. tropicalis</i>	-	-
<i>C. pseudotropicalis</i>	3+	-
<i>C. krusei</i>	2+	-
<i>C. parakrusei</i>	-	-
<i>C. guillienmondii</i>	-	-
<i>T. glabrata</i>	3+	3+
<i>S. bisporus</i>	3+	3+
<i>S. cerevisiae</i>	3+	-
<i>C. catenulata</i>	2+	-

Après 3 absorptions avec *C. albicans* B (6 B r) nous remarquons que notre sérum anti 10, agglutine toutes les levures qui ont l'Ag 10 (*C. pseudotropicalis*, *T. glabrata*, *S. cerevisiae* et *S. bisporus*), mais curieusement il agglutine également *C. krusei* et *C. catenulata*, qui sont étroitement apparentées sérologiquement. Nous avons donc saturé à nouveau notre sérum avec des levures *C. krusei* ; après 2 absorptions avec ces levures notre sérum n'agglutine plus les levures *C. krusei* et *C. catenulata*, mais il n'agglutine plus également *S. cerevisiae*.

Nous avons cru à une erreur de manipulation et nous avons recommencé à 3 reprises la préparation du sérum anti 10, mais nous avons obtenu les mêmes résultats.

Si nous expliquons en partie l'absence d'agglutination de ce sérum avec les levures C.pseudotropicalis par le faible pouvoir agglutinogène de l'Ag 10, nous ne nous expliquons pas par contre ce phénomène avec les levures S.cerevisae.

En ce qui concerne T.glabrata, nous avons testé plusieurs souches de cette espèce vis-à-vis du sérum anti 10 et nous avons toujours obtenu de bonnes agglutinations.

Le sérum anti S.bisporus doit certainement renfermer une trop faible quantité d'anticorps dirigés contre l'antigène 10. De plus nous avons souligné la parenté antigénique étroite entre les Ag 7 et 10 (voir la préparation du sérum anti 7). De ce fait, l'absorption du sérum anti S.bisporus, avec C.albicans B (6 B r) qui a l'Ag 7 (36), a dû entraîner une baisse des Ac anti 10.

10. - Préparation du sérum anti 11:

Pour préparer ce sérum, nous avons choisi la combinaison de KANO et Coll (81) qui proposent l'absorption d'un antisérum C.krusei qui a l'Ag 11 spécifique du groupe Pichia de TSUCHIYA avec des levures C. albicans.

Structure antigénique de C. krusei et de C.albicans B.

<u>C.krusei</u>	1-2 -5	(11) b
<u>C.albicans B</u>	1-4-5 (7)	13b, 2,3

- Titre du sérum anti C.krusei 1/ 1280.

Après 3 absorptions de l'antisérum C.krusei dilué au 1/3 nous obtenons un sérum qui n'agglutine plus les levures C.albicans B.

(C.albicans (6 B r) et d'autres souches de C.albicans B).

Ensuite nous avons procédé au contrôle de l'agglutination sur lame de ce sérum avec d'autres espèces de levures.

Tableau XIV :

Résultat de la vérification de la spécificité du sérum anti 11.

Ag	Sérum anti <u>C. krusei</u>	
	Absorbé 3 X avec 6 B r	Puis 3 X avec <u>T. glabrata</u>
<u>C.albicans B</u> (6 B r)	-	-
<u>C.albicans A</u>	-	-
<u>C.tropicalis</u>	-	-
<u>C.pseudotropicalis</u>	-	-
<u>C.krusei</u>	3+	3+
<u>C.parakrusei</u>	-	-
<u>C.guilliermondii</u>	-	-
<u>S.cerevisiae</u>	-	-
<u>T.glabrata</u>	2++	-
<u>C.catenulata</u>	3+	3+

Après 3 absorptions avec C. albicans B (6 B r), on devrait s'attendre à une agglutination uniquement avec les levures ayant l'Ag 11, c'est-à-dire les levures du groupe Pichia de TSUCHIYA (C.krusei et C. catenulata font partie de ce groupe).

Mais on observe une agglutination assez forte (2+) avec T.glabrata. Il a fallu 3 absorptions avec des culots de levures T.glabrata pour supprimer cette agglutination non spécifique. Cette agglutination inattendue avec T.glabrata rejoint les travaux d'HASENCLEVER et MITCHELL (69) qui ont obtenu l'agglutination de T.glabrata avec des antisérums de C.krusei, C.parakrusei et C.pseudotropicalis après absorption avec des levures C.albicans.

HASENCLEVER et MITCHELL expliquent cette anomalie par la présence à la surface des levures T. glabrata des Ag communs avec les Ag profonds de

C. krusei, C. parakrusei et C. pseudotropicalis. Cette hypothèse rejoint les travaux de HASENCLEVER et Coll. (71) qui ont démontré que l'absorption de l'antisérum C. stellatoïdea (très proche du groupe B de C. albicans) par une suspension de cellules entières de C. stellatoïdea ou de C. albicans ne supprime pas toutes les propriétés agglutinantes des levures C. albicans A ou C. tropicalis vis-à-vis d'un tel sérum. Par contre, l'absorption avec une suspension de cellules broyées de C. stellatoïdea ou de C. albicans B supprime tous les anticorps contre C. albicans A ou C. tropicalis.

Nous avons également effectué des contrôles avec d'autres souches de C. albicans A ou B et de T. glabrata mais nous n'avons obtenu aucune agglutination.

- Nous avons réussi à préparer un bon sérum anti 11, très sensible et très spécifique.

11. - Préparation du sérum anti 13

Pour préparer cet antisérum 2 combinaisons sont possibles. Celle de KANO et Coll (81) qui absorbent l'antisérum C. parakrusei avec des levures C. albicans, et celle de TSUCHIYA et Coll. (45) qui saturent l'antisérum C. pulcherrima avec des levures C. albicans.

Nous avons utilisé les deux combinaisons.

Structure antigénique des différentes levures

<u>C. parakrusei</u> :	1 - 5	13- 13b	2, 3, (14) (15) c
<u>C. pulcherrima</u> :	1 5	13	2,3 14 (15) d.
<u>C. albicans B</u> :	1 - 4-5	(7)13b	2,3

Première combinaison:

- Antisérum C. parakrusei : 1 / 160
- Levure absorbante C. albicans B

Nous remarquons qu'après absorption par les levures C. albicans B il restera éventuellement dans l'antisérum des anticorps dirigés contre les Ag 14 et 15. Pour avoir un sérum monospécifique, il serait souhaitable d'absorber ces anticorps avec des levures qui ont les Ag 14 et 15, telle que Hansenula anomala. Malheureusement nous n'avons pas cette souche, nous avons donc absorbé notre antisérum par des levures S. cerevisiae pour éliminer les anticorps dirigés contre l'Ag 14.

- Après 3 saturations de l'antisérum C. parakrusei non dilué nous obtenons un antisérum qui n'agglutine plus les levures C. albicans B

Tableau XV :

Vérification de la spécificité de l'antisérum 13
par agglutination sur lame.

Ag	Sérum anti <u>C. parakrusei</u>	
	Absorption 3 X avec 6 B r	Puis 1 X avec <u>S. cerevisiae</u>
C. albicans B (6 B r)	-	-
C. albicans A	-	-
C. tropicalis	-	-
C. pseudotropicalis	-	-
C. krusei	-	-
C. parakrusei	2 +	2 +
C. guilliermondii	-	-
T. glabrata	-	-
S. cerevisiae	-	-
C. zeylanoides	2 +	2 +

6 B r: C. albicans B

Nous remarquons qu'après 3 absorptions de l'antisérum C.parakrusei avec des levures C.albicansB(6 B r), nous obtenons un sérum spécifique qui n'agglutine qu'avec C. parakrusei et C.zeylanoides (ces 2 levures ayant l'Ag 13). Ce sérum n'agglutine pas S.cerevisiae mais nous l'avons néanmoins saturé avec cette levure, pour éliminer d'éventuelles agglutinations non spécifiques avec d'autres souches de S.cerevisiae.

- Nous n'avons pas pu tester la spécificité et la sensibilité du sérum 13 obtenu avec plusieurs souches de C.zeylanoides car nous en manquions, mais nous tenons à souligner la facilité avec laquelle nous avons obtenu ce sérum anti 13.

Deuxième combinaison:

- Antisérum C. pulcherrima : 1 / 80
- Levure absorbante : C. albicans A

La même remarque faite dans la première combinaison a propos des anticorps dirigés contre les Ag 14 et 15 est valable ici également. Après 2 absorptions de l'antisérum C. pulcherrima non dilué nous obtenons un antisérum qui n'agglutine plus C. albicans.

- Cette deuxième combinaison, ne nous a donc pas donné les résultats escomptés. Le titre très bas de notre antisérum C.pulcherrima y est peut être pour quelque chose.

12) - PREPARATION DU SERUM ANTI 13b

Pour préparer cet antisérum Tsuchiya et Coll. proposent l'absorption d'un antisérum C. albicans par des levures C.tropi- calis , KANO et Coll.de leur côté proposent 2 combinaisons : soit l'absorption d'un antisérum C. parakrusei par des levures C.tropi- calis, soit l'absorption d'un antisérum C. albicans B par des le- vures C. guilliermondii.

Structure antigénique de ces différentes levures.

<u>C. albicans B</u>	: 1 - 4 -5	(7) 13b,	2,3
<u>C. tropicalis</u>	: 1 - 4 -5 - 6	,	2,3
<u>C. guilliermondii</u> :	1 - 4	9	, 2,3
<u>C. parakrusei</u>	: 1 - 5	13- 13b,	2,3 (14) (15)

Nous avons opté pour la proposition de Tsuchiya et Coll. mais en y apportant une légère modification.

En regardant le tableau de Tsuchiya et Coll. sur la structure anti- génique des levures, on remarque que C. albicans B peut avoir l'Ag 7, donc après saturation de l'antisérum C. albicans B par des levures C. tropicalis, il peut subsister les anticorps correspondant à l'Ag. 7; nous avons donc trouvé nécessaire d'absorber le sérum anti C.albi- cans B privé des anticorps dirigés contre C. tropicalis par des culots de levures C. claussenii qui ont l'Ag 7. Ainsi on aura un sérum monospécifique.

Les deux combinaisons de KANO et Collaborateurs ne permettent pas d'obtenir un sérum monospécifique anti 13B. En effet, la première, c'est à-dire l'absorption de l'antisérum C. parakrusei par des levures C. tropicalis, laisse subsister des anticorps anti 13 et 13B., la deuxième combinaison, c'est à dire l'absorption d'un antisérum C. albicans B par des levures C. guilliermondii, rappelle celle de Tsuchiya et collaborateurs, et nécessite par contre une éventuelle absorption avec des levures C. claussenii.

Nous tenons à faire remarquer que Tsuchiya et collaborateurs préconisent l'utilisation du C. albicans B ref NIH 792. Cette levure dont nous ne connaissons pas la structure antigénique exacte n'a peut être pas l'Ag 7.

D'autre part nous avons utilisé comme souche de C. albicans B, la souche de référence INSP 6 B r., malheureusement le "Candida check" ne nous a pas permis, par manque d'antisérum correspondant, de vérifier la présence ou l'absence d'Ag 7 dans cette souche, mais notre antisérum anti 7 nous permet d'affirmer que C. albicans (INSP 6 B r) possède l'Ag 7.

Nous avons tenté de préparer notre antisérum 13b, en partant du sérum anti C. parakrusei, absorbé par des levures C. tropicalis. Nous n'avons malheureusement pas pu obtenir un bon antisérum 13b, avec cette combinaison, nous attribuons cet échec à la structure antigénique assez complexe de C. parakrusei.

Notre expérience dans la préparation du sérum anti 13 b.

Sérum anti C. albicans B (6 B r) 1/1280

Levure absorbante C. tropicalis

Après 4 absorptions du sérum anti C. albicans B dilué au 1/2 on obtient un sérum qui n'agglutine plus avec C.tropicalis. Nous avons volontairement utilisé un sérum peu dilué (1/640) dans le souci d'avoir un très bon anti-sérum 13b.
Vérification de la spécificité de l'antisérum 13b.

Tableau XVI :

Vérification de la spécificité de l'antisérum 13b.
par agglutination sur lame

Ag.	Sérum anti <u>C. albicans B</u>		
	absorbé 4 x avec <u>C.tropicalis</u>	Puis 2 x avec <u>C.albicans A + C.guilliermondii</u>	Puis 2 x avec <u>T.glabrata</u> .
6 B r	2 +	+	+
<u>C. albicans</u>	+	-	-
<u>C. tropicalis</u>	-	-	-
<u>C. pseudotropicalis</u>	-	-	-
<u>C. krusei</u>	-	-	-
<u>C. parakrusei</u>	3 +	3 +	3 +
<u>C. guilliermondii</u>	+	-	-
<u>T. glabrata</u>	2+	2+	-
<u>C. zeylanoides</u>	-	-	-

Ce tableau montre qu'après 4 absorptions par des levures C.tropicalis on obtient un antisérum C.albicans B qui agglutine bien toutes les levures ayant l'Ag 13b (6 B r et C. parakrusei). mais cet antisérum donne une bonne agglutination avec T.glabrata, et il donne une légère agglutination avec C.albicans A et C.guilliermondii.

Après saturation par un mélange de culot de levures C.albicans A + C. guilliermondii, on obtient un sérum qui agglutine toujours très bien les levures C. parakrusei et T.glabrata, mais on note une baisse du pouvoir agglutinant de ce sérum vis-à-vis des levures C. albicans B (INSP 6 B r).

Une dernière absorption avec les levures T.glabrata nous a permis d'obtenir un antisérum qui agglutine très bien C.parakrusei et très moyennement C. albicans B (INSP 6 B r).

Nous avons testé cet antisérum avec plusieurs autres souches de C.albicans B mais nous avons obtenu une agglutination semblable.

Nous tenons à faire remarquer que SWEET et KAUFMAN (121) après absorption d'un antisérum C.albicans B avec des levures C.tropicalis ont obtenu un sérum qui agglutinait toujours C.stellatoïdea. Torulopsis glabrata et C. stellatoïdea ayant l'Ag 10, on peut conclure que ces résultats confirment la parenté antigénique entre les Ag 7 et 10. En effet toutes les souches de C. albicans sérotype B à Abidjan ont l'Ag 7 (36). On peut donc considérer que le sérum

anti C. albicans B (INSP 6 B r) absorbé avec C. tropicalis qui n'a jamais l'Ag 13 B et l'Ag 7 garde encore des anticorps contre l'Ag 13B et l'Ag 7. Et ce sont ces anticorps anti 7 qui expliquent l'agglutination avec T. glabrata.

Malgré plusieurs tentatives nous n'avons pas pu obtenir un très bon antisérum 13 B.

Devant ce résultat très moyen nous nous sommes posés plusieurs questions : L'Ag 13 B de C. albicans est-il faible ou a-t-il un pouvoir immunogène très faible ? nous avons envisagé cette possibilité, car nous avons eu à préparer d'autres antisérums C. albicans dans le but d'avoir un bon sérum 13 B, mais malgré les hauts titres obtenus avec ces souches (1/1280) nous n'avons pas pu obtenir de meilleurs résultats.

Nos souches de C. albicans A (IFO, INSP 2B r, V W) ont-elles un Ag 13 B non décelable par l'antisérum 13 B du "Candida check"; cette éventualité n'est pas à écarter car après absorption de l'antisérum C. albicans B avec des levures C. albicans A, on note une baisse du pouvoir agglutinant de cet antisérum vis-à-vis de C. albicans B (INSP 6 B r), cette hypothèse est confirmée en partie par le tableau II de Tsuchiya qui montre que C. albicans A peut avoir l'Ag 13 B mais en quantité variable.

13) - PREPARATION SU SERUM ANTI 34.

Pour préparer cet antisérum, KANO et Coll. préconisent d'absorber l'antisérum T. glabrata par des levures C. albicans; Tsuchiya et Coll. utilisent la même combinaison, mais réabsorbent l'antisérum T. glabrata par C. pseudotropicalis. Nous avons retenu la méthode de Tsuchiya, car elle permet d'éliminer les anticorps correspondant à l'Ag 10.

Structure antigénique des différentes levures.

<u>T. glabrata</u>	1- 3	6	10	34
<u>C. albicans A:</u>	1- 4-	5- 6	(13b),	2,3
<u>C. pseudotropicalis</u>	1	8	(10)	28,31 a.

Il faut noter que T. glabrata peut posséder l'Ag 4 ou l'Ag5 ou les deux à la fois.

Comme première levure absorbante nous avons choisi C. albicans A car sa structure antigénique comporte les Ag 4 et 5; notre expérience dans la préparation du sérum anti 34.

sérum anti T. glabrata : 1/2560

levure absorbante C. albicans A (2 B r)

Après 4 absorptions de l'antisérum T. glabrata dilué au 1/4, nous obtenons un antisérum qui n'agglutine plus C. albicans A.

Tableau XVII :

Vérification de la spécificité de l'antisérum 34
par agglutination sur lame.

Ag	Sérum anti <u>T. glabrata</u>			
	absorbé 4 X avec <u>C. albicans A.</u>	Puis 2 x avec 6 B r	Puis 4 x avec <u>C. guilliermondii</u>	Puis 1 x avec <u>S. cerevisiae</u>
6 B r	+	-	-	-
C. albicans A	-	-	-	-
C. tropicalis	-	-	-	-
C. pseudotropicalis	-	-	-	-
C. krusei	-	-	-	-
C. parakrusei	-	-	-	-
C. guilliermondii	2 +	2+	-	-
T. glabrata	3 +	3 +	2+	2+
S. cerevisiae	+	+	+	-

Le tableau ci-dessus nous montre qu'après 4 absorptions avec des culots de levures C. albicans A, nous obtenons un antisérum T. glabrata qui agglutine très bien T. glabrata, mais cet antisérum agglutine de façon inattendue C. guilliermondii (2 +) et C. albicans B (6 B r) (+), on n'obtient pas d'agglutination avec C. pseudotropicalis (Ce résultat peut s'expliquer par le faible pouvoir agglu-

tinogène de l'Ag 10 de C. pseudotropicalis, antigène mis entre parenthèses dans les tableaux I et II de Tsuchiya), mais on obtient une agglutination avec S. cerevisiae par l'Ag 10. L'agglutination avec C. guilliermondii, rappelle la préparation du sérum anti 9 où nous avons remarqué qu'après absorption du sérum anti C. guilliermondii par des culots de levures C. albicans et C. tropicalis on obtient toujours une forte agglutination avec les levures T. glabrata.

De même l'agglutination de cet antisérum avec C. albicans B (INSP 6 Br) fait penser à la préparation du sérum anti 13B où nous avons obtenu après absorption de l'antisérum C. albicans B par C. tropicalis, un sérum qui agglutinait très bien T. glabrata. Cette constatation peut faire penser à une éventuelle relation entre les Ag 10 et 13 B. Mais nous avons démontré la faiblesse de l'Ag 13B. Plusieurs auteurs l'ont également observé (34), sauf les auteurs Japonais qui n'insistent pas. Cette dernière observation doit plutôt faire penser à l'interférence de l'Ag 7. En effet C. albicans B (6 Br) a l'Ag 7, et le sérum anti T. glabrata saturé avec C. albicans A qui n'a pas l'Ag 7, peut encore agglutiner C. albicans B, du fait de la parenté antigénique entre les Ag 7 et 10.

Après absorptions successives par des culots de levures C. albicans B (INSP 6Br), C. guilliermondii, et S. cerevisiae, on obtient un sérum anti T. glabrata qui agglutine très bien les levures T. glabrata.

C - UTILISATION DES ANTISÉRUMS PRÉPARÉS DANS L'IDENTIFICATION DES SOUCHES DE LEVURES

Plusieurs auteurs ont utilisé avec succès le "Candida check" des Japonais (31, 33, 81, 117, 122, 123, 145). Dans plus de 95 % des cas les résultats de l'identification sérologique correspondaient aux résultats de l'identification par les caractères biologiques. SWEET et KAUFMAN (121) ont pu préparer 13 antisérums dont six sont monospécifiques. Ces six sérums monospécifiques leur permettaient d'identifier par la méthode d'agglutination sur lame C. guilliermondii, C. krusei, C. parapsilosis et C. pseudo tropicalis, mais il ne pouvaient pas séparer antigéniquement C. albicans sérotype A de C. tropicalis, ou C. albicans sérotype B de C. ste llatoidea

Pour chaque antisérum SWEET et KAUFMAN ont déterminé la sensibilité et la spécificité en répétant les agglutinations avec diverses souches de levures d'espèces différentes et déjà identifiées, la sensibilité est la mesure de la capacité de l'antisérum à détecter un antigène quand celui-ci est présent, et la spécificité est la mesure de son incapacité à réagir avec des Ag hétérologues.

Comme ces auteurs, nous avons tenté d'apprécier ces différents paramètres pour nos antisérums.

Avant d'entamer l'identification proprement dite des différentes souches de levures par nos antisérums, il faut noter que FUKAZAWA et coll (52) ont montré la haute spécificité des fractions IgG dans les réactions sérologiques avec les différentes espèces de Candida.

Les différents sérums monospécifiques du "Candida check" sont préparés à partir de fractions IgG.

Les travaux de SWEET et KAUFMAN (121) ainsi que nos travaux font intervenir des antisérums préparés à partir de sérum brut (mélange d'IgG et d'IgM).

MATÉRIEL ET MÉTHODES :

- LES SOUCHES

Nous avons retenu pour cette étude 520 souches de levures provenant de prélèvements divers : prélèvements vaginaux, prélèvements cutanés, les urines et les crachats.

Toutes les souches proviennent de malades africains de l'agglomération Abidjanaise. Les souches d'origine vaginale, urinaire et digestive proviennent de malades ayant consulté au service de gynécologie et de médecine du C.H.U. de Cocody, ainsi que de la consultation de l'Institut National de Santé Publique d'Abidjan. Les souches d'origine cutanée ont été isolées chez des patients provenant du service de dermatologie du C.H.U. de Treichville ; enfin, les souches isolées des crachats proviennent de malades hospitalisés au service de Pneumophysiologie du C.H.U. de Cocody.

Les prélèvements ont été effectués au service de Microbiologie de l'Institut National de Santé Publique d'Abidjan et au service de Parasitologie-Mycologie de la Faculté de Médecine d'Abidjan pour les souches urinaires, vaginales et digestives, et exclusivement au laboratoire de Parasitologie et Mycologie pour les souches issues des crachats et de la peau.

Hormis ces 520 souches, nous avons utilisé certaines souches de référence de l'Institut Pasteur de Lyon, de l'Institut Pasteur de Paris ou du service du Pr. Percebois à Nancy pour tester nos antisérums.

Pour avoir des souches pures, nous avons procédé de la façon suivante : nous choisissons une colonie isolée dans la primoculture, et nous l'ensemencions par épuisement sur gélose de Sabouraud en boîte de Pétri, puis nous isolons une nouvelle colonie que nous réensemencions par épuisement sur milieu de

Sabouraud additionné de chloramphénicol.

Après 48 h de culture à 37°C nous soumettons les levures à un test de blastèse et une recherche d'uréase. Les levures blastèse (-) et uréase (-) subissent un test de chlamydosporulation sur milieu R.A.T. (Rice-Agar-Tween).

Compte tenu de nos moyens matériels limités, nous avons considéré que toutes les levures Blastèse (+) ou chlamydosporulation (+) et uréase (-) étaient identifiées comme C. albicans.

Les levures blastèse (-), chlamydosporulation (-) et uréase (-) sont traitées par le système API 20 C auxanogramme et par la sérologie. D'autre part les souches identifiées comme C. albicans subissent un contrôle par les sérums monospécifiques pour vérifier leur structure antigénique et pour préciser leur sérotype.

- LES SERUMS MONOSPECIFIQUES.

Nous avons utilisé nos propres antisérums. Nous avons retenu les sérums monospécifiques permettant de détecter les Ag 1-4-5-6-8-9-11-13-13b et 34 du groupe des Candida de Tsuchiya (Tableaux I et II).

- MODE OPERATOIRE :

- Agglutination sur lame :

Une grosse Ose de culture de levure de 48 h est émulsionnée dans un 1/2 ml de sérum physiologique dans un tube à hémolyse. Sur des plaques en verre pour agglutination, on dépose une goutte de chaque sérum monospécifique. Ensuite, à l'aide d'une pipette fine on dépose une goutte de suspension de levures dans chacun des 10 compartiments, puis on agite pendant 30" à 2' les plaques d'un mouvement lent et rotatif. La lecture est faite dans les 5' qui suivent.

N.B. : L'émulsion de la levure dans du sérum physiologique présente l'avantage de déceler les souches autoagglutinables, qui peuvent être récupérées après ébullition pendant 2 h.

Nous n'avons pas retenu la méthode préconisée par le "Candida check" qui consiste à faire une identification par élimination en utilisant les sérums dans un ordre précis (voir chapitre "Candida check"). Cette méthode permet certes une économie de temps et de réactif, mais elle ne permet ni la détection de souches à structure antigénique aberrante, ni de déceler une souillure éventuelle. En utilisant simultanément ces 10 sérums monospécifiques nous avons déceler un mélange de levures C.krusei et T.glabrata. Ce mélange n'a pu être détecté par le système API 20C Auxanogramme; ces deux levures présentant beaucoup de caractères auxanographiques négatifs (84).

- La recherche de l'uréase.

La recherche d'uréase est effectuée sur le milieu urée indole de l'Institut Pasteur.

Dans des tubes à hémolyse contenant 0,5 ml de ce milieu on ajoute 3 gouttes de la suspension de levures en sérum physiologique à étudier. Le test est interprétable au bout de 4 h. Si le test est positif le milieu vire au rouge violacé.

- Les résultats

. Le test de recherche de l'uréase.

Toutes les levures sont uréase négative; et toutes les levures agglutinent le sérum anti 1. Ces 2 résultats nous permettent de continuer nos identifications par nos sérums monospécifiques, car ces 10 sérums permettent d'identifier les levures du groupe des Candida de Tsuchiya, et toutes les levures de ce groupe sont uréase négative et agglutinent le sérum anti 1.

- Le test de Blastèse ou de chlamydosporulation.

Sur les 520 souches, 361 avaient une blastèse + ou une chlamydosporulation + . Il faut noter que la plupart d'entre elles avaient plutôt une blastèse + ce qui permet donc de penser que ce sont bien des Candida albicans.

Nous rendrons compte des résultats de l'identification sérologique de ces levures dans la partie de ce travail consacrée aux résultats des sérotypes des souches de C.albicans rencontrées en Côte d'Ivoire.

- Résultats de l'identification des souches autres que C.albicans. Avant de voir en détail les principaux résultats, il est bon de rappeler la structure antigénique des espèces de Candida pouvant être identifiées par les 10 sérums monospécifiques préparés.

Tableau XVIII: Structure antigénique des principaux Candida d'intérêt médical selon KANO et SUZIKI.

ESPECES OU SEROTYPES	STRUCTURE ANTIGENIQUE					
C. albicans A	1	4	5	6		13b**
C. albicans B	1	4	5			13b*
C. tropicalis	1	4	5	6*		
C. stellatoidea	1	4	5			
C. guilliermondii	1	4			9	
C. krusei	1		5*			11
C. parakrusei	1		5*			13 13b
C. pseudotropicalis	1				8	
T. glabrata	1	4	5**	6		34

* exceptionnellement absent

* * exceptionnellement présent.

Remarque : On note dans ce tableau que C. stellatoidea, C. pseudotropicalis et T. glabrata n'ont pas l'Ag 10, mais cela s'explique par le manque d'antisérum 10 dans le "Candia check".

D'autre part dans le Candida check, il ya 2 tests biologiques qui permettent de distinguer C. albicans A de C. tropicalis et C. albicans B de C. stellatoidea.

- Comparaison de l'identification par nos sérums monospécifiques avec l'identification par la galerie API 20c auxanogramme.

- Par la méthode sérologique sur les 159 souches autres que C. albicans, 146 ont été identifiées 13 n'ont pu être identifiées.

Parmi ces 13 souches, 10 ont été identifiées comme des Candida sp, l'une était autoagglutinable et les 2 autres avaient une structure antigénique aberrante ne permettant pas leur identification.

- Par la méthode auxanographique (Api 20c) sur les 159 souches autres que C.albicans 149 ont été identifiées précisément 10 n'ont pu être identifiées, parmi ces 10 souches 2 ont été identifiées, parmi ces 10 souches 2 ont été identifiées comme des Saccharomyces sp, 4 comme des Candida sp et 4 n'ont pu être identifiées.

Par ordre de fréquence décroissant on a: C.tropicalis, T.glabrata C.krusei, C.pseudotropicalis, C.guilliermondii et C. parakrusei

Tableau XIX :
Identification sérologique et auxanographiques des souches autres que C.albicans.

Espèces	Identification sérologique		Identification auxanographique	
		%		%
<u>C.tropicalis</u>	61	38,3	56	35,2
<u>T.glabrata</u>	37	23,2	39	24,5
<u>C.krusei</u>	23	14,4	24	15,0
<u>C.pseudotropicalis</u>	11	6,9	11	6,9
<u>C.guilliermondii</u>	8	5,0	8	5,0
<u>C.parakrusei</u>	6	3,7	6	3,7
<u>C.rugosa</u>	-	-	5	3,1
<u>Saccharomyces sp</u>	-	-	2	1,2
<u>Candida sp</u>	10	6,2	4	2,5
Inconnues	3	1,8	4	2,5
Total	159	100 %	159	100 %

Tableau XX : . Nombre de souches identifiées comme la même espèce par la méthode sérologique et la méthode auxanographique.

ESPECES	NOMBRE DE SOUCHES IDENTIFIEES PAR LA SEROLOGIE	NOMBRE DE SOUCHES IDENTIFIEES COMME LA MEME ESPECE PAR LES 2 METHODES
C. tropicalis	61	56
T. glabrata	37	37
C. krusei	23	23
C. parakrusei	6	6
C.pseudotropicalis	11	11
C.guilliermondii	8	8

Il est à remarquer que nos sérums monospécifiques ne peuvent pas permettre l'identification sérologique de C. rugosa et des espèces de Saccharomyces. D'autre part les 10 Candida Sp auraient pu être identifiés si l'on disposait d'un nombre plus élevé de sérums monospécifiques.

La concordance entre l'identification sérologique et l'identification auxanographique est de 141 souches ce qui représente 88,6 % des 159 souches autres que C. albicans. Cependant la concordance des résultats passe de 88,6% à 93,3% si on enlève des 159 souches, les souches ne pouvant être identifiées par nos 10 sérums monospécifiques c'est-à-dire : C. rugosa (5 souches) Saccharomyces Sp (2 souches) et la souche autoagglutinable totalisée dans les inconnues.

Nous allons voir en détail les résultats de l'agglutination sur lame avec nos sérums monospécifiques. Dans le tableau récapitulatif nous n'avons pas figuré volontairement les Candida Sp qui le plus souvent n'ont agglutiné qu'avec le sérum anti 1, ainsi que toutes les souches qui ont présenté une agglutination aberrante ne permettant pas leur identification sérologique.

Tableau XXI: Résultat de l'agglutination sur lame avec nos sérums monospécifiques.

NOMBRE DE SOUCHES	SÉRUMS MONOSPECIFIQUES	Notre identification
	1 4 5 6 8 9 11 13 13b 34	
1	+ + + + +	C. tropicalis
6	+ + + +	C. tropicalis
5 4	+ + + +	C. tropicalis
3	+ + + + + +	
1 5	+ + + +f +f +	T.glabrata
1 9	+ + + +	
2 0	+ + + +	
1	+ + + +	C. krusei
2	+ + + +	
9	+ + + +	C. pseudotropicalis
2	+ + + +	
6	+ + + +	
2	+ + + +	C. guilliermondii
4	+ + + +	C. parakrusei
2	+ + + +	

+f = faible agglutination

COMMENTAIRE:

Les souches que nous avons identifiées comme C. tropicalis avaient toutes l'Ag 6, 6 d'entre elles n'avaient pas l'Ag 5, mais nous avons remarqué lors de la préparation du sérum anti 5 que ce sérum était assez faible; l'une d'entre elle avait l'Ag 13b; on peut éventuellement penser à une souche de C. albicans A ayant l'Ag 6 et l'Ag 13b, comme cela a été observé par KANNO et SUZUKI (81), mais il s'agit d'une souche qui a une blastèse (-) et une chlamydo-population (-). Parmi les souches identifiées comme T. glabrata, 3 avaient l'Ag 5 et l'Ag 13b qui n'existe normalement pas chez T. glabrata. C'est la présence de l'Ag 34 qui nous a orienté dans notre identification car cet Ag est spécifique de T. glabrata, 15 d'entre elles avaient les Ag 9 et 13b en faible quantité ; nous attribuons ces agglutinations aberrantes au peu de spécificité de ces 2 antisérums.

Dans l'ensemble la structure antigénique de C. krusei par nos antisérums est la même que celle de TSUCHIYA : Ag 1 - 5 et 11. 1 souche avait l'Ag 13b, et les 2 autres n'avaient pas l'Ag 5. Ces anomalies s'expliquent par la faible spécificité de ces antisérums.

L'identification de C. pseudotropicalis n'a pas posé beaucoup de problèmes puisque sur les 11 souches, 9 avaient une structure antigénique conforme à celle de TSUCHIYA : Ag 1-8. 3 avaient l'Ag 5, mais la présence de l'Ag 8 nous a orienté vers l'identification de C. pseudotropicalis. Cependant Saccharomyces elegans à l'Ag 5 (Ag 1,8 (10) 4,5) (Tb. II.). On peut donc se demander s'il faut mettre cela sur le compte du peu de spécificité de l'antisérum 5 ou si l'on a plutôt affaire à une espèce de Saccharomyces, (il faut noter que S. fragilis, s. marxianus et C. pseudotropicalis ont la même structure antigénique (132 - 143- 145).

En ce qui concerne C. guilliermondii, 2 de nos souches avaient l'Ag 6, on s'explique mal cette anomalie. Dans le groupe Debaryomyces de TSUCHIYA (Tb II) caractérisé par l'Ag 9, aucune levure n'a l'Ag 6. C'est la présence de l'Ag 9 qui nous a orienté vers l'identification de C. guilliermondii.

La structure antigénique de C. parakrusei est la suivante : Ag 1 5 13 13b, l'Ag 5 est exceptionnellement absent d'après KANNO (81). Sur nos 6 souches 4 n'avaient pas l'Ag 5. Il faut noter que DOUCHET et MULLER (33) ont déjà noté l'absence de l'Ag 5 dans plusieurs souches de C. parakrusei identifiées avec les sérums du "Candida check" des auteurs japonais.

Au vue de nos résultats, nous avons essayé de déterminer la sensibilité et la spécificité de nos différents antisérums. La sensibilité est la mesure de la capacité de l'antisérum à détecter un Ag quand il est présent et la spécificité est la mesure du manque de réaction avec des Ag hétérologues.

Antisérum 1: Sa sensibilité est très bonne, toutes les levures testées ont présenté l'Ag 1. (sté 100 %). Sa spécificité est difficile à préciser car dans cette étude nous n'avons pas de souches qui n'ont pas l'Ag 1, mais il faut noter que nous avons eu des souches de Trichosporon et de cryptococcus qui n'ont pas agglutiné avec notre sérum anti 1.

Antisérum 4 : Sa sensibilité est très bonne, de l'ordre de 100 % car toutes les levures qui ont l'Ag 4 (C. tropicalis, C. guilliermondii et T. glabrata) ont été agglutinées par cet antisérum. Sa spécificité, on peut également l'estimer à 100 % car aucune levure dépourvue de l'Ag 4 n'a agglutiné avec cet antisérum.

Antisérum 5 : 6 souches de C. tropicalis sur 61 n'ont pas l'Ag 5, 4 souches de C. parakrusei sur 6 n'ont pas l'Ag 5 et 2 souches de C. krusei sur 23 n'ont pas l'Ag 5, au total 12 souches sur 90 souches n'ont pas l'Ag 5, on a donc une sensibilité de l'ordre de 86,6 %.

Sa spécificité:

3 souches de T. glabrata sur 37 ont l'Ag 5, mais l'Ag 5 peut être présent (81), 2 souches de C. pseudotropicalis sur 11 ont l'Ag 5. Si l'on considère le total des souches n'ayant pas l'Ag 5 (T. glabrata: 37, C. guilliermondii 8 et C. pseudotropicalis 11), on a 5 souches sur 56 qui ont l'Ag 5, ce qui représente une spécificité de 91 % ; mais si l'on admet que T. glabrata a l'Ag 5 on obtient 2 souches sur 56 qui n'ont pas l'Ag 5, ce qui représente une spécificité de 96,4 %.

Antisérum 6 : sa sensibilité est très bonne, on peut l'estimer à 100 %, car toutes les levures qui ont l'Ag 6 ont été agglutinées par cet antisérum.

Sa spécificité est également très bonne, car seules deux souches de C. guilliermondii, qui n'ont normalement pas l'Ag 6 ont été agglutinées par l'antisérum 6.

Antisérum 8 : sa sensibilité et sa spécificité sont très bonnes car l'Ag 8 de toutes les souches de C. pseudotropicalis a été détecté par cet antisérum, et aucune souche, autre que C. pseudotropicalis n'a été agglutiné par l'antisérum 8.

Antisérum 9 : toutes les souches de C. guilliermondii ont présenté l'Ag 9, sa sensibilité est donc très bonne.

Spécificité : 15 souches de T. glabrata ont présenté l'Ag 9 sur les 138 souches de levures n'ayant pas l'Ag 9 (C. tropicalis 61, T. glabrata : 37, C. parakrusei 6, C. krusei 23, C. pseudotropicalis 11), sa spécificité est donc de l'ordre de 89 %.

Antisérum 11 : sa sensibilité et sa spécificité sont très bonnes, car l'Ag 11 de toutes les souches de C. krusei a été décelé, et aucune souche autre que C. krusei n'a été agglutinée par le sérum anti 11.

Antisérum 13 : l'Ag 13 de toutes les souches de C. parakrusei a été détecté, et aucune souche autre que C. parakrusei n'a présenté l'Ag 13. On a donc une bonne sensibilité et une bonne spécificité.

Antisérum 13 b : toutes les souches de C. parakrusei ont présenté l'Ag 13 b, mais la sensibilité de cet antisérum ne pourra être jugée qu'après le sérotypage des souches de C. albicans car le sérotype B de C. albicans a l'Ag 13 b.

Spécificité : 1 souche de C. tropicalis sur 61, 18 souches de T. glabrata sur 37 et 2 souches de C. krusei sur 23, soit 21 souches sur les 146 souches de levures n'ayant pas l'Ag 13 b, (C. parakrusei, C. pseudotropicalis et C. guilliermondii n'ont pas l'Ag 13 b) ont présenté cet Ag. On a donc une spécificité de l'ordre de 85 %.

Antisérum 34 : l'Ag 34 de toutes les souches de T. glabrata a été détecté, et aucune souche autre que T. glabrata n'a présenté l'Ag 34. On a donc une bonne sensibilité et une bonne spécificité.

Dans l'ensemble nous avons préparé des sérums d'une bonne sensibilité et d'une bonne spécificité.

D - SEROTYPAGE DES SOUCHES DE CANDIDA ALBICANS RENCONTREES
EN COTE D'IVOIRE

HASENCLEVER et MITCHELL en 1961, (70) ont montré par des réactions d'agglutination que Candida albicans répondait à 2 sérotypes: Candida albicans sérotype A et C. albicans sérotype B. Candida albicans sérotype A est très proche antigéniquement de C. tropicalis, et C. albicans sérotype B de C. stellatoidea (60-71-74-77-120).

Les deux sérotypes de C. albicans ont des propriétés morphologiques, physiologiques et pathologiques identiques (55-57-70-72)

La distribution des sérotypes A et B de C. albicans varie selon l'origine anatomique des prélèvements, la race, la région géographique. En France et en Europe le sérotype A prédomine 75 à plus de 90 % selon les auteurs (38-42-58-102- 118). Aux U. S. A., au contraire HASENCLEVER trouve une proportion beaucoup plus élevée de sérotype B parmi les femmes noires Américaines, 60 % de sérotype B (73).

DROUHET (42), au Sénégal, sur 64 souches de femmes sénégalaises 15 étaient de sérotype B soit 23,4%, ce taux assez élevé est cependant loin de la haute prévalence dans la population noire Américaine. L'origine anatomique des prélèvements intervient très peu dans la distribution des sérotypes (42-70-73) . Plusieurs auteurs ont observé que néanmoins le sérotype B apparaissait plus fréquent parmi les souches isolées de la sphère génitale (38-39-58-102)

D'autre part les 2 sérotypes de C. albicans n'ont pas la même sensibilité vis-à-vis de la 5 fluorocytosine (5 F C).

DROUHET et Coll. en 1973 (39) ont observé que les souches appartenant au sérotype B sont fréquemment résistantes à la 5 F C tandis que les souches de sérotype A sont très sensibles à cet antifongique. Plusieurs autres travaux (35-36-40-42-102) ont confirmé ces observations. Il faut noter que la haute prévalence des sérotypes B dans les souches vaginales africaines est associée à la haute prévalence de résistance à la 5 F C. (35, 36, 41). Il faut souligner également qu'à Dakar, on note un taux de résistance plus faible qu'à Abidjan parmi les souches d'origine vaginale (35, 41). L'existence de ces 2 sérotypes soulève le problème de la structure pariétale de ces 2 types de C. albicans.

Les mannanes sont les constituants antigéniques essentiels de la paroi de C. albicans et même des autres levures 19 (24-60-74-120) pour HASENCLEVER et Coll. (70-120) Les mannanes de C. albicans A renferment tous les déterminants antigéniques des mannanes de C. albicans B plus un ou plusieurs antigènes supplémentaires. Les travaux de TSUCHIYA (143 - 145) infirment cette hypothèse ; car les tableaux de classifications des levures du genre Candida de TSUCHIYA montrent la présence de l'Ag13 B présent chez le sérotype B et habituellement absent chez le sérotype A, ce désaccord doit être interprété dans le choix des souches initiales des auteurs Américains. L'étude des mannanes de C. albicans sérotypes A et B a démontré qu'ils ont des polymères très ramifiés contenant des liaisons $\alpha(1 \rightarrow 2)$ $\alpha(1 \rightarrow 3)$ et $\alpha(1 \rightarrow 6)$ et que les deux sérotypes diffèrent dans leur degré de polymérisation (42,74).

MATERIEL ET METHODES

Les souches.

361 souches de C. albicans , identifiées par le test de blastèse dans la plupart des cas et quelquefois par le test de chlamydosporulation sur R.A.T., ont fait l'objet de cette étude. Toutes les souches proviennent de malades africains de l'agglomération abidjanaise, originaire de la Côte-d'Ivoire ou des pays limitrophes .

Répartition des 361 souches suivant l'origine des prélèvements

- urinaire et vaginale	:	217
- cutanée	:	95
- digestive	:	30
- crachats	:	19

- Le sérotypage des souches :

Le sérotypage de C. albicans a été effectué avec les 10 sérums monospécifiques, précédemment utilisés c'est-à-dire les anti-sérums 1, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 13, 13b et 34, et le sérum anti 7. Nous avons vu dans le chapitre, concernant la préparation des sérums monospécifiques, que nous n'avons pas pu obtenir un sérum monospécifique anti 7, mais que nous avons obtenu un sérum anti 7 qui agglutinait encore les levures possédant l'Ag 10. L'Ag 7 doit certainement avoir une parenté antigénique avec l'Ag 10 ce qui explique la difficulté d'obtenir un sérum monospécifique. Néanmoins ce sérum anti 7 qui agglutine les levures ayant l'Ag 10 (C. pseudotropicalis et Saccharomyces cerevisiae) n'agglutine pas les levures C. albicans A

mais il agglutine les levures C. albicans B ; ce résultat rejoint un peu les résultats des auteurs Japonais. En effet pour les auteurs Japonais le C. albicans B a l'Ag 7 en faible quantité, le C. albicans A n'a pas l'Ag 7, par contre le C. albicans C a un Ag 7 très marqué (52, 145).

Mode opératoire : Nous avons procédé comme précédemment en utilisant simultanément les 11 sérums monospécifiques. Il faut souligner que toutes les souches autoagglutinables ont pu être récupérées après ébullition pendant 2 heures.

Les résultats : Pour interpréter les résultats, il est utile de rappeler la structure antigénique des différents sérotypes de C. albicans selon TSUCHIYA et collaborateurs (145).

Sérotype A	:Ag. 1-2-3-4-5-6	(13b)
Sérotype B	1-2-3-4-5-	(7) 13b
Sérotype C	1-2-3-4-5-6	7

Tableau XXII :

Résultat du sérotypage des 361 souches de C. albicans sans distinction de l'origine du prélèvement.

Nombre de souches	1	4	5	6	7	8	9	11	13	13B	34
I 206	+	+	+	-	+						+
13	+	+	-	-	+						+
(225) 3	+	-	-	-	+						+
3	+	+	+	-	+						-
II 85	+	+	+	+	+						+
(103) 18	+	+	+	+	-						+
III (17) 17	+	+	+	+	-						-
IV 13	+	+	+	-	+						-
(16)											
2	+	+	-	-	+					+	
1	+	+	+	+			+		+	+	
361											

Ces résultats globaux nous permettent de répartir les blastospores de C. albicans rencontrés à Abidjan en 4 groupes.

Le groupe I, c'est le groupe le plus important, il comporte 225 levures. Ce groupe est caractérisé par l'absence de l'Ag 6 et par la présence des Ag 7 et 13 B.

Le groupe II, c'est le 2ème groupe en importance, il comporte 103 souches. Ce groupe est caractérisé dans l'ensemble par la présence des Ag 6, 7 et 13 B.

Le groupe III qui comporte 17 souches est caractérisé par la présence de l'Ag 6 et par l'absence des Ag 7 et 13 B.

Enfin le groupe IV, comporte des levures à structure antigénique particulière. Dans ce groupe on rencontre des souches qui n'ont ni l'Ag6, ni l'Ag 13b, mais qui ont l'Ag 7 ; on trouve également des souches qui ont une structure antigénique aberrante, par exemple présence simultanée des Ag 5, 6, 9, 13 et 13 B.

Ces résultats d'ensemble, font apparaître que dans le groupe des C.albicans étudiés, nous avons rencontré très peu d'agglutinations non spécifiques avec nos antisérums, il n'y a que 3 souches de C. albicans qui nous ont donné une agglutination erronée. D'autre part on remarque que dans le groupe I, on a certains C. albicans qui n'ont pas l'Ag 5, et d'autres qui n'ont ni l'Ag 5, ni l'Ag 4. On peut attribuer ce manque d'agglutination à la faible sensibilité des antisérums 4 et 5, mais il faut souligner que nous avons déjà observé (36) qu'en général le sérotype B qui n'a pas l'Ag 6 comme les levures du groupe A était globalement moins riche en Ag 4 et 5. Ce point a été également souligné par VERNES et Collaborateurs (149) . On note également que très peu de levures n'ont pas l'Ag 7, ceci rejoint les 1ers travaux des auteurs Japonais qui ont observé l'Ag 7 chez tous les C. albicans . Dans un deuxième tableau nous allons faire intervenir uniquement les différents antisérums, permettant de typer les C. albicans. Dans ce tableau n'interviendront pas les 3 souches à structure antigénique aberrante.

Tableau XXIII :

Résultats du sérotypage des 358 souches de C. albicans

	A.S n°6	A.S. N°7	A.S. N°13 B	Nombre de souches %	
Sérotype A	+	-	-	17	4,7
Sérotype B	-	+	+	222	62,0
	-	+	-	3	0,8
Sérotype	+	+	+	85	23,7
A. B	+	-	+	18	5,0
Sérotype indéterminable	-	+	-	13	3,6
Total				358	100 %

A. S : Antisérums

Ces résultats font apparaître la très grande fréquence du sérotype B; 62,8 % des 358 souches. Le sérotype A qui n'a pas l'antigène 7 (145) apparaît ici très rare 4,7 % , par contre on note un pourcentage assez élevé de sérotype AB. Nous avons été tenté d'identifier les levures de sérotype AB, comme des levures de sérotype C, mais la plupart des levures de ce groupe (23,7 %) ont l'Ag 7 caractéristique du sérotype C mais ces levures ont en plus l'Ag 13 B qui n'existe pas dans le sérotype C (145). Les levures de sérotype AB seraient probablement des C. albicans de sérotype A ayant l'Ag 7.

Ces levures de sérotype AB, rappellent les travaux de POULAIN et collaborateurs (107) qui ont montré que les sérums de lapins infectés avec des souches de sérotype B ont encore une réactivité anti sérotype A même après absorptions poussées avec des souches homologues ou hétérologues de sérotype B, mais quand ces sérums étaient absorbés avec des souches de sérotype A, ils perdaient leur réaction anti C. albicans. De même VERNES et collaborateurs (149) ont montré que la sérotypie sur cultures monospores de C. albicans permettaient de mettre en évidence au sein d'une souche de sérotype A, un clone de sérotype B. Le sérotype qu'ils ont dénommé intermédiaire se rapproche du sérotype A par la présence de l'Ag 6 en quantité plus faible et du sérotype B par sa pauvreté en Ag 4 et 5 ; mais dans ce travail VERNES et collaborateurs ne parlent pas de l'antigène 13 B qui, à notre avis, est caractéristique du sérotype B.

Ces résultats mettent en évidence un faible pourcentage (3,6 %) de C. albicans qui n'ont pu être typés par manque des Ag 6 et 13 B.

Toutes ces levures ont l'Ag 7 retrouvé chez tous les Candida albicans dans les 1^{ers} travaux des auteurs Japonais. Nous avons voulu expliquer l'absence de l'Ag 13 B par la faible sensibilité (voir chapitre concernant la préparation des antisérums) de notre antisérum 13 B • mais nous avons testé ces mêmes souches avec les sérums de référence du "Candida check" mais nous n'avons pas pu mettre en évidence la présence de l'Ag 13B. Les levures C. albicans ni A, ni B ne sont pas forcément des levures de sérotype B qui ont perdu l'Ag 13 B.

Nous insistons sur l'Ag 13 B car nous avons remarqué au cours de ce travail que certaines souches de C. albicans B avaient parfois un Ag 13 B à faible pouvoir agglutinogène.

Nous revenons sur un point très important, c'est la fréquence élevée du sérotype B:62 % des 361 souches à Abidjan. Ce taux élevé est comparable à celui trouvé par HASENCLAVER et Collaborateurs parmi les femmes noires Américaines (60 %) (73). Ce taux est nettement supérieur à celui rencontré en Europe qui ne dépasse pas 15 % (41 -83). Dans un 3ème tableau nous allons voir la distribution des sérotypes en fonction de l'origine des prélèvements.

Il faut noter que les 3 souches a structure antigénique aberrante proviennent des prélèvements vaginaux et urinaires; ces 3 souches ne figureront pas dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXIV :
REPARTITION DES SEROTYPES SUIVANT L'ORIGINE ANATOMIQUE
DU PRELEVEMENTS

Origine	Total	A	B	AB	ni A ni B
Urinaire et vaginale	214	4 (1,8 %)	133 (62,1%)	64 (29,9%)	13 (6 %)
Cutanée	95	5 (5,2 %)	65 (68,4%)	25 (26,3%)	-
Digestive	30	1 (3,3%)	19 (63,3%)	10 (33,3%)	-
Crachats	19	7 (36,8%)	8 (42,1%)	4 (21 %)	-
Total	358	17	225	103	13

Hormis les crachats, les résultats ci-dessus montrent que l'origine anatomique des prélèvements ne semble pas en cause dans la distribution des sérotypes. En effet on note très peu de différence dans la proportion de sérotypes A et B, de sérotypes A et AB, et de sérotypes B et AB

en fonction de la nature des prélèvements. Si l'on compare nos résultats avec ceux de plusieurs autres auteurs (38 - 49 - 83) on peut conclure que c'est l'origine raciale qui a plutôt une importance capitale dans la distribution des sérotypes.

Nous retrouvons le pourcentage le plus élevé de sérotype B (68,4 %) dans les prélèvements cutanés . Nos résultats rejoignent ceux de KOENING et Collaborateurs (83) à Strasbourg qui ont montré que le sérotype B était plus fréquent au niveau de la peau et des ongles (13 %). Il est intéressant de noter que la clinique dermatologique de Strasbourg a un recrutement important de malades d'origine africaine.

Au niveau des crachats on retrouve le pourcentage le plus faible en sérotype B (42,1%)et le pourcentage le plus élevé en sérotype A (36,8 %). Nos prélèvements de crachats ont été effectués sur des malades chez lesquels on soupçonnait une tuberculose pulmonaire. Ces résultats discordants demandent à être confirmés, sur un échantillonnage beaucoup plus élevé (19 souches dans cette étude).

E - DISCUSSION

Avec 4 ou 6 sérums spécifiques CAMPBELL réussit à identifier les espèces de Saccharomyces et à distinguer ou à grouper les espèces des autres genres par des réactions d'agglutination sur lame (18-20-21-22-23).

SWEET et KAUFMAN (121) avec leurs propres antisérums, sont arrivés à identifier les principaux Candida d'intérêt médical par cette même méthode d'agglutination sur lame.

Dans ce travail nous avons réussi à préparer les différents sérums du "Candida check" des auteurs Japonais. Ces sérums nous ont permis par la réaction d'agglutination sur lame d'identifier avec un succès relatif les diverses espèces de Candida d'importance médicale.

Ces résultats montrent l'utilité de cette technique dans l'identification des levures. Mais cette méthode sérologique nous donnerait des résultats bien meilleurs, si on l'associait systématiquement à l'étude des caractères morphologiques des levures. En effet, l'étude de la blastèse, de la chlamydosporulation, de la réduction du chlorure de triphényl tétrazolium, de l'aspect morphologique des levures sur milieu R.A.T. ou sur milieu P.C.B., nous fourniraient des renseignements précieux qui complèteraient ceux obtenus avec les divers sérums du "Candida check". Dans le groupe des Candida de Tsuchiya (143-145), on retrouve des levures qui appartiennent aux genres Candida, Pichia, Debaryomyces, Saccharomyces, Torulopsis etc...

Toutes ces levures ont en commun l'Ag 1. L'étude morphologique de ces levures nous orienterait dans notre diagnostic. Il faut cependant souligner que l'on a trouvé la forme parfaite de certains Candida

qui se trouve être une autre espèce. Donc la notion d'espèce n'est pas bien établie. Le travail de Tsuchiya et Coll., de Bastide et Coll. par des techniques d'hydrolyse enzymatique de la paroi des levures arrivent aux mêmes résultats : Candida curvata n'est pas un Candida malgré la filamentation mais un Cryptococcus. De même dans le genre Torulopsis, de nombreuses espèces sont actuellement identifiées à des Ascomycètes ou à des Basidiomycètes.

La filamentation est certes un caractère utile mais il est de peu de valeur taxonomique, car il dépend trop du milieu de culture. Les caractères antigéniques sont importants tout comme les caractères biochimiques.

Lors de l'identification des levures non C. albicans, nous avons rencontré un certain nombre de levures que nous avons étiquetées Candida sps ; ces résultats nous montrent que les 10 sérums du "Candida check" sont insuffisants si l'on veut identifier précisément un nombre beaucoup plus élevé de levures du groupe des Candida de Tsuchiya. Il serait donc utile, de préparer en dehors des 10 sérums du "Candida check" un certain nombre d'antisérums monospécifiques, et le choix de ces sérums monospécifiques serait orienté par la nature des prélèvements à étudier. Les résultats du sérotypage des C. albicans nous ont montré un taux très élevé de C. albicans sérotype B (62,3 %), un taux assez élevé de C. albicans de sérotype AB (28 %) et quelques C. albicans ni A ni B. Hormis VERNES et collaborateurs, (149) qui ont signalé la présence de C. albicans de sérotype intermédiaire, la plupart des auteurs qui ont étudié les sérotypes de C. albicans, n'ont pas fait état de ces sérotypes. Cela peut s'expliquer par le fait que la plupart d'entre eux ont utilisé pour typer les C. albicans, un sérum anti C. albicans A, et tous les C. albicans, qui n'agglutinent pas

avec ce sérum sont étiquetés C. albicans B et ceux qui agglutinent avec ce sérum C. albicans A.

Nous avons tenté de préparer le sérum anti 10, mais sans succès. Ce sérum ne figure pas dans le "Candida check", pourtant ce sérum nous aurait rendu d'énormes services dans l'identification des levures du genre Saccharomyces, mais également dans l'identification de C. stellatoïdea et de C. pseudotropicalis ; nous avons montré l'étroite parenté antigénique entre les Ag. 10 et 7. C'est peut-être cette similarité antigénique qui ne permet pas la préparation de l'antisérum 10. Nous avons préparé un sérum anti 7, qui n'est pas monospécifique car il réagissait avec les levures ayant l'Ag 10, mais ce sérum agglutinait les C. albicans B, mais pas les C. albicans du groupe A. Tous les travaux des auteurs Japonais jusqu'en 1974 (125-126-127-128-129-130-133-134-135-136-137-138-139-140-143-144-145). notent la présence de l'Ag. 7 chez tous les Candida albicans, plus précisément chez les C. albicans du groupe C qu'ils rencontraient fréquemment. Ce sérum anti 7, ne figure pas également dans Le "Candida check" pourtant il est très utile dans l'identification de C. claussenii et de C. albicans C.

Le sérotype C existe - t - il ?

Si l'on regarde les combinaisons de Tsuchiya et Collaborateurs pour la préparation des sérums monospécifiques, on note que pour obtenir le sérum anti 7, ils utilisent un antisérum C. albicans qu'ils absorbent avec C. tropicalis, ils ne précisent pas le sérotype du C. albicans à utiliser car il ne rencontre que du sérotype C, et on peut se demander si pour eux tous les C. albicans n'ont pas l'Ag 7. FUKAZAWA et collaborateurs ont montré l'importance des fractions IgG

· dans la spécificité de sérotype et dans la préparation des sérums monospécifiques (52). Ces auteurs n'ont pu obtenir un bon sérum anti 7 à partir des fractions Ig G.

Après extraction par différents solvants de polysaccharides solubles de C. albicans, FUKAZAWA et collaborateurs (51) ont pu obtenir une fraction qui semble spécifique de l'Ag 7. Ils ont préparé chez le lapin un sérum anti7 à partir de cette fraction couplée avec l'adjuvant complet de Freund. Après absorption avec des levures C. tropicalis, ils ont obtenu un bon antisérum 7. Ces auteurs font remarquer que le sérum anti 7 est très utile mais difficile à préparer.

Pour notre part nous pensons que la difficulté d'obtenir le sérum anti 7 s'explique par l'étroite similarité antigénique entre les Ag 7 et 10. Nous pensons également que le sérotype C n'a pas d'existence propre, c'est plutôt un sérotype A avec l'Ag 7, et ce sont certainement les plus nombreux. D'ailleurs dans le 1er tableau de Tsuchiya (143) sur plus de 1500 souches de C. albicans, ils avaient tous l'Ag 7, ils n'avaient pas de sérotype B, qui semble être spécifique à la race noire, comme l'ont montré plusieurs travaux (34-35-36-73). Dans l'article de Tsuchiya de 1974 (145), il souligne qu'il ne faut pas multiplier les sérotypes de C. albicans. En effet, si l'on regarde de près nos résultats sur le sérotypage des C. albicans, on peut imaginer qu'il y a de nombreux sérotypes.

1 er exemple : les Ag 6 et 13 B permettent de noter 4 sérotypes : A (Ag 6), AB (Ag 6 et 13 B), B (Ag 13 B), O (ni Ag6 ni-Ag 13 B). Avec le sérotype 7 on augmente encore le nombre et l'on crée le sérotype C.

De même tous les C. tropicalis n'ont pas toujours l'Ag 6, on peut

donc décrire 2 sérotypes A et B, il en est de même de T. glabrata dont certaines souches ont l'Ag 5 et d'autres pas.

Il est peut être important de connaître ces variétés car ceci permet de mieux comprendre la structure antigénique des levures.

Cette notion de sérotype A, B et C doit être bien élucidée. FUKAZAWA et collaborateurs (52, 143) mentionnent qu'ils ont étudié une souche de C. albicans B fournie par BIGUET et qu'ils se sont posés la question de savoir si C. albicans n'étaient pas monotypique, car cette souche de C. albicans B avait une petite quantité d'Ag 7, et surtout une faible quantité d'Ag 6. Ces auteurs pensent que les souches de C. albicans qui n'ont pas l'Ag 6 mais qui produisent des chlamydospores doivent être étudiées minutieusement.

Nous pensons que le sérotype B doit être conservé, car il garde une autre propriété, l'existence d'une résistance à la 5FC.

C O N C L U S I O N

CONCLUSION :

Les auteurs Japonais ont mis au point un kit d'identification sérologique par agglutination sur lame des principaux Candida rencontrés en Médecine. Ce kit : le "Candida check" comporte 10 sérums monospécifiques.

Plusieurs études ont montré que ce kit donne des résultats satisfaisants en 1 / 4h à 4h de temps.

Nous avons préparé les 10 sérums du "Candida check", ainsi que les antisérums 7 et 10 qui ne figurent pas dans ce kit. Pour l'identification des levures nous avons utilisé en plus de nos 12 sérums, le test de blastèse, la chlamydosporulation et la recherche d'uréase. Notre étude portant sur 501 souches, 361 de C.albicans et 140 de Candida divers, nous a permis de juger de la valeur de chaque sérum monospécifique du point de vue spécificité et sensibilité. Nous avons comparé l'identification par le "Candida check" et par le système API 20c auxanogramme. Nous avons obtenu une concordance de plus de 88 %.

Le sérotypage des souches de C. albicans, nous a donné un % très élevé de sérotype B: 62 % . Ce résultat semble confirmer la haute prévalence du sérotype B, dans la race noire.

Nous avons trouvé un % de sérotype A et B, non négligeable (13%). Ce résultat nous amène à poser le problème de la réalité des divers sérotypes de Candida albicans.

Si l'on testait simultanément toutes les souches de C.albicans typées à l'heure actuelle avec les antisérums 6 (spécifique du sérotype A) et 13 B (spécifique du sérotype B) allons-nous obtenir les mêmes résultats?

La classification des levures est en perpétuel remaniement directement en rapport avec les découvertes apportées par l'utilisation de nouvelles techniques d'étude.

TSUCHIYA a proposé une nouvelle classification utile car elle a permis de mettre certaines espèces dans le groupe qui leur convenait, l'exemple des Candida est caractéristique: C.curvata a la structure antigénique d'un Cryptococcus. Cette levure possède une uréase, un GC % semblable à celui des Cryptococcus, de plus la lyse enzymatique de sa paroi ne peut se faire qu'avec des enzymes qui attaquent les Cryptococcus. De même C. pseudotropicalis est la forme imparfaite de S.fragilis, ces 2 levures sont antigéniquement identiques.

La structure antigénique des levures par la méthode de TSUCHIYA permet donc le rapprochement ou l'éloignement de deux espèces; mais il faut souligner que les différents sérums du "Candida check" ne permettent pas toujours une identification d'espèce, mais ils permettent une identification de groupe. Si l'on prend l'exemple du S/g III de Candida albicans c'est-à-dire le groupe Pichia(tableau I), nous remarquons que C.krusei, C.catenulata, C.mycoderma et C. solani ont les Ag 1, 5, 11. Au vue de la présence des Ag 1,5 et 11 (Antisérums figurant dans le Candida check) on est tenté de dire que nous sommes en présence de C. krusei car c'est l'espèce la plus communément rencontrée en Médecine, mais si l'on veut être plus précis, il serait souhaitable de faire appel à d'autres sérums

monospécifiques ne figurant pas dans le "Candida check" soit d'identifier notre levure comme un Candida du groupe krusei.

Tout cela pour souligner l'intérêt d'adjoindre l'étude des caractères biologiques aux caractères antigénique .

D'autre part plusieurs auteurs ont évoqué la faible stabilité des sérums monospécifiques ; pour notre part nous avons remarqué qu'après un an de conservation au réfrigérateur à + 4 ° c, on notait une baisse du pouvoir agglutinant des sérums. Nous pensons qu'une utilisation plus accrue du "Candida check" passe par la préparation de sérums très stables, mais également par l'introduction des antisérums 7 et 10 dans ce kit. Car ces 2 antisérums permettraient d'améliorer sa performance.

A N N E X E

Tableau I : Structure antigénique des levures étudiées
d'après Tsuchiya et coll. (143).

Tableau II : Structure antigénique des levures étudiées
d'après Tsuchiya et Coll. (145).

Tableau II (suite) : Structure antigénique des levures
étudiées d'après Tsuchiya et Coll. (145).

Tableau I: Structure antigénique des levures étudiées d'après Tsuchiya et Coll. (143)

Fermentative, assimilative and serological characteristics of several strains of various species of yeasts

Group	Species	No. of strains	Fermentation	Assimilation	Antigenic structure	
III	<i>P. fermentans</i>	5	D - - - -	D - - - -	1, 5, 11	2
	<i>P. krusei</i>	1	D - - - -	D - - - -	1, 5, 11 b	2
	<i>C. krusei</i>	138	D - - - -	D - - - -	1, 5(11) b	2
	<i>C. catenulata</i>	3	D g - - -	D G - - -	1, 5, 11, b	2
	<i>P. membranaefaciens</i>	6	± - - - -	D - - - -	1, 5, 11, 12	2
	<i>C. mycoderma</i>	8	± - - - -	D - - - -	1, 5, 11, 12	2
	<i>T. inconspicua</i>	3	± - - - -	D - - - -	1, 5(11)(12)	2
	<i>C. reukaufii</i>	2	d - - - -	D g ± - -	1(5)(11)(12)b, f	2
	<i>D. fluxorum</i>	2	- - - - -	D - - - -	1, 5, 11, m	2
	<i>C. rugosa</i>	12	- - - - -	D G - - -	1, 11, 19, g	2, 3, 4
	<i>C. brumptii</i>	4	d - - - -	D G - M - -	1, 19	2
	<i>P. farinosa</i>	2	D ± - - -	D G - - -	1, 29	2, 3, 4
	<i>S. pastori</i>	1	D - - - -	D - - - -	1, 25	3, 4, 17, 24
	<i>C. melinii</i>	4	± - ± - ± -	D - S M - K	1, 5, 25	2, 3, 10, 17
	<i>H. angusta</i>	4	D - - - -	D - S M - K	1(5)11	2, (17)
	<i>C. solani</i>	3	D - s - -	D g S M - -	1, 5, 11, 12, 37	2, 20, 21
VI	<i>H. californica</i>	2	d - - - -	D - S - - K	1, 16, 20, 21, 22	2, 14(15)(17)
	<i>H. beigerinckii</i>	3	D - S - -	D G S M - K	1, 16, 20, 21, 22	2, 14, 15, (17)
	<i>H. mirakii</i>	5	D - - - -	D - - - - K	1, 16, 20, 21	2, 14, 15, (17)
	<i>H. saturnus</i>	9	D - S - -	D - S - - K	1, 16, 20, 21	2(14)(15)(17)
	<i>H. suaveolens</i>	4	D - S - -	D - S - - K	1, 16, 20, 21	2, 14, 15, (17)
	<i>H. silvicola</i>	2	D g - - -	D G S M - K	1(16)20	2, 14(15)
	<i>H. subpelliculosa</i>	1	D - S m -	D ± S M - K	1(16)20	2, 14, 15
	<i>H. schneegii</i>	3	D g s m -	D G S M - K	1, 16, 20	2, 14(15)(17)
	<i>H. anomala</i>	42	D g S M -	D g S M - K	1, 16, 20	2, 14, 15, (17)
	<i>C. pelliculosa</i>	3	D G S M -	D G S M - K	1, 16, 20	2, 14, 15
	<i>H. jadinii</i>	1	D - S - -	D - S M - K	1(16)	(c) (2)14, 17
	<i>C. utilis</i>	6	D - S - -	D - S M - K	1(16)	c (2)(14) 17
<i>T. utilis</i>	1	D - S - -	D - S M - K	1(16)	(c) (2)14, 17	
V	<i>T. candida</i>	3	± - ± - -	D G S M l -	1, 9, (14), 33	2, 3, 4
	<i>D. subglobosus</i>	1	d ± s ± -	D G S M l -	1, 9, 14, 33	2, 3, 4
	<i>T. jamata</i>	5	± - - - -	D G S M - -	1(9)(14)	2, 3, 4
	<i>D. klockeri</i>	12	d - ± - -	D G S M - -	1(9)(14)	2, 3, 4
	<i>D. nicotianae</i>	4	d g s m -	D G S M - -	1(9)(14)	2, 3, 4
	<i>D. hansenii</i>	12	d ± s ± -	D G S M ± -	1(9)14	2, 3, 4
	<i>T. globosa</i>	2	D - S m -	D - S M - K	1, 9, 14	2, 3, 4
	<i>H. matritensis</i>	2	D - S m -	D - S m - K	1, 9(14)	2, 3, 4
	<i>Schw. occidentalis</i>	2	D - S - -	D G S M - -	1, 9, 14	j 2, 3, 4
	<i>C. guilliermondii</i>	68	D g s ± -	D G S M - -	1, 9	2, 3, 4
	<i>C. melibiosi</i>	2	D g S m -	D G S M - -	1, 9	2, 3, 4
<i>D. globosus</i>	2	D - S - -	D - S - -	1, 27, i	3, 10, 24	
IV	<i>C. zeylanoides</i>	2	- - - - -	D - - - -	1, 13, (a), c, h	2, 3, 4, 17
	<i>H. holstii</i>	2	D - - - -	D - S M - K	1(13)	2, 3, (14)(15)
	<i>T. ernobii</i>	1	d - - - -	D - S M - -	1, 13, c	2, 3, 5(14)(15)
	<i>C. parapsilosis</i>	84	D g ± - -	D G S M - -	1, 13, c	2, 3, 5(14)(15)
	<i>C. pulcherrima</i>	4	D ± - - -	D g S M - -	1, 13, d	2, 3, 5, 14, (15)
VII	<i>S. rosei</i>	12	D ± S - -	D ± S - -	1, 4, 24	3
	<i>T. stellata</i>	2	D - S - -	D - S - -	1, 4, 24	3
	<i>S. fermentati</i>	1	D - S M -	D - S M -	1, 4, 24	3
	<i>T. colliculosa</i>	5	D - S M -	D - S M -	1, 4, 24	3

Group	Species	No. of strains	Fermentation	Assimilation	Antigenic structure		
I	<i>T. glabrata</i>	162	d - - - -	D - - - -	1, 6, 34, k	3, 10	
	<i>S. delbrueckii</i>	17	D G - - -	D G - - -	1, 4, 6, 23	3, 5(10)	
	<i>S. bisporus</i>	4	D - - - -	D G - - -	1, 4, 26	3, 10	
	<i>S. acidifaciens</i>	5	D - - - -	D G - - -	1, 4, 26	3, (10)	
	<i>S. exiguus</i>	7	D G s - -	D G s - -	1, 4, 6, 26	3(5)10, 32	
	<i>T. holmii</i>	5	D G S - -	D G S - -	1(4)6, 26	3(5)10, 32	
	<i>C. stellatoidea</i>	6	D - - M -	D G - M -	1, 4	2, 3, 5, 10, 32	
	<i>T. sake</i>	1	D g S m -	D G S M -	1, 4, 6	2, 3, 5	
	<i>C. tropicalis</i>	201	D G S M -	D G S M -	1, 4, 6	2, 3, 5	
	<i>C. clausenii</i>	3	D G - M -	D G S M -	1, 4, 6, 7	2, 3, 5	
	<i>C. albicans</i>	1368	D g ± M -	D G S M -	1, 4, 6, 7	2, 3, 5	
	II	<i>K. apiculata</i>	2	D - - - -	D - - - -	1, 10, 28	8
		<i>Hs. valbyensis</i>	1	D - - - -	D - - - -	1, 10, 28	8
<i>S. marxianus</i>		10	D g S - -	D G S - l -	1, 10, 28, a	8, 31	
<i>C. macedoniensis</i>		4	D G S - -	D G S - l -	1, 10, 28, (a)	8, 31	
<i>S. fragilis</i>		2	D G S - l	D G S - l -	1, 10, 28, a	8, 31	
<i>C. pseudotropicalis</i>		18	D g S - l	D G S - l -	1(10)28, a	8, 31	
<i>S. rouxii</i>		11	D - m -	D G - M -	1(10)28	(8) 32	
<i>S. carlsbergensis</i>		7	D g S M -	D G S M -	1(10)28	(8) 32	
<i>S. italicus</i>		1	D G S M -	D G S M -	1, 10, 28(18)	(2)(3)8, 14, 31	
<i>S. chevalieri</i>		3	D g S M -	D G S M -	1(10), 18	2, 3(8)(14)31	
<i>S. oviformis</i>		1	D - S M -	D G S M -	1, 10, 18	2, 3, 14, 31	
<i>S. uvarum</i>		3	D g S m -	D G S M -	1, 10, 18	2, 3, 14, 31	
<i>S. crevesiae</i>		11	D g S M -	D g S M -	1, 10, 18, a, c	2, 3, (14)31	
<i>C. robusta</i>		10	D G S M -	D G S M -	1, 10, 18, a, c	2, 3, (14)31	
<i>S. willianus</i>		6	D g S M -	D G S M -	1, 10, 18(a)(c)	2, 3, (14)31	
<i>S. steineri</i>	1	D G S M -	D G S M -	1, 10, 18, c	2, 3, 14, 31		
Rhodolor. Group	<i>Sp. salmonicolor</i>	1	- - - - -	D g S - - K	1, 9	8	
	<i>Sp. odoris</i>	1	- - - - -	D ± S - - K	1, 9	8	
	<i>R. glutinis</i>	3	- - - - -	D G S M - K	1, 2, 5	8	
	<i>R. aurantiaca</i>	1	- - - - -	D G S M - K	1, 2, 5	8	
	<i>R. mucilaginosa</i>	44	- - - - -	D g S M - -	1, 3	8	
	<i>Sp. pararoseus</i>	1	- - - - -	D g S M - -	1, 11	8	
Rhodolor. Group	<i>R. rubra</i>	19	- - - - -	D G S M - -	1, 2, (3)	8	
	<i>Sp. gracilis</i>	1	- - - - -	D - - - -	(4) (6)		
	<i>R. pallida</i>	1	- - - - -	D g - - -	4, 6, 10		
<i>R. minuta</i>	9	- - - - -	D G S - -	4, 7			
Cryptococ. Gr.	<i>Cr. neoformans</i>	66	- - - - -	D g S M - -	1, 6, 8	2, 4	
	<i>C. humicola</i>	3	- - - - -	D G S M l -	1, (6)7	2(4)	
	<i>C. curvata</i>	4	- - - - -	D G S M l -	1, 9	(2)(4)	
	<i>Cr. diffluens</i>	3	- - - - -	D g S M - K	1, 3	4	
	<i>Cr. albidus</i>	3	- - - - -	D g S M - K	1, 3, 7	(4)	
Cryptococ. Gr.	<i>Cr. laurentii</i>	2	- - - - -	D g S M l -	1, 5		
	<i>T. acria</i>	2	- - - - -	D G S M l K	1, 11		
Sch. Gr.	<i>Schz. pombe</i>	19	D - S M -	D - S M -	1, 3		
	<i>C. lipolytica</i>	3	- - - - -	D - - - -	1, 2...		
	<i>T. bacillaris</i>	2	D - S - -	D - S - -	1, 2...		

D, G, S, M, L and K mean positive reactions in fermentation or assimilation of glucose, galactose sucrose, maltose, lactose and potassium nitrate, respectively. The small letter indicates weakly positive or positive reactions only in a few strains of the species. ± means seldom positive or very weakly positive.

Tableau II: Structure antigénique des levures étudiées d'après Tsuchiya et Coll. (145)

Serological and biological characteristics of various yeast species								
Group of Genus (Tsuchiya et al.)	Species	Antigenic structure			Urease	Caroten.	KNO ₃	Ascosp.
Pichia Group ... (III)	<i>C. krusei</i>	1(11);	5;	2,b	-	-	-	-
	<i>C. trigonopsoi-</i> <i>des</i>	1,11,12;	5;	2	-	-	-	-
	<i>P. kudriavzevii</i>	1,11,12;	5;	2,b	-	-	-	R
	<i>T. Pinus</i>	1,11;	5,25;	2(17)	-	-	-	-
	<i>H. capsulata</i>	1,11,12;	4,5;	2,3,47	-	-	+	H
	<i>C. solani</i>	1,11,12,20;	5,21;	2,37,c	-	-	-	-
	<i>P. pøpøri</i>	1,11,12,20;	5,21;	2,37,c	-	-	-	H
	<i>C. fimet. v.</i> <i>diversa</i>	1,11,12,18;	5;	2,14,31,c	-	-	-	-
	<i>P. terricola</i>	1,11,12,18;	5;	2,14,31,c	-	-	-	R
	Hansenula Gr. ... (VI)	<i>H. bimundalis</i>	1(16)20;	21;	2,14(15)17	-	-	+
<i>H. fabianii</i>		1(16)20;	(21);	2,14(15)17	-	-	+	H
<i>H. petersonii</i>		1(16)20;	21;	2(14)15,17,p	-	-	+	H
<i>H. anomala</i>		1,16,20;		2,14,15(17)	-	-	+	H
<i>H. ciferrii</i>		1,16,20;		2,14,15(17)	-	-	+	H
<i>H. minuta</i>		1;	5;	2,45;	-	-	+	H
<i>H. canadensis</i>		1,18;	5,25;	2,17,31,48	-	-	+	H
<i>H. wingei</i> <i>H. beckii</i>		1,18;	5,25;	2,17,31,48	-	-	+	H
Debaryomyces Gr ... (V)	<i>D. coudertii</i>	1,9;	4;	2,3,14	-	-	-	Rw
	<i>P. vini</i>	1,9;	4;	2,3,14	-	-	-	Rw
	<i>D. marama</i>	1,9;	4;	2,3(14)	-	-	-	Ow
	<i>D. hansenii</i>	1(9);	4;	2,3,14	-	-	-	Rw
	<i>C. guillier-</i> <i>mondii</i>	1,9;	4;	2,3	-	-	-	-
	<i>P. haplophila</i>	1,9;	4;	2,3	-	-	-	H
	<i>C. tenuis</i>	1,9;	4,5;	2,3	-	-	-	-
Torulaspora Gr ... (VII)	<i>S. rosci</i>	1,24;	4;	3	-	-	-	R
	<i>S. delbrueckii</i>	1,24;	4;	3	-	-	-	R
	<i>S. vafer</i>	1,24;	4;	3	-	-	-	R
	<i>D. franciscae</i>	1,24;		3,27,i	-	-	-	R
	<i>D. globosus</i>	1,10,24;		3,27,i	-	-	-	Rw
	<i>C. intermedia</i>	1,6,24;	4,5;	2,3,38	-	-	-	-
Castellania Gr ... (I-)	<i>S. unisporus</i>	1,6(10);	4,5;23;	3	-	-	-	R
	<i>S. exiguus</i>	1,6,10;	4(5)26;	3,32	-	-	-	R
	<i>C. bovina</i>	1,10;	4;	2,3,32,39	-	-	-	-
	<i>T. sake</i>	1,6;	4,5;	2,3	-	-	-	-
	<i>C. tropicalis</i>	1,6;	4,5;	2,3	-	-	-	-
	<i>C. trop. v.</i> <i>lambica</i>	1,6;	4,5;	2,3	-	-	-	-
	<i>C. albicans C</i>	1,6,7;	4,5;	2,3	-	-	-	-
	<i>C. albicans A</i>	1,6;	4,5,[13b];	2,3	-	-	-	-
	<i>C. albicans B</i>	1,[7];	4,5,13b;	2,3	-	-	-	-
	<i>C. clausenii</i>	1,6,7;	4,5;	2,3	-	-	-	-
Kloeckera Subgr. ... (I-)	<i>K. magna</i>	1,6(7)40;	5;	2,3	-	-	-	-
	<i>K. africana</i>	1,6(7)40;	5;	2,3	-	-	-	-
	<i>K. corticis</i>	1,6(7)40;	5;	2,3	-	-	-	-
	<i>K. anSillarum</i>	1,6(7)40;	5;	2,3	-	-	-	-
	<i>Hs. osmophila</i>	1,6(7)40;	5;	2,3	-	-	-	R
	<i>Hs. vineae</i>	1,6(7)40;	5;	2,3	-	-	-	R
	<i>K. javanica</i>	1,6(7)8,10,40;	5;	2,3,28	-	-	-	-
	<i>K. jensenii</i>	1,6(7)8,10,40;	5;	2,3,28	-	-	-	-
	<i>K. lafarii</i>	1,6(7)8,10,40;	5;	2,3,28	-	-	-	-

Tableau II: (Suite) Structure antigénique des levures étudiées d'après Tsuchiya et Coll. (145)

Group or genus (Tsuchiya et al.)	Species	Antigenic structure			Urease	Caroten.	KNO ₃	Ascosp.
Mycocandida Gr ... (IV)	<i>C. parapsilosis</i>	1,13;	5,13b;	2,3(14)(15)c	-	-	-	-
	<i>C. opsil. v. intermed.</i>	1,13;	5;	2,3,14,15,c	-	-	-	-
	<i>P. pseudopoly-morpha</i>	1,13;	4,5;	2,3,14,15,c	-	-	-	R
	<i>D. castellii</i>	1,13;	(5);	2,3,14(15)a	-	-	-	Rw
	<i>D. cantarellii</i>	1,13;	(5);	2,3(14)15	-	-	-	Rw
Hanseniaspora Subgr. ... (IIr)	<i>K. apiculata</i>	1,8,10;		28,1	-	-	-	-
	<i>Hs. valbyensis</i>	1,8,10;		28,1	-	-	-	H
	<i>Hs. uvarum</i>	1,8,10;		28,1	-	-	-	R
	<i>Hs. guilliermondii</i>	1,8,10;		28,1	-	-	-	H
Kluyveomyces Subgr. ... (II-)	<i>S. fragilis</i>	1,8,10;		28,31,a	-	-	-	K
	<i>C. pseudotropicalis</i>	1,8(10);		28,31,a	-	-	-	-
Saccharomyces Gr. ... (II-)	<i>S. fructuum</i>	1,8,10;		2,14,28,31	-	-	-	R
	<i>S. mellis</i>	1(8)(10);		(28)(31)(32)	-	-	-	R
	<i>S. bailli</i>	1,8(10);		28,32	-	-	-	R
	<i>S. rouxii</i>	1(8)(10);		28,32	-	-	-	R
	<i>S. carlsbergensis</i>	1(8)(10);		28,32	-	-	-	R
	<i>S. pastorianus</i>	1,8(10);		28,32	-	-	-	R
	<i>S. elegans</i>	1,8(10);	4,5;	28(32)	-	-	-	R
	<i>S. veronae</i>	1,8,10;		2,14,28(32)	-	-	-	R
	<i>S. italicus</i>	1,8,10(18);		(2)(3)14,28,31	-	-	-	R
	<i>S. chevalieri</i>	1(8)(10)18;		2,3(14)31	-	-	-	R
	<i>S. heterogenicus</i>	1,10,18;		2,3,14(31)	-	-	-	R
	<i>S. diastaticus</i>	1,10,18;		2,3,14,31	-	-	-	R
	<i>S. oviformis</i>	1,10,18;		2,3,14,31	-	-	-	R
	<i>S. bayanus</i>	1,10,18;		2,3,14,31	-	-	-	R
	<i>S. logos</i>	1,10,18;		2(3)14,31	-	-	-	R
	<i>S. uvarum</i>	1,10,18;		2,3,14,31	-	-	-	R
	<i>S. florentinus</i>	1,10,18;		2,3,14,31	-	-	-	R
	<i>S. cerevisiae</i>	1,10,18;		2,3(14)31,a,e	-	-	-	R
<i>S. ellipsoideus</i>	1,10,18;		2,3(14)31,a,e	-	-	-	R	
<i>S. steineri</i>	1,10,18;		2,3,14,31,e	-	-	-	R	
Saccharomyces Subgr. ... (II-)	<i>T. magnoliac</i>	1,10;	35;	2	-	-	+	-
	<i>T. versatilis</i>	1,10;	35;	36	-	-	+	-
Schizosacch. Gr.	<i>Schiz. pombe</i>	1;	3;	...	+	-	-	R
	<i>C. lipolytica</i>	1;	2;	4,...	+	-	-	-
	<i>C. petrophilum</i>	1;	2;	4,...	+	-	-	-
	<i>T. petrophilum</i>	1;	2;	...	+	-	-	-
Sporobolomyces Gr.	<i>Sp. salmonicolpr</i>	1;	8;	9	+	+	+	B
	<i>Sp. gracilis</i>	(4);	(6);		+	+	-	B
Rhodotorula Gr.	<i>R. glutinis</i>	1;	8;	2,5	+	+	+	-
	<i>R. pallida</i>	4;	6;	10	+	+	-	-
Cryptoc. Gr.	<i>Cr. neoformans</i>	1;	2,4;	6,8	+	-	-	-

Arabic numeral show thermostable antigens, alphabetical letters indicate thermolabile antigens except for antigen 13b. Antigens for which agglutinogenic capacities are very weak, are indicated in parenthesis. R, H, Rw, Ow and K mean round, hat-shaped, round and warty, oral and warty, kidney like ascospores, respectively. B means ballistospores. Ascospores were examined by the authors, and sometimes were indicated according to Loddre et al. when not formed.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ANCELLE (T.), DUPOUY-CAMET (J.) et LAPIERRE (J.) . -

Comparaison de l'auxanogramme à disques et de la galerie à microcupules dans l'identification des levures.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1985, Tome XIII n° 1, 155-158.

- 2- ANDRIEU (S.), et THERIZOL (M.). -

Diagnostic biologique des Candidoses.

Ed. Maffioti, Paris. 1974,

- 3- ANDRIEU (S.). -

Action de la lumière sur la chlamydosporulation de *Candida albicans*.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1975, Tome IV n° 2, 103-106.

- 4- ANDRIEU (S.), BÉGUET (J.), JACQUES (R.), DEHORTEZ (B.)
et LACOSTE (L.). -

Photoinhibition de la chlamydosporulation de *Candida albicans*.

Sabouraudia 1977, 15, 207-214.

- 5 - BARLOW (A.J.E.) and CHATTAWAY (F.W.). -

Factors influencing the growth of *Candida albicans* in tissue fluids.

Comptes rendus des communications.

Vème Congrès de la société internationale de Mycologie humaine et animale.

Paris, 1971, 5-10 Juillet

- 6 - BASTIDE (J.M.), BASTIDE (M.) et NAKAM (J.), -

Etude antigénique de certaines espèces de levures par immunofluorescence.

Trav. Soc. Pharm. Montpellier 1965, 25, 256-261.

- 7 - BASTIDE (J.M.), BASTIDE (M.) et TRAVE (P.),-
Degradation enzymatique de la paroi de Candida macedoniensis : Etude immunologique.
C.R. Vème Congrès International de mycologie médicale. Paris, 1971, IVA 2, 237-238.
- 7 BIS - BASTIDE (M.), TRAVE (P.) et BASTIDE (J.M.),-
L'Hydrolyse enzymatique de la paroi appliquée à la classification des levures.
Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 1975, 126 A, 275-294.
- 7 TER - BASTIDE (M.), EL-HADI HADIBI, BASTIDE (J.M.) et JOUVERT (S),-
Activité de diverses β -(1-3)-D glucanases sur la paroi des levures : application taxonomique.
C.R. Acad. Sc. Paris, 1976, t. 283, série D, 1555-1557.
- 8 - BASTIDE (J.M.) et BASTIDE (M.),-
Les protoplastes des levures. Application à la connaissance de la paroi et incidence taxonomique.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1976, Tome V n°1, 3-6.
- 9 - BASTIDE (M.), MALLIE (M.), GUIBAL (J.), PAGNON (M.) et LEBECQ (J.C.),-
Etude expérimentale de l'hypersensibilité à la Candidine.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1975, Tome V n°2, 119-126.
- 10 - BASTIDE (J.M.) et COLL,-
Standardisation de l'utilisation des principaux milieux d'isolement et d'identification en analyse mycologique courante.
1er rapport du groupe d'études de la Société Française de Mycologie médicale.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd., 1981, Tome X n°1, 135-148.

12 - BENHAM (R. W.), -

Certain monilias parasitic on man
their identification by morphology and by
agglutination.

J. Infect. Dis. 1931, 49, 183-215.

13 - BERGOGNE (E.), BEREZIN (), et SLIM (A.), -

Evolution des infections à levures en milieu
hospitalier de 1972 à 1975.

Développement des infections à *Torulopsis*
glabrata.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1976, Tome V n° 1,
21-28.

14 - BIGUET (J.), HAVEZ (R.), TRAN-VAN KY (P.) et DEGAEY (R.), -

Etude électrophorétique, chromatographique et
immunologique des antigènes de *Candida albicans*
caractérisation de deux antigènes spécifiques.

Ann. Inst. Pasteur 1961, 100, 13-24

15 - BIGUET (J.), TRAN-VAN KY (P.) et ANDRIEU (S.), -

Etude immunoélectrophorétique et immunochimique
comparée des antigènes de quelques levures du
genre *Candida*.

Mycopath-mycol. appl. 1962, 17, 239-254.

- 16 - BIGUET (J.), TRAN-VAN KY (P.) et ANDRIEU (S.). -
L'étude immunoélectrophorétique de la structure antigénique des levures permet-elle de rattacher les formes anascosporées aux formes ascosporées correspondantes.
Bull. Soc. Pharm. Lille, 1962, 2, 75-82.
- 17 - BOWMAN (P.I.) and AHEARN (D.G.). -
Evaluation of the uni-yeast-tek kit for the identification of medically important yeasts.
J. Clin. Microbiol. 1975, 2, 354-358
- 18 - CAMPBELL (I.). -
Serological identification scheme for the genus sacchoromyces.
J. appl. Bact., 1968, 31, 515-524
- 19 - CAMPBELL (I.) and GILMOUR (R. H.). -
Serological specificity of yeast, mannan.
J. Gen. Microbiol. 1969, 59, 193-201.
- 20 - CAMPBELL (I.). -
Comparison of serological and physiological classification of the genus saccharomyces.
J. Gen. Microbiol. 1971, 63, 189-198.
- 21 - CAMPBELL (I.). -
Numerical taxonomy of various genera of yeasts
J. Gen. Microbiol. 1971, 67, 223-231.

- 22 - CAMPBELL (I.), -
Antigenic properties of yeasts of various
genera.
J. appl. Bact. 1971, 34, 237-242.
- 23 - CAMPBELL (I.), -
Simplified identification of yeasts by a
serological technique.
J. Inst. Brew. 1972, 78, 225-229
- 24 - CAWLEY (T.N.) and BALLOU (C. E.), -
Identification of two *saccharomyces cerevisiae*
cell wall mannan chemotypes.
J. Bact., 1972, 111, 690-695.
- 25 - COUDERT (J.), KIEN TRUONG THAI, AMBROISE-THOMAS (P.),
DOUCHET (CH.) et POTHIER (M.A.), -
Septicémie à *Candida albicans* étude sérologique
par immunofluorescence, agglutination et immuno-
électrophorèse.
Bull. Soc. Path. Ex., 1967, 60, 497-503.
- 26 - DABROWA (N.), -
Germination in *Candida albicans*.
Comptes rendus des communications Vè congrès
de la société internationale de mycologie
humaine et animale.
Paris, 1971, 5-10 Juillet.

- 27 - DALMAU (L. M.), -
Remarques sur la technique mycologique
Ann. Parasitol. 1929, 7, 536-545
- 28 - DOBY (J.M.), KOMBILA-FAVRY (M.), BOISSEAU-LEBREUIL (M.L.)
et POTHIER (M.A.), -
Histoire d'une petite levure à la recherche
de son identité.
Bull. Soc. fr. Mycol. Méd. 1978, 7, 33-38
- 29.- DOUCHET (CH.), GIROUD (H.), BONNET (D.), BOCQUER (B.) et
KIEN TRUONG, -
Intérêt de l'étude sérologique dans les
Candidoses.
Bull. Soc. Méd. Mil. Franç., 1967, 5, 308.
- 30 - DOUCHET (CH.) et MULLER (J.), -
Valeur et limites de la sérologie du Candida
albicans.
Lyon Médical 1972, 227, 1129-1133.
- 31 - DOUCHET (CH.) et MULLER (J.), -
Méthode rapide de diagnostic des levures
d'intérêt médical.
Bull.Soc.Fr.Mycol.Méd. 1978, Tome IX n° 1, 35-38.
- 32 - DOUCHET (CH.) CLAUSS (B.), GUIRONNET (J.C.) et MULLER (J.)
Intérêt de l'identification précise des
levures d'intérêt médical.
Annales médicales de Nancy, Mai 1979, 465-468.

- 33 - DOUCHET (CH.) et MULLER (J.), -
Intérêt de l'identification des levures par
une méthode sérologique.
Annales médicales de Nancy, 1979, 471-475.
- 34 - DOUCHET (CH.), -
Contribution à l'épidémiologie de *Candida albicans*
II^e colloque international de Microbiologie
tropicale.
Abidjan 22-25 mars 1982.
- 35 - DOUCHET (CH.), N'DOLI (G.) et GELARD (M.), -
Sensibilité de *Candida albicans* d'origine
vaginale à Abidjan.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1983, Tome XII n° 2,
269-272.
- 36 - DOUCHET (CH.) KONE (M.) et MONIQUE GELARD. -
Sensibilité des sérotypes de *Candida albicans*
au Ketoconazole à Abidjan.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1984, Tome XII n° 1,
103-106.
- 37 - DROUHET (E.), -
Diagnostic de laboratoire des infections à
Candida.
Squibb, 1^{ère} édit.,
- 38 - DROUHET (E.), BALOTA (J.), BORDERON (J.C.) et ROUSSET (J.)
Recherche sur les sérotypes A et B et *Candida*
albicans.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1971, n° 19, 30-31

- 39 - DROUHET (E.), MERCIER-SOUCY (L.) et MONTPLAISIR (S.), -
Observation sur la sensibilité et la résistance
de différentes espèces de Candida à la 5 Fluo-
rocytosine et au 5 fluorouracile (5 F. U).
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1973, 2, n° 2, 135-138.
- 40 - DROUHET (E.), MERCIER SOUCY (L.) et MONTPLAISIR (S.), -
Nouvelles observations sur la sensibilité et
la résistance des Candida aux 5 fluoropyri-
midines relation avec l'écologie et le séro-
type de Candida albicans.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1974, 3, n° 1, 9-12
- 41 - DROUHET (E.), MERCIER SOUCY (L.) et MONTPLAISIR (S.), -
Sensibilité et résistance des levures pathogènes
aux 5 fluoropyrimidines.
I relation entre les phénotypes de résistance à la
5 fluorocytosine, le sérotype de Candida albicans
et l'écologie des différentes espèces de Candida
d'origine humaine.
Ann. Microbiol. 1975 126 B, 25-39.
- 42 - DROUHET (E.), -
Ecology of the sérotypes of Candida albicans and
phénotypes of resistance to 5. fluorocytosine in
sexuality and pathogenicity of Fungi.
Proceedings of the third international colloquium
on medical mycology (Antwerp Belgium 7-9 December
1979) pp. 197-209.
Edited by R. VANBREUSEGHEM M.D and De VROEY M.D.,
Masson, Paris 1981.

- 43 - DROUHET (E.) et VINDEL (J.), -

Identification des levures par une technique rapide d'étude des caractères morphologiques et physiologiques.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1983, Tome XII, n° 1, 11-18.

- 44 - DUJARDIN (L.) et WALBAUM (S.), -

Influence de la concentration en glucose et de la densité d'ensemencement sur la production des chlamydospores de *Candida albicans*, étude quantitative.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1977, Tome VI n° 1, 39-44

- 45 - DUJARDIN (L.), WALBAUM (S.) et BIGUET (J.), -

La chlamydosporulation de *Candida albicans*: influence de la densité d'ensemencement et de la concentration de glucose, d'azote, de biotine et de sels minéraux dans une décoction de crème de riz.

Ann. Microb. (Institut Pasteur), 1978, 129 B, 183-193

- 46 - DUJARDIN (L.) et WALBAUM (S.), -

Influence de l'épaisseur du milieu de culture et de la densité d'ensemencement sur la production de chlamydospores de *Candida albicans* cultivé sur riz agar Tween.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1979, Tome VIII n° 1, 5-9

- 47 - DUJARDIN (L.) et WALBAUM (S.), -

Chlamydosporulation de *Candida albicans*: avec ou sans lamelle.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1980, Tome IX n°1, 31-34.

- 48 - DUJARDIN (L.) et WALBAUM (S.), -
Vague de chlamydosporulation de *Candida albicans*
sur différents gradients.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1981, Tome X n° 1, 53-56
- 49 - DUJARDIN (L.) et WALBAUM (S.), -
Influence de la température et du PH sur les
phénomènes de blastèse et de chlamydosporulation
de *Candida albicans* dans un milieu de culture
synthétique.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1982, Tome XI n° 1, 5-8.
- 50 - FELL (J.W.), and MEYER (S.A.), -
Systematics of yeast species in the *Candida*
parapsilosis group.
Mycopath. Mycol. Appl. 1967, 32, 177-193.
- 51 - FUKAZAWA (Y.), ELINOV (N.P.), SHINODA (T.) and TSUCHIYA (T.), -
Immunological specificity of soluble polysaccharides
of *Candida albicans*.
Japan. J. Microbiol. 1968, 12, 283-292
- 52 - FUKAZAWA (Y.), SHINODA (T.) and TSUCHIYA (T.), -
Response and specificity of antibodies for
Candida albicans.
J. Bacteriol. 1968, 95, 754-763
- 53 - FUKAZAWA (Y.) SHINODA (T.), NISHIKAWA (A.) and NAKASE (T.), -
Synonymy of *Saccharomyces cerevisiae* hansen 1883
and *Saccharomyces uvarum* Beijerinck 1898: signifi-
cance of cell wall antigens in yeast classification.
Int. J. Syst. Bacteriol 1980, 30, 196-205.

- 54 - GABRIEL (S.) et GUINET (R.), -
Etude enzymatique comparée d'antigènes de levure
en immunoélectrophorèse quantitative
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1982, Tome XI n° 1,85-89.
- 55 - GARGANI (G.), CAMPISI (F.) et FAGGI (E.), -
Fréquence et caractéristiques de souches de *Candida albicans* résistantes à la 5 fluorocytosine.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1976, Tome V n°2,95-98
- 56 - GARGANI (G.), CAMPISI (E.) et FAGGI (E.), -
Réactions croisées entre quelques espèces du genre *Candida* démontrées par inoculation intradermique chez le cobaye.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1979, Tome VIII n° 1,17-20
- 57 - GARGANI (G.), FAGGI (E.) et GRAZIANO (M.A.), -
Etude de la virulence de mutants thermosensibles de *Candida albicans* sérotype A et sérotype B.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1980, Tome IX n°2,193-196.
- 58 - GARGANI (G.), FAGGI (E.), CAMPISI (E.) and BERRETTI (R.), -
The A and B sérotype of *Candida albicans*.
antigenic pattern and pathogenic activity In
sexuality and pathogenicity of Fungi.
Proceedings of the third international colloquium on
medical mycology (Antwerps, Belgium 7-9 December 1979).
pp. 210-223
Edited by R.VANBREUSEGHEM M.D. and De VROEY M.D.
Masson, Paris 1981.

- 59 - GILLE (Y.) et GUINET (R.), -
Evaluation d'une microméthode (API 20 c).
d'identification de levure.
Rev. Inst. Pasteur. Lyon, 1978, 11, 55-63.
- 60 - GORDON (M.A.), -
Rapid serological differentiation of *Candida albicans* from *Candida stellatoidea*.
J. Invest. Dermatol. 1958, 31, 123-125
- 61 - GORIN (P.A.J.), and SPENCER (J.F.T.), -
Proton magnetic resonance spectroscopy: an aid
in identification and chemotaxonomy of yeasts.
Adv. Appl. Microbiol. 1970, 13, 25-89.
- 62 - GRESHAM (G.A.) and WHITTLE (C.H.), -
Studies of the invasive, mycelial form of *Candida albicans*.
Sabouraudia 1961, 1, 30-33.
- 63 - GUINET (R.), GABRIEL (S.), ORIEZ (F.) et BONALY (R.), -
Identification par immunoélectrophorèse bidimensionnelle d'antigènes pariétaux solubles spécifiques de *Candida tropicalis*.
Ann. Microbiol. Institut Pasteur, 1979, 130 B, 433-442.

64 - GUINET (R.) et GABRIEL (S.), -

Etude antigénique de *Candida albicans* sérotypes A et B.

- 1 - Immunoélectrophorèse bidimensionnelle simple et couplée, et immunoélectrophorèse linéaire.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd., 1980 Tome IX n° 1, 85-89

65 - GUINET (R.) et GABRIEL (S.), -

Etude antigéniques de *Candida albicans* sérotypes A et B.

- 2 - antigènes solubles spécifiques du sérotype A en Immunoélectrophorèse bidimensionnelle linéaire avec absorption des anticorps in situ
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd., 1980 Tome IX n° 1, 91-96.

66 - GUINET (R.) et GABRIEL (S.), -

Comparaisons par immunoélectrophorèses quantitatives des antigènes de *Candida albicans* groupes A et B et de *C. tropicalis*.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd., 1980, 9, 241-246

67 - GUINET (R.) et GABRIEL (S.), -

Les méthodes d'immunoélectrophorèse quantitative appliquées à l'immunochimie de *Candida*.

Comptes rendus des séances de la Société de biologie
Extrait du tome 174, n° 3, 1980, p. 325.

68 - HAMDOUNE(A), BASTIDE (M.), LAMBOU (D.) et BASTIDE (J.M.), -

Etude comparée par immunoélectrophorèse des antigènes de *C. albicans* et de sa forme protoplaste.

Trav. Soc. Pharm. Montpellier 1973, 33, Fasc 4
557-586.

- 69 - HASENCLEVER (H.F.) and MITCHELL (W.O.), -
Antigenic relationships of *Torulopsis glabrata* and seven species of the genus *Candida*
J. Bacteriol., 1960, 79, 677-681
- 70 - HASENCLEVER (H.F.) and MITCHELL (W.O.), -
Antigenic studies of *Candida* I.
Observation of two antigenic groups in *Candida albicans*
J. Bacter., 1961a 82, 570-573.
- 71 - HASENCLEVER (H.F.), MITCHELL (W.O.) and LOEWE (J.), -
Antigenic studies of *Candida*
II Antigenic relation of *C. albicans* group A and Group B to *C. stellatoidea* and *C. tropicalis*.
J. Bacteriol. 1961b, 82, 574-577
- 72 - HASENCLEVER and MITCHELL (W.O.), -
Antigenic studies of *Candida*
Comparative pathogenicity of *C. albicans* Groupe A Groupe B and *C. stellatoidea*
J. Bacteriol., 1961 c, 82, 578-581
- 73 - HASENCLEVER (H.F.) and MITCHELL (W.O.), -
Antigenic studies of *Candida*
IV the relationship of the antigenic groups of *Candida albicans* to their isolation from various clinical specimens.
Sabouraudia, 1963, 2, p. 201-204.
- 74 - HASENCLEVER (H.F.) and MITCHELL (W.O.), -
Immunochemical studies on polypaccharides of yeasts.
J. Immunol. 1964, 93, 763-771

- 75 - JAULMES (CH.), JUDE (A.), QUÉRANGAL DES ESSARTS
et DELGA (J.). -
Pratique du laboratoire
3ème éd. Paris Masson et Cie, 1964
- 76 - JONES (G.R.) and STEWART-TULL (D.E.S.),-
Antigenic analysis of yeast cell-walls
Sabouraudia 1975, 13, 94-109
- 77 - JONSEN (J.), THJOTTA (TH.) and RASCH (S.), -
Quantitative agglutination studies in fungi
2. serological relationship between *C. albicans*
and *C. stellatoidea*.
Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 1953, 33, 88-91
- 79 - KAMAYA (T.). -
Simple rapid identification of *Candida albicans*
with emphasis on the differentiation between
Candida albicans and *Candida stellatoidea*
Mycopathol Mycol. Appl. 1968, 35, 105-112
- 80 - KAMINSKY (D.) and QUINLAN (L.J. R.), -
A simple inexpensive method for rapid identi-
fication of *Candida albicans*.
Amer. J. Clin. Path. 1963, 40, 143-145

- 81 - KANNO (T.) and SUZUKI (J.), -

A new method for the rapid identification
of medically important yeasts.

Iatron Laboratory, Funabashi. Shi. Chiva-ken
274, Japon. (Communication personnelle à DOUCHET, Ch.
1975).

- 82 - KAPLAN (W.) and KAUFMAN (L.), -

The application of fluorescent antibody
techniques to medical mycology. A review.
Sabouraudia, 1961, 1, 137-144.

- 83 - KOENIG (H.), -

Types serologiques des *Candida albicans*
et resistance à la 5 fluorocytosine
Bull. Soc. Fr. de Mycol. Med. 1978, Tome VII n° 2.

- 84 - KONE (M.), N'DOLI (G.) et DOUCHET (CH.), -

Diagnostic rapide de *Torulopsis*
glabrata au laboratoire
Bull. Soc. Fr. Mycol. Med. 1983, Tome XII n° 2

- 86 - LANDAU (J.W.), DABROWA (N.) and NEWCOMER (Y.D.), -

The rapid formation in serum of filaments
by *Candida albicans*
J. Invest. Derm. 1965, 44, 171-179.

- 87 - LANGERON (M.) et GUERRA (P.),-
Valeur et nature des variations et dissociations
de colonies chez les champignons levuriformes.
Ann. Parasitol. Hum. Comp., 1939-1940, 17, 447-469.
- 88 - LANGERON (M.) et TALICE (R.V.),-
Nouvelles méthodes d'étude et essai de classification
des champignons levuriformes.
Ann. Parasitol. Hum. Comp., 1932, 10, 1-80.
- 89 - LANGERON (M.) et VANBREUSEGHEM (R.),-
Précis de Mycologie.
Paris, Masson éd., 1952.
- 89 BIS - LEBECQ (J.C.), SALHI (S.L.) and BASTIDE (J.M.),-
A novel antibody overlay technique for two-
dimensional immunoelectrophoresis.
J. Immunol. Methods, 1984, 66, 219-226.
- 90 - LODDER (J.),-
The yeasts.
North-Holland publishing.
Compagny-Holland publishing
Compagny-Amsterdam 1971.
- 91 - LOURIA (D.B.), BRAYTON (R.G.) and TINKEL (G.),-
Studies on the pathogenesis of experimental
Candida albicans infections in Nice.
Sabouraudia, 1963, 2, 271-283.
- 92 - MACKENZIE (D.W.R.),-
Serum tube identification of Candida albicans.
J. Clin. Path. 1962, 15, 563-565.

- 93 - MALLIE (M.), RICHARD (M.), LEBECQ (J.C.), et BASTIDE (J.M.), -
Valeur de différents milieux de culture pour
l'identification rapide de diverses levures
pathogènes .
I Etude des genres Candida, Saccharomyces,
Torulopsis et Hansenula.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1979, Tome VIII n°2,
145-152
- 94 - MARTIN (D.S.), -
Studies on the immunologic relationships
among various species of the genus
Candida (Monilia).
Amer. J. Trop. Med. 1942, 22, 295-303.
- 95 - MARTIN (M.V.), -
Germtube formation by oral strains of
Candida tropicalis.
J. Med. Microbiol. 1979, 12, 187-192
- 96 - MICHAEL (R.) and MC. GINNIS, -
Laboratory handbook of medical
mycology.
Academic Press edit. New York 1980.
- 97 - MISAKI (A.), JOHNSON (J.), KIRWOOD (S.), SCALETTI (J.V.)
and SMITH (F.), -
Structure of the cell-wall glucan of yeast
(Saccharomyces cerevisiae).
Carbohydr. Res. 1968, 6, 150-164.

98 - MÜLLER (H.L.), -

Cross reactions of eight yeasts and their importance in serological Candida diagnostic.

Med. Microbiol. Immunol, 1979, 167, 211-222

99 - NICKERSON (W.J.) and MANKOWSKI (Z.), -

A polysaccharide medium of known composition favoring chlamydospore formation in *Candida albicans*.

J. Inf. Dis, 1953, 92, 20-25

100- OHTSUDA (Y.) and TSUCHIYA (T.), -

Serological relationships among some pichia species.

Abst. II. Int. Specializ. Symp. On yeast, Tokyo. 1972

101- PENAUD (A.), WEILLIER (P.J.), LAM-MY (S.), GAMBARELLI-MONILLAC(N) et MONGIN (M.), -

Septicémie à *Candida albicans* avec atteinte meningée et oculaire.

Reflexions sur les actions respectives de l'amphotericine B et du Ketoconazole.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1981, X n° 2, 193-198.

102- PERROT (M.O.), GUILLOT (R.) et AMBROISE-THOMAS (P.), -

Répartition dans l'organisme et sensibilité à la 5 F C des 2 sérotypes de *Candida albicans*.

Etude de 680 souches.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd., 1977, Tome VI n° 2, 305-309.

103- PHAFF (H.J.) and FELL (J.W.). -

Cryptococcus kützing emend. Phaff et Spencer
in the yeasts. pp. 1088-1145
Edited by J. Lodder. North-Holland Publishing
Compagny-Amsterdam 1971

104- POULAIN (D.), DESSEAUX (G.) et VERNES (A.). -

Variation de la structure antigénique pariétale
des blastospores de Candida albicans.
II appréciation de la richesse des souches clonées
en antigène P. Influence du milieu de culture.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1978, Tome VII n° 1,
37-44.

105- POULAIN (D.), FRUIT (J.) et VERNES (A.). -

Variation de la structure antigénique
pariétale de Candida albicans. Mise en évidence
au niveau des blastospores d'un antigène P. dépendant
de leur origine.
Sabouraudia 1980, 18, 61-68

106- POULAIN (D.), TRONCHIN (G.), LEFEBVRE (B.) and MARIE ODILE
HUSSON . -

Antigenic variability between Candida albicans
blastospores isolated from healthy subjects and
patients with Candida infection.
Sabouraudia, 1982, 20, 173-177

107- POULAIN (D.) TRONCHIN (G.), VERNES (A.), POPEYE (R.) and
BIGUET (J.). -

Antigenic variations of Candida albicans in vivo
and in vitro-relationships between p. antigens
and serotypes.
Sabouraudia, 1983, 21, 99-112.

108 - QUILICI (M.), -

La recherche des Candida dans la pratique courante des laboratoires de biologie médicale
Monographie de l'Institut d'Hygiène tropicale et de Médecine tropicale et du laboratoire de Biologie (Parasitologie) du C.H.U. de la Timone-Marseille.

110 - RICHARD (M.), -

Serology and yeast classification
Antonie Van Leeuwenhoek, 1972, 38, 177-192

111 - RIMBAUD (P.), HARANT (H.), BESSIERE (C.) RIOUX (J.A.)
et BASTIDE (J.M.), -

Contribution à l'étude séro-immunologique de la Candidose expérimentale du lapin.
Path. Biol., 1960, 8, 329-335

112 - ROSENTHAL (S.) and FURNARI (D.), -

Slide agglutination as a presumptive test in the laboratory diagnosis of Candida albicans.
J. Invest. Dermatol, 1958, 31, 251-253.

113 - SAEZ (H.), RINJARD (J.) et BATTESTI (M.R.), -

Cryptococcose chez un Fennec, Fennecus Zerda caractéristiques et différentiation de cryptococcus neoformans.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1978, Tome VII n° 1, 69-72

- 114 - SARFATI (C.), BASSET (D.), GUILHOT (F.), GLUCKMAN (E.),
DEVERGIE(A), ABDELMOULA (J.) et DROUHET (E.). -
Septicémie mortelle à *Trichosporon cutaneum*
chez un sujet immunodéprimé.
Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1983, Tome XII n°1,
39-42.
- 115 - SEELIGER (H.P.R.). -
Use of a urease test for the screening and
identification of cryptococci.
J. Bact., 1958, 72, 127-131
- 116 - SEGRETAÏN (G.), DROUHET (E.) et MARIAT (F.). -
Diagnostic de laboratoire en mycologie médicale
Paris, 4è éd. Maloine éd. 1979.
- 117 - SHINODA (T.), KAUFMAN (L.) and PADHYE (A.A.). -
Comparative évaluation of the Iatron serological
Candida check kit and the API 20c Kit for identi-
fication of medically important candida species.
J. Clin. Microbiol. 1981, 13, 513-518
- 118 - STALLYBRASS (F.C.). -
The incidence of the serological groups of
Candida albicans in southern england.
J. Hyg. Camb. 1964, 62, 395-399
- 119 - STEWART-TULL (D.E.S.), TIMPERLEY (W.R.), and HORNE (C.H.W.). -
Some immunochemical observations on the cell
walls of yeasts.
Sabouraudia 1966, 5, P. 104-109

- 120 - SUMMERS (D.F.), GROLMAN (A.P.) and HASENCLEVER (H.F.), -
Polysaccharide antigens of Candida cell wall
J. Immunol. 1963, 92 pp. 491-499
- 121 - SWEET (CH.) and KAUFMAN (L.), -
Application of agglutinins for the rapid and
accurate identification of medically important
Candida species.
Applied Microbiologie, 1970, Vol 19 n° 5 pp. 830-
836.
- 122 - TAGUCHI (M.), YAMAZAKI (M.) and TSUCHIYA (T.), -
Rapid identification of Candida species by
the serological method.
Proceedings of the second international special-
ized symposium on yeasts, university of Tokyo
Press 1972, 282-288
- 123 - TAGUCHI (M.), TSUKIJI (M.) and TSUCHIYA (T.), -
Rapid identification of yeasts by serological
methods: A combined serological and biological
method.
Sabouraudia 1979, 17, 185-191.
- 124 - TASCHDJIAN (C.L.), BURCHALL (J.J.), and KOZINN (P.J.), -
Rapid identification of Candida albicans by
filamentation on serum and serum substitutes
J. Dis. Child, 1960, 99, 212-215.

- 125 - TSUCHIYA (T.), IWAHARA (S.), MIYASAKI (F.), and
FUKAZAWA (Y.), -

Studies on the classification of genus *Candida*
antigenic analysis of seven species of genus
Candida.

Japan. J. Exp. Med., 1954, 24, 95-103

- 126 - TSUCHIYA (T.), MIYASAKI (F.) and FUKAZAWA (Y.), -

Studies on the classification of the genus
Candida. Comparison of antigenic structures
of standard and others strains .

Japan. J. Exp. Med. 1955, 25, 15-21

- 127 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), MIYASAKI (F.) and
KAWAKITA (S.), -

Studies on the classification of the genus
Candida. Thermostable and thermolabile anti-
gens of the seven species of the genus *Candida*.

Japan. J. Exp. Med. 1955, 25, 75-83

- 128 - TSUCHIYA (T.), KAMIJO (K.), FUKAZAWA (Y.), MIYASAKI (F.)
and KAWAKITA (S.), -

Studies on the classification of the genus
Candida.

IV relation of the isolated strains to their
antigenic structure.

Yokohama Med. Bull. 1956, 7, 127-131.

- 129 - TSUCHIYA (T.), KAMIJO (K.) and FUKAZAWA (Y.), -

Further studies on the classification of the
genus *Candida*.

V antigenic analyses of eight species.

Jap. J. M. Sc. Biol., 1956, 9, 103-112

- 135 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), SATO (I.), KAWAKITA (S.),
YONEZAWA (M.), and YAMASE (Y.). -
Serological classification of the genus
Saccharomyces.
Yokohama. Med. Bull. 1958, 9, 359-370
- 136 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), and KAWAKITA (S.). -
A method for the rapid identification of the
genus Candida.
Mycopathol. Mycol. Appl. 1959, 10, 191-206.
- 137 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), SANO (Y.), SHIMURA (Y.)
and MURATA (T.). -
Serological classification of the genera
Debaryomyces and Schwanniomyces.
Japan. J. Microb. 1960, 4, 61-71.
- 138 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), and KAWAKITA (S.). -
Serological classification of the genus
Torulopsis.
Sabouraudia, 1961, 1, 145-153.
- 139 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), and KAWAKITA (S.). -
Serological classification of the genus
Torulopsis (II)
Yokohama Med. Bull. 1961, 12, 184-191

- 140 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), and YAMASE (Y.). -
Serological classification of the genus
Saccharomyces (II).
Japan J. Microbiol. 1961, 5, 417-429
- 141 - TSUCHIYA (T.), YAMASE (Y.) and UDAGAWA (M.). -
Serological classification of the genus
Hansenula (IV).
Japan. J. Microbiol., 1964, 8, 21-30
- 142 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), KAWAKITA (S.), IMAI (M.)
and SHINODA (T.), -
Serological classification of the genus Saccha-
romyces (III).
Japan. J. Microbiol. 1965, 9, 149-159.
- 143 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (S.) and KAWAKITA (S.). -
Significance of serological studies on yeasts.
Mycopath. Mycol. Appl. 1965, 26, 1-15
- 144 - TSUCHIYA (T.), KAWAKITA (S.), IMAI (M.) and MIYAGAWA (K.). -
Serological classification of the genera
Kloeckera and Hanseniaspora.
Japan. J. Exp. Med. 1966, 36, 555-562
- 145 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), TAGUCHI (M.), NAKASE (T.) and
SHINODA (T.). -
Serologic aspects on yeasts classification
Mycopath. Mycol. Appl. 1974, 53, 77-91

- 146 - VANBREUSEGHEM (R.) DE VROEY (C.H.) et TAKASHIO (M.). -
Guide pratique de mycologie médicale et vétérinaire.
2ème éd. - Paris, MASSON, 1978.
- 147 - VAN DER WALT (J.P.)
Criteria and methods used in classification in
the yeasts. PP. 34-113 Edited by J. Lodder.
North. Holland publishing Compagny-Amsterdam 1971.
- 148 - VAN UDEN (N.) and BUCKLEY (H.).-
Candida Berkhout In
the yeasts. PP. 893-1087 Edited by J. Lodder
North. Holland publishing compagny-Amsterdan 1971.
- 149 - VERNES (A.), DUJARDIN (L.), POULAIN (D.), GRILLOT (R.) and
BIGUET (J.) (1978).-
Sérologie sur cultures monospores de Candida
albicans.
Bull. Soc. Fr. Mycol. méd., 1978, Tom VII n°2,233-240.
- 150 - WALKER (L.) and HUPPERT (M.).-
Corn meal-tween agar : an improved medium
for the identification of Candida albicans.
Amer. J. Clin. , 1960, 33, 190(194).
==
- 151 - WARWOOD (N.) and BLAZEVIC (D.).-
Comparaison of cream of rice agar and horse serum
for differentiating germe tubes of Candia albicans
from filaments of Candida tropicalis.
J. Clin. Microbiol. 1977, 5, 501 - 502
=
- 152 - YOUNG (G.).-
The process of invasion and the persistence of
Candida albicans injected intraperitoneally into mice.
J. Infect. Dis., 1958, 102, 114-120.
==

- 130 - TSUCHIYA (T.), KAWAKITA (S.), HAYASHI (S.), SATO (I.)
and TAKAHASHI (M.). -

Further studies on the classification of the
genus *Candida*.

VI antigenic analysis of four species.

Yokohama Med. Bull. 1956, 8, 8-14

- 131 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), HAYASHI (S.), HAYASHI (J.),
and DOI (M.). -

Serological relationships among ascosporo-
genous and asporogenous yeasts.

I. *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida robusta*

Japan. J. Microb., 1957, 1, 125-131

- 132 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), HAYASHI (S.), AMEMIYA (S.)
and SANO (Y.). -

Serological relationships among ascosporogenous
and asporogenous yeasts.

II antigenic structures of five species of the
genus *Saccharomyces*.

Japan. J. Microb. 1957, 1, 205-212

- 133 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), HAYASAI (J.), NISKIKAWA (Y.)
and DOI (M.). -

Serological classification of the genus
Hansenula.

Japan. J. Microb., 1957, 1, 339-346.

- 134 - TSUCHIYA (T.), FUKAZAWA (Y.), SATO (I.), AMEMIYA (S.)
and MURATZ (T.). -

Further studies on the classification of the
genus *Hansenula*.

Japan. J. Exp. Med. 1958, 28, 105-114

Vu et permis d'imprimer

Montpellier, le

P/Le Président de l'Université de Montpellier I,
Le Vice-Président

Doyen - H. ORZALES