

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE  
Faculté des Sciences et de la Technologie  
Département : Sciences Biologiques



جامعة غليزان  
RELIZANE UNIVERSITY

**MEMOIRE**  
**En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en : Parasitologie**  
**Intitulé**

**Étude sur la formation des hyphes, une forme parasitaire chez *Candida albicans***

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> KEBIR Amel

M<sup>elle</sup> SASSI Fatima Asma

**Devant les membres de jury :**

**Président :** Dr. BELKHEIR Khadidja

Maître de conférences (A) (U. Relizane)

**Encadrant :** Dr. SEBAA Sarra

Maître de conférences (B) (U. Relizane)

**Examineur :** Dr. NABTI Ismahane

Maître de conférences (B) (U. Relizane)

**Année universitaire : 2023/2024**

# ***REMERCIEMENTS***

*En premier lieu, nous remercions **ALLAH**, le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la volonté, et la patience pour mener à bien notre travail.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou loi à la réalisation de ce présent mémoire, en particulier notre encadreur **Dr. SEBAA Sarra** qui nous a proposé le présent sujet ainsi que pour son aide et ses conseils durant l'élaboration de ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements aux membres de jury qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail. **Dr. BELKHEIR Khadidja**, Présidente du jury et **Dr. NABTI Ismahane** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Enfin, nous remercions chaleureusement nos familles et tous les enseignants de l'Université de Relizane pour leur aide tout au long de notre parcours universitaire.*

## ***DÉDICACES***

## ***Dédicace***

***Je dédie ce travail :***

***A ma chère mère Houria et à mon cher père Habib qui n'ont jamais cessé de me supporter, me soutenir et m'encourager durant mes années d'études. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude et reconnaissance.***

***A mes chères Sœurs : Wiaam et Sarra pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral et à mes frères Mohammed et Adem***

***A ma tante (Fatma) en la remerciant pour ses encouragements***

***Et à toutes mes amies de proche ou de loin***

***Melle : Amel***

## ***Dédicace***

***Je dédie ce travail, avec tout ce que j'ai de sentiments de respect et d'amour, à mon premier sourire et ma source de tendresse, ma chère mère et à mon puits de sagesse et mon seul recours mon cher père. C'est à ces deux chers que je me mets à genoux, c'est à eux que je dis: merci, et je vous aime.***

***A mes sœurs Imane et Sirine.***

***A mon frère abdelmalak.***

***A mon ami zineeddine en signe d'amour et de gratitude pour m'avoir supporté et soutenu.***

***A toute ma famille et mes amis proches de m'avoir supporté et surtout soutenu.***

***Melle : Fatima Asmaa***

## Résumé

*Candida albicans*, un champignon ubiquitaire, se distingue par sa capacité à adopter deux formes distinctes : la levure en blastoconidie et le filament. Naturellement présent dans la bouche et les parties génitales des mammifères, il ne se révèle pathogène qu'en passant de sa forme levure à sa forme filamenteuse. Cette transformation remarquablement rapide s'explique par son aptitude à réagir aux signaux environnementaux, tels que les variations de pH ou de concentration en sucre. L'étude de l'effet d'un surnageant de culture sur la filamentation de *Candida albicans* s'avère cruciale pour décrypter les mécanismes régulant ce processus complexe. L'ajout de surnageant de culture a entraîné une augmentation significative de la filamentation de *Candida albicans* dans les deux suspensions testées. L'effet du surnageant de culture a été plus prononcé dans la suspension à concentration cellulaire élevée ( $20 \times 10^6$  bl/mL). La transformation de la levure en filaments s'amorce par la formation d'un tube germinatif, un phénomène dépendant de divers facteurs tels que le sérum, le pH, la température et les molécules du *quorum sensing* (QSM). Parmi ces QSM, le farnesol et le tyrosol qui jouent un rôle prépondérant dans le cas de *Candida albicans*.

**Mots clés :** *Candida albicans*, filamentation, *quorum sensing*, surnageant de culture

## المخلص

### المبييضات البيضاء *Candida albicans*

تتميز المبييضات البيضاء، وهي فطريات منتشرة في كل مكان، بقدرتها على اتخاذ شكلين متميزين: الخميرة والخيوط (filament). وهي موجودة بشكل طبيعي في الفم والأعضاء التناسلية للثدييات، ولكنها تصبح ممرضة فقط عندما تتغير من شكلها الخميرة إلى شكلها الخيطي. ويفسر هذا التحول السريع بشكل ملحوظ من خلال قدرته على الاستجابة للإشارات البيئية، مثل التغيرات في درجة الحموضة أو تركيز السكر. تثبت دراسة تأثير طاف (supernatant) على خيوط المبييضات البيضاء أهمية كبيرة في فك رموز الآليات التي تنظم هذه العملية المعقدة. أدت إضافة طاف الثقافة إلى زيادة كبيرة في خيوط المبييضات البيضاء في المعلقين اللذين تم اختبارهما وكان تأثير طاف الثقافة أكثر وضوحاً في التعليق عند تركيز خلوية عالية ( $20 \times 10^6$  بل / مل). يبدأ تحويل الخميرة إلى خيوط بتكوين أنبوب جرثومي، وهي ظاهرة تعتمد على عوامل مختلفة مثل المصل، ودرجة الحموضة، ودرجة الحرارة، وجزيئات استشعار النصاب (QSM) من بين هذه QSM فارنيسول والتيروسول التي تلعب دوراً هاماً في حالة المبييضات البيضاء.

**الكلمات المفتاحية :** *Candida albicans* , جزيئات , استشعار النصاب , الطاف , لشعيرة

## Abstract

*Candida albicans*, a ubiquitous fungus, is distinguished by its ability to adopt two distinct forms: the yeast blastoconidia and the filament. Naturally present in the mouth and genitals of mammals, it only becomes pathogenic when it changes from its yeast form to its filamentous form. This remarkably rapid transformation is explained by its ability to react to environmental signals, such as variations in pH or sugar concentration. The study of the effect of a culture supernatant on the filamentation of *Candida albicans* proves crucial to decipher the mechanisms regulating this complex process. The addition of culture supernatant resulted in a significant increase in *Candida albicans* filamentation in both suspensions tested. The effect of the culture supernatant was more pronounced in the suspension at high cell concentration ( $20 \times 10^6$  bl/mL). The transformation of yeast into filaments begins with the formation of a germ tube, a phenomenon dependent on various factors such as serum, pH, temperature and *quorum sensing* molecules (QSM). Among these QSM, farnesol and tyrosol which play a preponderant role in the case of *Candida albicans*.

**Keywords :** *Candida albicans*, filamentous , *quorum-sensing*, culture supernatant

# **TABLE DES MATIÈRES**

## REMERCIEMENTS

## DEDICACES

## RESUME

## TABLE DES MATIERES

## LISTE DES FIGURES

## LISTE DES TABLEAUX

## LISTE DES ABREVIATION

## GLOSSAIRE

## INTRODUCTION 1

## BUT DU TRAVAIL 2

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 3

### 1. *Candida albicans* 4

#### 1.1. Définition 4

#### 1.2. Pathogénicité 4

#### 1.3 Taxonomie 4

#### 1.4 Habitat 5

#### 1.5 Morphologie 5

#### 1.6 Reproduction asexuée 6

#### 1.7 Reproduction sexuée 7

#### 1.8 Forme de résistance 7

### 2. Structure Cellulaire de *Candida albicans* 7

#### 2.1 Structure générale de la Paroi du *Candida albicans* 8

##### 2.1.1. Proteine 9

##### 2.1.2 Chitine 9

##### 2.1.3 Lipide 9

##### 2.1.4 Glucanes 9



|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| 2.2. La membrane plasmique de <i>Candida albicans</i>     | 10 |
| 2.3 Les organites intracellulaires                        | 10 |
| 3. Le passage au parasitisme de <i>Candida albicans</i>   | 10 |
| 4. Mécanismes de pathogénécité et facteurs de virulence   | 12 |
| 4.1 La capacité à adhérer aux Surfaces                    | 12 |
| 4.2 La formation de mycélium vrai et de pseudomycélium    | 12 |
| 4.3. Formation du biofilm                                 | 13 |
| 4.4. Interférence de <i>Candida</i> avec la phagocytose   | 13 |
| 4.5. Interférence avec le complément                      | 13 |
| 4.6 Enzymes et virulence                                  | 13 |
| 5. <i>Quorum sensing</i>                                  | 14 |
| 5.1. Le farnésol                                          | 15 |
| 5.2 Le tyrosol                                            | 16 |
| <b>MATERIEL ET METHODES</b>                               | 18 |
| <b>1. Matériel</b>                                        | 19 |
| 1.1. Matériel biologique                                  | 19 |
| 1.2 Milieu de culture                                     | 19 |
| 1.3 Equipement et Consommables                            | 19 |
| <b>2. METHODES</b>                                        | 19 |
| 2.1 Conservation de la souche                             | 19 |
| 2.2 Protocole expérimental                                | 20 |
| 2.2.1. Étape 1 : Préparation d'un surnageant de culture   | 20 |
| 2.2.2 Etape 2 : Préparation des conditions expérimentales | 22 |
| 2.3. Analyses statistiques                                | 23 |
| <b>RESULTATS</b>                                          | 24 |

|                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation additionné de sérum sanguin (Incubation à 37°C)                                                            | 25 |
| 2. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation additionné de sérum sanguin (Incubation à 40°C)                                                            | 26 |
| 3. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation additionné de sérum sanguin (Incubation à 37°C versus 40°C)                                                | 28 |
| 4. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation seul (Incubation à 37°C versus 40°C)                                                                       | 28 |
| 5. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation seul après incubation à 40°C (Suspension cellulaire à $20 \times 10^6$ bl/mL versus $1 \times 10^6$ bl/mL) | 29 |
| <b>DISCUSSION ET CONCLUSION</b>                                                                                                                                                                  | 30 |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>                                                                                                                                                               | 33 |
| <b>ANNEXES</b>                                                                                                                                                                                   | 42 |

## Liste des figures

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figure n°01 :</b> Morphologie de <i>Candida albicans</i> .....                                                                                                                                                                                                                                           | <b>6</b>  |
| <b>Figure n°02 :</b> Organisation moléculaire de la paroi de <i>Candida albicans</i> .....                                                                                                                                                                                                                  | <b>8</b>  |
| <b>figure n°03 :</b> Structure du farnésol, formule $C_{15} H_{26} O$ .....                                                                                                                                                                                                                                 | <b>16</b> |
| <b>figure n°04 :</b> Structure du tyrosol ,formule $C_8 H_{10} O_2$ .....                                                                                                                                                                                                                                   | <b>16</b> |
| <b>Figure n°05 :</b> Ensemencement par strie .....                                                                                                                                                                                                                                                          | <b>20</b> |
| <b>Figure n°06 :</b> Schéma de la zone de comptage sur une Cellule de Malassez .....                                                                                                                                                                                                                        | <b>21</b> |
| <b>Figure n°07 :</b> Bourgeonnement de <i>Candida albicans</i> observé sur une cellule de Malassez au microscope optique (Flèche noire, Gr x40). .....                                                                                                                                                      | <b>21</b> |
| <b>Figure n°08 :</b> <i>Candida albicans</i> sous forme filament observé sur une cellule de Malassez au microscope optique (Flèche noire, Gr x40) .....                                                                                                                                                     | <b>23</b> |
| <b>Figure n°09 :</b> a) Graphes illustrant la cinétique de la formation des tubes germinatifs à 37°C dans le milieu MFF additionné de sérum sanguin en absence (contrôle) et en présence du surnageant. b) Graphe de comparaison contrôle vs surnageant. c) Courbe de formation des tubes germinatifs. .... | <b>26</b> |
| <b>Figure n°10 :</b> a) Graphes illustrant la cinétique de la formation des tubes germinatifs à 40°C dans le milieu MFF additionné de sérum sanguin en absence (contrôle) et en présence du surnageant. b) Graphe de comparaison contrôle vs surnageant. c) Courbe de formation des tubes germinatifs ..... | <b>27</b> |
| <b>Figure n°11 :</b> Courbe de formation des tubes germinatifs (37°C versus 40°C) dans le milieu MFF additionné de sérum sanguin. ....                                                                                                                                                                      | <b>28</b> |
| <b>Figure n°12 :</b> Courbe de formation des tubes germinatifs (37°C versus 40°C) dans le milieu MFF seul .....                                                                                                                                                                                             | <b>29</b> |
| <b>Figure n°13 :</b> Courbe de formation des tubes germinatifs à 40°C dans le milieu MFF seul pour deux concentrations cellulaires différentes. a) $20 \times 10^6$ bl/mL et b) $1 \times 10^6$ bl/mL.....                                                                                                  | <b>29</b> |

## Liste des tableaux

|                                                                            |           |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tableaux n°01 :</b> Préparations des tubes contrôle et surnageant ..... | <b>22</b> |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|

## Liste des abréviations :

% : Pourcentage

°C : degré Celsius

ml : millilitre

µl : microlitre

p : probabilité

pH : potentiel d'hydrogène

µm : micromètre

ADN: L'acide désoxyribonucléique

bl : blastoconidies

*C. albicans* : *Candida albicans*

CO<sub>2</sub> : Dioxyde de Carbone

Min : minute

MTL : *Mating Type Locus*

QS : *quorum sensing*

QSM : *quorum sensing molecule*

MFF : milieu de culture favorisant la filamentation

SEM: *Standars Error of the Mean*

## **Glossaire:**

**Ascomycète** : est un type de champignon qui se caractérise par la production de spores sexuelles contenues dans des structures en forme de sac appelées "asques"

**Biofilm** : est une communauté de micro-organismes. Il se forme sur une surface et est protégé par un mucus.

**Bourgeonnement** : est un mode de reproduction asexuée important chez certains champignons. Il est simple, efficace et permet une multiplication rapide

**Candida** : est un genre de champignons microscopiques, aussi appelés levures, naturellement présents dans le corps humain. On le retrouve le plus souvent dans la bouche, le tube digestif et le vagin

**Candidose** : est une infection causée par un champignon microscopique appelé *Candida*

**Commensal** : désigne une relation entre deux espèces où l'une tire profit de l'autre sans lui causer de dommage ni de bénéfice.

**Chitine** : est une biomolécule (plus précisément un polysaccharide) qui se trouve dans la paroi cellulaire des champignons.

**Farnésol** : est une molécule que l'on trouve naturellement chez le champignon *Candida albicans*. Il joue un rôle important dans la communication entre les cellules fongiques, un processus appelé *quorum sensing*.

**Filamentation** : est un processus par lequel *Candida albicans* se transforme en longs filaments multicellulaires. Cette transformation peut se produire en réponse à divers facteurs

**Glucane** : est un composant important de la paroi cellulaire de *Candida albicans* qui joue un rôle crucial dans sa capacité à infecter l'homme

**Infections** : pénétration et développement d'un agent pathogène (bactérie, virus, champignon, parasite) dans un organisme, provoquant des lésions et une réaction inflammatoire.

**Levure** : Champignon microscopique unicellulaire capable de transformer les sucres en alcool et en gaz carbonique.

**Microbiote** : est l'ensemble des micro-organismes, comme les bactéries, les virus et les champignons, qui vivent en équilibre dans un environnement spécifique du corps humain

**Pseudomycelium** : est une structure filamenteuse formée par certaines levures, comme *Candida albicans*

**Quorum sensing** : est un processus de communication entre cellules fongiques. Il permet à la levure de coordonner son comportement en fonction de la densité de population.

**Saprophyte** : est un organisme vivant qui se nourrit de matière organique morte.

**Tubes germinatifs** : sont des structures importantes pour la reproduction sexuée des champignons

# INTRODUCTION

*Candida albicans* est une levure commensale présente dans la bouche, le vagin, le tractus gastro-intestinal, les surfaces cutanées et muqueuses. C'est l'agent pathogène fongique opportuniste le plus fréquent chez l'homme. Lorsque l'équilibre nutritionnel, la température et le pH changent, des transitions morphologiques rapides peuvent se produire entre la forme levure et la forme hyphes de *Candida albicans*. Ceci est un phénomène exceptionnel (Sudbery *et al.*, 2004). *C. albicans* possède des mécanismes d'adaptation sophistiqués qui lui permettent de survivre dans un large éventail de conditions environnementales et de provoquer une grande diversité d'infections.

Les infections à *C. albicans* peuvent être superficielles, affectant la peau et les muqueuses (candidoses muco-cutanées), ou profondes, atteignant les organes internes et pouvant être fatales (candidoses systémiques). Le passage de *C. albicans* d'un état commensal à un état pathogène parasitaire se produit lorsque les défenses immunitaires de l'hôte (locales ou générales) diminuent, ce qui permet la prolifération des levures. (Segal, 2005 ; Sarazin, 2010).

Des recherches récentes ont révélé que le *quorum sensing* (QS) est un mécanisme important pour la régulation de la forme chez *Candida albicans*. La transition levure-hyphes, observée en laboratoire, dépend de la densité cellulaire. Ce phénomène est lié à la régulation par QS, indiquant que la communication entre cellules joue un rôle crucial dans le contrôle morphologique de *C. albicans* (Hornby JM *et al* 2001).

### **But du travail :**

Le but de notre mémoire est d'étudier l'effet d'un surnageant de culture de *Candida albicans* sur la filamentation de cette levure sachant que le surnageant de culture peut contenir des molécules du *quorum sensing* tels que le farnésol et le tyrosol.

# SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE



## **1. *Candida albicans***

### **1.1 Définition :**

*Candida albicans* (*C. albicans*) est un micro-organisme pathobionte omniprésent, membre de la flore commensale, qui peut provoquer des infections chez les patients sains et immunodéprimés. La candidose peut être superficielle (orale, vaginale, cutanéomuqueuse) ou profonde (myocardite, septicémie) (Molero *et al.*, 1998). La majorité des femmes (75 %) seront infectées par une candidose vaginale au moins une fois dans leur vie, mais seulement une minorité (5 %) en souffrira de manière récurrente. (Ferrer, 2000).

Les infections à *C. albicans*, courantes et faciles à traiter, sont généralement bénignes. Cependant, les infections systémiques, qui se développent souvent dans les hôpitaux, sont plus graves et ont un taux de mortalité élevé aux États-Unis. La candidose systémique, par exemple, a une mortalité de 40 % (Naris, 2003)

### **1.2 Pathogénicité:**

Les espèces *Candida* sont la cause principale des infections fongiques. Parmi ces espèces, *C. albicans* est celle qui cause le plus d'infections (Butler *et al.*, 2009). Le taux de mortalité se situe entre 20% et 60% en fonction des facteurs aggravant du patient. Il est responsable d'environ 700 000 décès par ans (Kornitzer, 2019). *C. albicans* peut infecter diverses niches physiologiques, la peau, la bouche, les tractus gastrointestinal et génito-urinaire.

### **1.3 Taxonomie:**

L'espèce *Candida albicans* appartient à la famille des *Candida*, à la classe Saccharomycotina, à laquelle appartient aussi la levure *Saccharomyces cerevisiae*, communément utilisée pour la fermentation de la bière ; ces deux espèces ont divergé il y a environ 840 millions d'années (McManus et Coleman, 2014).

Règne : Fungi ;  
Division : Ascomycota ;  
Classe : Saccharomycetes ;  
Ordre : Saccharomycetales ;  
Famille : Saccharomycetaceae ;  
Genre : *Candida*  
Espèce : *Candida albicans*

Cette taxonomie est à présent acceptée, mais les études génétiques fournissent de nouvelles informations, qui rendent plus complexe la classification phylogénétique des levures, et il se peut que la place de certaines espèces, notamment celle de *Candida albicans* soit revue (Naranjo-Ortiz et Gabaldon ,2019)

#### **1.4 Habitat :**

*Candida albicans* est un champignon saprophyte, c'est-à-dire qu'il vit sur des matières organiques en décomposition. Il est présent dans le tube digestif de l'homme et de certains animaux, mais sa densité est faible car il existe un équilibre biologique avec la flore bactérienne saprophyte. Il peut également être présent dans la nature, mais uniquement à la suite d'une contamination fécale humaine ou animale. Les autres espèces de *Candida* se rencontrent sur la peau et dans le tube digestif (cernéa *et al* ,1967, kolnick 1980).

En général, *Candida albicans* n'est pas présent de façon permanente sur la peau saine, sauf dans la région périanale (kuffer et badillet 1981a).

#### **1.5 Morphologie :**

*Candida albicans* est une levure sans capsule, sans pigmentation, qui respire l'oxygène. Elle est diploïde, c'est-à-dire que son matériel génétique est réparti en deux lots de huit chromosomes (Chu *et al*, 1993). La reproduction asexuée de cette levure se fait par bourgeonnements multiples, à partir d'une cellule mère appelée blastopore (Grase *et al*, 1996).

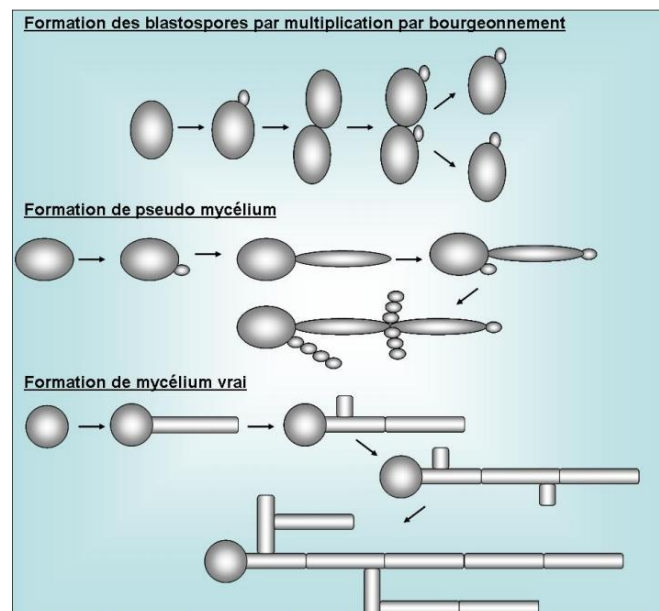
*Candida albicans*, une levure qui peut mesurer de 3 à 15 µm, se présente sous forme de blastospores en culture. Ces blastospores forment des colonies blanches crémeuses. Cette levure est polymorphe, c'est-à-dire qu'elle peut prendre différentes formes, *in vitro* et *in vivo* . Cette capacité à changer de forme lui permet de se soustraire aux défenses immunitaires de l'hôte. En effet, certains facteurs tels que le pH, la température ou la composition du milieu de culture peuvent influencer la morphologie de *Candida albicans* (Buffon *et al*, 1984).

Ainsi, trois aspects morphologiques peuvent être rencontrés (**Fig. 1**) :

Les formes blastopore et pseudomycélium sont deux formes de croissance des champignons.

- 1) La blastopore est une cellule ronde ou ovale, de 2 à 4 µm de diamètre. Elle peut parfois former un bourgeon, qui donnera naissance à une nouvelle cellule.
- 2) Le pseudomycélium est un assemblage de cellules mises bout à bout, mesurant de 500 à 600 µm de longueur et de 3 à

5  $\mu\text{m}$  de largeur. Il simule un filament mycélien, mais n'est pas constitué de filaments véritables. (Sudbery, 2001 ; Sudbery *et al*, 2004). Les compartiments cellulaires sont des espaces délimités par une membrane qui partagent une fonction physiologique commune. Ils ont tous la même longueur et contiennent la même quantité de matériel génétique. Cependant, ils diffèrent en quantité de cytoplasme et de ses constituants (Barelle *et al* 2006). 3) La forme mycélium vrai est une forme filamenteuse, composée de cellules allongées et cloisonnées. Elle se forme à partir de la forme levure par le biais d'une structure appelée tube germinatif. La forme mycélium vrai est importante dans le processus d'infection de l'hôte par *Candida albicans*. En effet, elle est plus invasive que la forme levure et permet au champignon de se propager plus facilement dans les tissus et les organes de l'hôte.(Gow, 2002)



**Figure n°01 :** Morphologie de *Candida albicans* (d'après Odds, *Candida and Candidosis*, 1988)

## 1.6 Reproduction asexuée :

La levure *Candida albicans* se reproduit principalement de manière asexuée, à l'exception de quelques espèces proches, telles que *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr* et *C. lusitaniae*.

La reproduction asexuée se fait par bourgeonnement de la blastospore, une cellule fille qui se forme à un pôle particulier de la cellule mère. La blastospore fille se détache ensuite de la cellule mère après la division du noyau par mitose et la septation de la cellule.(Odds, 1979). Dans certaines conditions, telles que la température, le pH ou la composition du milieu

de culture, la séparation des cellules ne se produit pas après la septation. Les cellules de levure, qui sont initialement rondes ou ovales, s'allongent et s'attachent les unes aux autres pour former une structure filamenteuse. Cette structure, appelée pseudomycélium, est plus ou moins ramifiée. Les levures du genre *Candida*, à l'exception de *C. glabrata*, sont capables de former un pseudomycélium. Les conditions qui favorisent la formation de pseudomycélium chez les champignons *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et *Candida dubliniensis* favorisent également la formation de mycélium vrai.

La deuxième forme de reproduction végétative des champignons se fait par croissance apicale. Cette croissance conduit d'abord à la formation d'un tube germinatif, puis d'un filament mycélien. Le filament mycélien est constitué d'articles cellulaires cylindriques uninucléés, séparés par des cloisons incomplètes. Ces cloisons présentent un pore central qui permet la continuité cytoplasmique entre les cellules (Odds, 1985. Staebell *et al*, 1985).

### **1.7 Reproduction sexuée :**

*C. albicans* était autrefois considéré comme un champignon diploïde asexué. Cependant, la découverte du *Mating Type Locus* (MTL) et des conditions de reproduction de *C. albicans* a conduit à la proposition d'un cycle parasexuel, caractérisé par une reproduction et une réduction du génome sans méiose. Ce cycle pourrait être un modèle de reproduction sexuée de *C. albicans* (Johnson, 2003). Après une phase de croissance, les cellules subissent une réduction du nombre de chromosomes, sans passer par la méiose. Cette réduction, qui se fait par simple perte aléatoire de chromosomes, permet aux cellules de revenir au stade diploïde (Miller et Johnson, 2002).

### **1.8 Forme de résistance :**

Sous certaines conditions de culture, *C. albicans* peut produire des chlamydospores. Ces spores sont de grosses cellules rondes ou ovales, à paroi épaisse, de 6 à 12 µm de diamètre. Elles sont considérées comme des formes de résistance de la levure. (Odds, 1979)

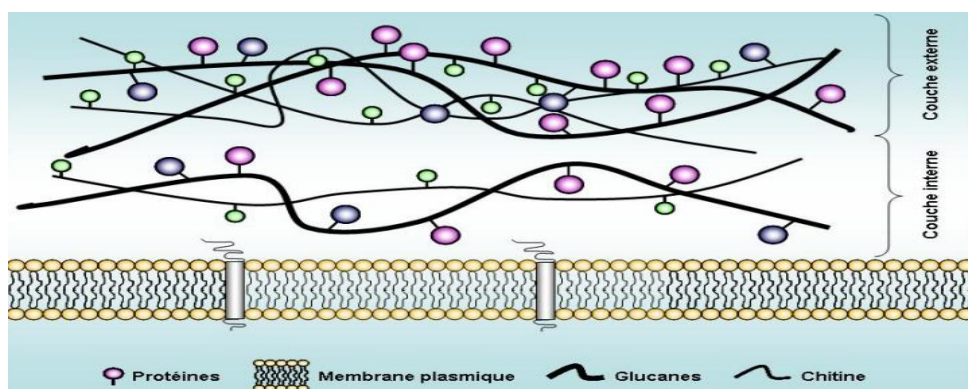
## **2. Structure cellulaire de *C. albicans* :**

*C. albicans* est un champignon eucaryote qui possède les caractéristiques suivantes :

- Noyau: un organite central délimité par une double membrane nucléaire, contenant l'ADN de la cellule.
- Chromosomes: structures en forme de X constituées d'ADN et de protéines, qui portent les informations génétiques de la cellule.
- Mitochondries: organites responsables de la production d'énergie de la cellule.
- Inclusions lipidiques: structures contenant des lipides, qui peuvent être utilisés pour stocker de l'énergie ou pour synthétiser des membranes.
- Activités enzymatiques: la cellule possède des enzymes de type phosphatase, oxydase et peroxydase qui sont impliquées dans diverses réactions chimiques vitales pour la cellule.
- La membrane plasmique : est recouverte d'une paroi qui donne à la levure sa forme et sa stabilité mécanique. Elle est aussi une zone de contact entre la cellule et son environnement. (Calderone, 1993).

## 2.1 Structure générale de la paroi du *Candida albicans* :

En première ligne face aux cellules hôtes, la paroi du *Candida albicans* est un élément crucial de ce champignon pathogène. Solidement étudiée (klis *et al* .2002 ; Firon *et al*.2004), elle joue un rôle essentiel dans la protection de la cellule fongique, lui assurant une résistance face aux agressions physiques, chimiques et biologiques. Véritable bouclier, elle est également responsable de la morphologie du *Candida albicans* et porte des antigènes importants qui lui permettent d'adhérer aux cellules hôtes et de déclencher sa pathogénicité.



**Figure n°02 :** Organisation moléculaire de la paroi de *Candida albicans*  
(D'après Ruiz-Herrera, 2006)

### **2.1.1 Protéines :**

Les protéines constituent une partie importante de la paroi cellulaire des levures, représentant entre 6 et 25 % de sa composition . Les protéines de la paroi cellulaire de la levure remplissent des fonctions structurales et enzymatiques (protéines à activité enzymatique : N-acétyl glucosamidase, phosphatase acide, protéinase, chitinase) nécessaires à la croissance cellulaire, à la survie et à l'adaptation à son environnement. (chaffin,W.L *et al* 1998).

### **2.1.2 Chitine :**

La chitine est un polymère linéaire composé de molécules de N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) liées entre elles par des liaisons  $\beta$ -1,4 ( Ruiz-Herrera *et al* 2006) . La chitine, en collaboration avec les  $\beta$ -glucanes, constitue l'ossature de la paroi cellulaire et joue un rôle crucial dans sa rigidité. Chez les levures, elle intervient dans le processus de bourgeonnement, en particulier dans la formation de l'anneau de constriction qui sépare la cellule mère de la cellule fille ( Tronchin, G *et al* 1981). Un rôle important de la chitine dans la formation des septa mycéliens, bien qu'elle ne représente qu'une faible proportion de la paroi (0,6 à 9 %).( Molano,J *et al* 1980)

### **2.1.3 Lipides :**

Les lipides, bien que ne représentant que 5 à 17 % de la paroi de *C. albicans* après extraction par solvants, ils constituent des composants mineurs importants. Des phospholipides, des triglycérides et des stérols libres ou estérifiés ont été identifiés parmi ces lipides. Le phospholipomannane, un lipide fascinant de la paroi de *C. albicans*, s'est révélé capable d'induire la production de facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ) chez les macrophages murins et humains. Cette découverte soulève l'hypothèse que les lipides pariétaux pourraient jouer un rôle crucial dans l'adhésion de *C. albicans* et l'activation de certaines voies de signalisation intracellulaires. (Ghannoum *et al* 2001)

### **2.1.4 Glucanes :**

*C. albicans* possède des  $\beta$ -glucanes, présents dans la couche interne de sa paroi cellulaire observable en microscopie. Ces  $\beta$ -glucanes constituent 50 à 60 % de la masse totale de la paroi. Ils constituent une chaîne principale formée de polymères de glucose reliés entre eux par des liaisons glycosidiques de type  $\beta$  -1,3 et/ou  $\beta$  -1,6. Les glucanes non ramifiés avec

des liaisons  $\beta$  -1,3 adoptent une structure microfibrillaire. La paroi de *C. albicans* est composée de glucanes  $\beta$  -1,3 et  $\beta$  -1,6, mais ne possède aucune liaison intra-chaîne mixte  $\beta$  -1,3/  $\beta$  -1,6. Chez *C. albicans*, il a été établi que les  $\beta$  -1,6 glucanes et la chitine sont liés par une liaison covalente, s'effectuant entre la position 1 du glucose et la position 6 du N-acétylglucosamine via une liaison glycosidique (Surarit 2001).

## **2.2 La membrane plasmique :**

La membrane plasmique, composée de deux feuilletts membranaires, joue un double rôle actif et passif dans le transport de substances et la régulation de l'environnement interne de la cellule. Le rôle actif s'observe dans le transport d'acides aminés, d'oses et d'ions. Le rôle passif s'observe dans la régulation de la pression osmotique. La membrane plasmique a d'autres fonction telles que : le transport des molécules et la biosynthèse des constituants de la paroi.

## **2.3 Les organites intracellulaires :**

Le cytoplasme de la cellule contient tous les organites cellulaires classiques, tels que le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, le noyau et les vacuoles digestives. La composition en protéines et l'activité enzymatique de ces organites varient en fonction du stade de développement de la cellule, en particulier pendant la germination (Manning, M *et al* 1980).

## **3. Le Passage du commensalisme au parasitisme chez *Candida albicans* :**

Le passage de *C. albicans* au parasitisme ne semble pas uniquement dépendre de sa prolifération et de la formation d'hyphes. La colonisation et l'infection par *Candida* débutent nécessairement, comme cela a été établi pour les bactéries, par une adhésion aux cellules épithéliales de surface.(Kimura et Pearsall, 1973, Sobel *et al*, 1981; Vudhichamnong *et al.*, 1982). De même, la fixation et la pénétration de *C. albicans* dans les tissus nécessitent la présence de récepteurs spécifiques sur la membrane cytoplasmique des cellules hôtes. Cette adhérence est supérieure à celle des autres espèces de *Candida* et est favorisée par plusieurs facteurs :

- Une lésion épithéliale: la présence d'une lésion facilite l'adhésion de *C. albicans* aux cellules hôtes. *C. albicans* adhère plus facilement aux cellules qui présentent des surfaces riches en hydrates de carbone.
- La diminution de la flore bactérienne buccale saprophyte : la flore bactérienne buccale peut empêcher la croissance de *C. albicans*. Une diminution de cette flore peut donc favoriser l'adhésion et la colonisation de *C. albicans*. (Samson, 1990). En modifiant la flore bactérienne, divers produits comme les antibiotiques, les bains de bouche et les antiseptiques contribuent probablement au développement des candidoses buccales (Samson, 1990)
- Le passage de *C. albicans* à l'état parasite est provoqué par des conditions favorables aux champignons ou par une baisse des défenses immunitaires de l'hôte.(Carlino et Budtz-Jørgensen, 1991).

*Candida albicans*, naturellement présent comme un champignon commensal, peut se transformer en agent pathogène sous l'influence de divers facteurs environnementaux tels que : le milieu de vie, le pH et les sources nutritives (Euzeby ,2001).

- **Milieu de vie :** *Candida* est un champignon aérobique qui vit naturellement sur les muqueuses. Il peut survivre dans l'environnement extérieur, mais il est détruit par le lavage et la stérilisation .(Euzeby.,1994).
- **pH :** la croissance est possible pour des pH allant de 3 à 7. En revanche, elle est compromise en milieu alcalin. L'acidité gastrique et vaginale n'altère pas la vitalité du micro-organisme. La température et l'humidité jouent également un rôle important dans la croissance. La plupart des levures se développent entre 20°C et 30°C. Cependant, les espèces pathogènes peuvent proliférer à 37°C, une température corporelle humaine. .(Euzeby.,1994).
- **Nutrition :** les champignons ne possèdent pas la capacité de synthétiser leurs propres composés carbonés à partir du CO<sub>2</sub> atmosphérique. Ils sont donc hétérotrophes et tirent leur énergie et leur croissance de la matière organique déjà formée. Le mycélium, réseau de filaments constituant le champignon, joue un rôle crucial dans l'absorption des nutriments et autres substances vitales pour son développement.(Koenigh.,1995).



#### **4. Mécanismes de pathogénicité et facteurs de virulence :**

*C. albicans* est un champignon opportuniste qui exprime de nombreux facteurs de pathogénicité. Sa virulence est liée à sa capacité d'adaptation à l'environnement, grâce à sa variabilité structurale et antigénique. Trois facteurs principaux contribuent à sa pathogénicité : l'adhésion aux composés de l'hôte, le dimorphisme (changement de forme), et la sécrétion de protéases et de phospholipases. Ces facteurs permettent à *C. albicans* de s'établir et de se propager dans un hôte dont les défenses sont affaiblies.(Calderone,*et al*,2001).

##### **4.1 La capacité à adhérer aux surfaces :**

Cette adhérence se produit au niveau des muqueuses, où des interactions spécifiques de type ligand/récepteur ont lieu entre les mannoprotéines de la paroi de la levure et des molécules spécifiques présentes sur les cellules hôtes. On désigne ces molécules d'adhésion par le terme "adhésines". La famille des Als (*Agglutinin-like sequences*) est un exemple important d'adhésines chez *Candida albicans*. (Hoyer *et al* 2001.) *Candida albicans* peut adhérer à différentes surfaces grâce à plusieurs mécanismes:

- Biofilms: suite à un traumatisme iatrogène ou chirurgical (pose de cathéters, sondes urinaires,...), *C. albicans* peut former des biofilms sur les implants en plastique. Ces biofilms protègent le champignon des défenses immunitaires et favorisent son développement.
- Hydrophobie: la paroi du champignon est naturellement hydrophobe, ce qui lui permet d'adhérer aux surfaces hydrophobes, comme les cellules épithéliales.
- Glycosylation: la nature et le degré de glycosylation des protéines de la paroi fongique influencent l'hydrophobicité de la paroi. Cela explique en partie pourquoi certaines souches de *C. albicans* sont plus adhérentes que d'autres à certains types de cellules hôtes.( Ruiz et Herrera,2006) .

##### **4.2 La formation de mycéliums vrais et de pseudomycéliums :**

C'est un processus complexe et crucial pour la virulence de certains champignons. Les tubes germinatifs jouent un rôle central dans ce processus en facilitant l'adhésion et la colonisation des tissus par le champignon. (Hoyer *et al.*, 2001). En déclenchant

l'internalisation du pathogène par ses propres mécanismes (Rotrosen *et al.*, 1983). L'augmentation de la production d'hyphes favorise l'invasion et la destruction des tissus (Filler et Swerdloff, 1995).

#### **4.3. Formation du biofilm :**

Le biofilm est une communauté microbienne fixée à une surface et enrobée d'une substance protectrice. Partout où se rencontrent un solide et un liquide, y compris sur les tissus vivants, des biofilms se forment. Ces biofilms protègent le tissu sous-jacent contre les agressions physiques, chimiques, thermiques et biologiques. Cependant, lorsque l'organisme s'affaiblit et que ses défenses sont compromises, les biofilms peuvent se transformer en réservoirs de microbes à l'origine d'infections. La structure et l'évolution du biofilm sont intimement liées. Cette complexité permet aux biofilms de jouer un rôle crucial dans divers environnements, des milieux naturels aux implants médicaux. (Filloux et Vallet, 2003).

#### **4.4 Interférence de *Candida albicans* avec la phagocytose :**

*Candida albicans* met en place plusieurs stratégies pour échapper aux cellules immunitaires telles que : a) La production de peptides acides: ces peptides bloquent la liaison des phagocytes aux cellules fongiques et perturbent leur métabolisme oxydatif, les rendant inefficaces. b) L'induction de l'apoptose: *C. albicans* peut déclencher la mort programmée des macrophages et des neutrophiles, les éliminant avant qu'ils ne puissent l'ingérer. (Rotstein et Parodo, 2000).

#### **4.5 Interférence avec le complément :**

Les adhésines fongiques, appelées mannoprotéines, peuvent créer une interférence avec le système du complément. Ces molécules, similaires au récepteur CR3 des lymphocytes, ont la capacité de se lier à certains composants du plasma sanguin, notamment la fibronectine et la fraction C3bi du complément. Cette interaction perturbe le processus de phagocytose, qui est essentiel pour l'élimination des levures par les cellules immunitaires. (Ibata-Ombetta et Idziorek, 2003).

#### **4.6 Enzymes et virulence :**

Lors d'une infection, la sécrétion d'enzymes hydrolytiques joue un rôle crucial dans la virulence. Ces enzymes dégradent les surfaces des muqueuses de l'hôte et affaiblissent ses défenses immunitaires, favorisant ainsi la progression de l'infection.(Schaller,M *et al*,2005). Parmi les enzymes hydrolytiques impliquées, on trouve les aspartyl protéinases (Saps) (Monod *et al*, 2002), les phospholipases (Ghannoum, *et al*,2000) et les lipases (Fu, *et al*,1997).

## 5. *Quorum sensing* :

Le *quorum sensing* (QS) est un système de communication entre cellules qui fonctionne par l'émission de messagers chimiques de petite taille se diffusant dans leur environnement proche. Les mécanismes de sécrétion et les fonctions des molécules de *quorum sensing* (QSM) sont largement documentés chez les bactéries. Les molécules endogènes protègent la population microbienne et régulent de nombreux processus physiologiques, contribuant ainsi à la modulation de la croissance. Ces molécules orchestrent l'expression des gènes au niveau de la population : leur concentration, corrélée à la densité de population, déclenche ou réprime l'expression de certains gènes lorsqu'elle atteint un seuil précis. (Miller, 2001 ; Rcding *et al* 2006 )

Le *quorum sensing* est un élément essentiel de la communication entre les différentes espèces du microbiote et contribue à l'équilibre des populations microbiennes. (Dixon *et al*, 2015). *C. albicans* vit dans des parties du corps comme le système digestif, où il coexiste avec d'autres microbes. Certaines bactéries à Gram négatif produisent des substances qui l'empêchent de se développer en filaments et l'aident à rester à un niveau non nuisible.(Dixon *et al* 2015 ; Noverr *et al* 2004).

Le système de communication par *quorum sensing* le plus étudié est celui de la bactérie marine bioluminescente *Vibrio fischeri*. Il est considéré comme le modèle de base pour ce type de communication chez la plupart des bactéries à Gram négatif. (Nealson *et al*,1970). Certaines enzymes, appelées LuxI, fabriquent des molécules appelées acyl homosérine lactones. Ces molécules agissent comme des signaux qui permettent aux bactéries de communiquer entre elles. Elles se lient à des protéines appelées LuxR, ensuite la transcription des gènes cible.

Le système de communication par *quorum sensing* LuxI/LuxR a été découvert chez plus de 70 espèces de bactéries à Gram négatif. On a également identifié une dizaine de molécules d'acyl homosérine lactone qui sont utilisées par ces bactéries. Ces molécules ont toutes une structure commune avec un anneau hydrophile d'homosérine lactone et une chaîne hydrophobe acyle (Fuqua *et al.*, 2001; Miller & Bassler, 2001).

Les bactéries à Gram positif possèdent un système de *quorum sensing* unique qui repose sur l'utilisation d'oligopeptides modifiés comme auto-inducteurs. Les peptides précurseurs sont d'abord synthétisés, puis modifiés et ensuite excrétés pour agir comme signaux. (Lazazzera and Grossman, 1998). Lorsque les auto-inducteurs se lient aux senseurs membranaires (histidine kinases), ces derniers s'autophosphorylent et transmettent le signal en phosphorylant une protéine régulatrice, ce qui constitue un système à deux composants. La protéine régulatrice change de forme, ce qui lui permet de réguler la transcription des gènes cibles. (Hakenbeck and Stock, 1996).

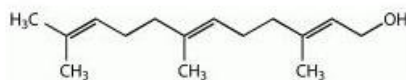
Le *quorum sensing* est un mode de communication utilisé par les bactéries et leurs hôtes eucaryotes, aussi bien dans les relations symbiotiques que pathogènes. (Piper *et al.*, 1993; Joint *et al.*, 2002; Williams *et al.*, 2004; Hughes and Sperandio, 2008). Le *quorum sensing* n'est pas propre aux bactéries, il a également été observé chez les champignons, où il influence des comportements à l'échelle de la population, comme la formation de biofilm et la pathogénèse. Le *quorum sensing* semble être un mécanisme de régulation répandu chez différentes espèces fongiques, et il est particulièrement bien étudié chez *C. albicans* (Hogan, 2006; Kruppa, 2009).

Longtemps considéré comme une exclusivité des biofilms bactériens, le *quorum sensing* a révélé son existence chez *C. albicans* il y a une vingtaine d'années. Deux molécules, le farnésol et le tyrosol, jouent un rôle central. Elles attirent l'attention car elles influencent la morphogénèse et contribuent aux mécanismes de virulence. (Homby *et al.*, 2001 ; Alem *et al.*, 2006).

### **5.1 Le farnésol :**

*C. albicans* produit naturellement un alcool acyclique sesquiterpène appelé farnésol (Fig. 3). Ce dernier agit comme une molécule de *quorum sensing*, s'accumulant dans l'environnement immédiat du champignon à mesure que la densité cellulaire augmente. Le

farnésol régule un large éventail de fonctions physiologiques et de réponses au stress chez *C. albicans*, incluant la résistance aux antibiotiques, la maintenance de la paroi cellulaire, la métabolisation du fer et les réponses aux chocs thermiques (Enjalbert *et al* ,2005 ; Uppuluri *et al* ,2010)

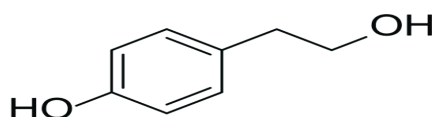


**Figure n°03.** Structure du farnésol, formule  $C_{15}H_{26}O$

Le farnésol freine également la croissance d'autres levures, contribuant ainsi à la compétition au sein du microbiote. Par exemple, une concentration de 100  $\mu M$  de farnésol suffit à déclencher la mort cellulaire programmée (apoptose) chez *Aspergillus nidulans*, un autre champignon pathogène pour l'homme (Semighini *et al* , 2006 ). Le farnésol agit comme un inhibiteur de la transition morphologique levure-hyphe (Hornby *et al.*,2001; Mosel *et al.*, 2005), en plus de la formation de biofilm (Ramage *et al.*, 2002).

## 5.2 Le Tyrosol :

Le tyrosol (Fig. 4), est une molécule de *quorum sensing* chez *C. albicans*. Chez la souche SC5314 de *C. albicans*, le tyrosol a été identifié comme une molécule de *quorum sensing*. Son action s'oppose à celle du farnésol, une autre molécule de *quorum sensing*, en stimulant la transition vers la forme hyphe. De plus, le tyrosol réduit la phase de latence observée lors de la dilution des levures dans un milieu de culture frais. Ce phénomène est possible grâce à la prévention de la diminution de l'expression des gènes impliqués dans la réplication de l'ADN, la ségrégation chromosomique et la régulation du cycle cellulaire.(Chen *et al.*, 2004).



**Figure n°04.** Structure du tyrosol ,formule  $C_8H_{10}O_2$

Le tyrosol joue également un rôle de molécule de *quorum sensing* dans les biofilms. Au cours des premières étapes de développement du biofilm (entre 1 et 6 heures), il stimule la production d'hyphes, un élément crucial pour la formation de la structure tridimensionnelle du biofilm.(Alem *et al.*, 2006). Malgré son rôle clair dans la stimulation des hyphes et le développement du biofilm, la fonction exacte du tyrosol reste un mystère. Un point important est que sa production est significativement plus élevée dans les biofilms que dans les cultures planctoniques, avec une différence d'au moins 50 %. Cela suggère que le tyrosol joue un rôle spécifique et crucial dans l'organisation et la structure des biofilms (Alem *et al.*, 2006)

# MATERIEL ET METHODES

## 1. Matériel

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de biologie au Département des sciences biologiques de l'Université Ahmed Zabana de Relizane. L'objectif de notre travail était d'étudier l'effet d'un surnageant de culture sur la filamentation de *Candida albicans* SC5314.

### 1.1 Matériel biologique :

**Souche de référence :** la souche de collection *Candida albicans* SC5314 a été utilisée pour notre étude.

**1.2 Milieux de culture :** pour la culture des levures, des milieux de culture ont été utilisés : le Sabouraud liquide, le Sabouraud gélose et un milieu de culture qui favorise la filamentation (MFF) (La composition des milieux de culture en annexes) et un sérum sanguin.

**1.3 Equipement et Consommables :** pour mener à bien cette étude, des équipements tels que des réfrigérateurs, centrifugeuse, des microscopes optiques, des autoclaves pour stérilisation, des étuves (37°C, 40°C) et des becs Bunsen ont été mis à notre disposition. En outre, divers consommables ont été nécessaires, notamment l'anse de platine, la cellule de Malassez pour le comptage cellulaire, des boîtes de Pétri, des lames et lamelles, des pipettes Pasteur, des tubes à hémolyse stériles, et des tubes en plastique à fond conique pour centrifugation, des gants et des masques chirurgicaux.

## 2. Méthodes :

### 2.1 Conservation de la souche :

Les levures ont été cultivées à 37°C dans un milieu solide Sabouraud coulé dans des boîtes de Pétri contenant: du glucose 5 g, du peptone 2,5 g, de l'extrait de levure 0,75 g, de agar 5 g, le tout dilué dans de l'eau distillée stérile (volume total : 250 mL).



### 1<sup>er</sup> Repiquage (R1):

Couler environ 20 mL de milieu solide de Sabouraud stérile dans 4 boîtes de Pétri différentes et laisser solidifier. Ensemencer en nappe (**fig 05**) environ 1 mL d'un inoculum de la souche *Candida albicans* puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

### 2<sup>ème</sup> Repiquage (R2):

Inoculer des tubes à essai inclinés de milieu solide de Sabouraud stérile avec quelques colonies de *Candida albicans* prélevées par écouvillonnage à partir de la boîte R1 (Conserver les boîtes R1 au réfrigérateur).

Incuber les tubes inclinés à 37°C pendant 24 à 48 heures puis conserver dans le réfrigérateur.



Figure n°05 : Ensemencement par strie

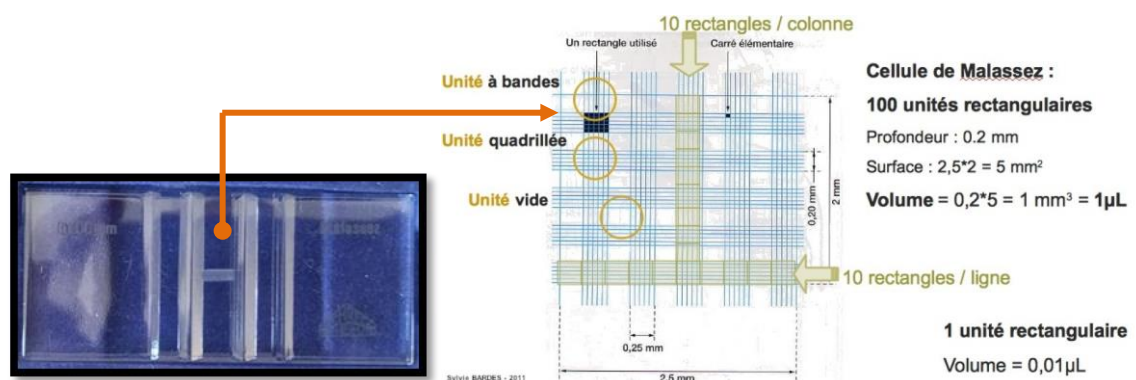
## 2.2 Protocole expérimental

### 2.2.1. Étape 1 : Préparation d'un surnageant de culture :

- Préparer une **suspension de *Candida albicans* SC5314 à  $20 \times 10^6$  blastoconidies par mL** :
- écouvillonner un diamètre d'une boîte R3 (3<sup>ème</sup> repiquage) ensemencée la veille et suspendre les levures dans 10 mL d'eau distillée, faire une dilution 10 fois de cette

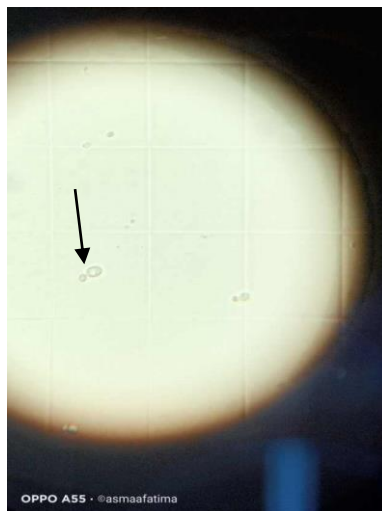
suspension pour réaliser un comptage prélever donc 100 uL de suspension et les mélanger à 900 uL de H<sub>2</sub>O.

- déposer 2 fois 10 uL sur une cellule de Malassez (**fig06**) . Compter les 2 grillages de la cellule et faire la moyenne. Vérifier s'il y a moins de 10 % de différence, sinon recommencer,
- calculer le nombre de blastoconidies par mL de suspension (**fig 07**) :  
(nombre moyen compté x10 000 x facteur de dilution),
- ajuster la suspension de départ à  $20 \times 10^6$  bl/mL dans un tube à centrifuger.



**Figure n°06 : Schéma de la zone de comptage sur une cellule de Malassez**

Nombre de cellules par mL = nombre de cellules comptées X 10 000 (1000/0,1) x facteur de dilution  
(Exemple :  $N = 40 \times 10\,000 \times 100$  ;  $N = 40 \times 10^6$  bl/mL)



**Figure n°07 : Bourgeonnement de *Candida albicans* observé sur une cellule de Malassez au microscope optique (Flèche noire, Gr x40).**

- **Incuber** la suspension cellulaire à  $20 \times 10^6$  blastoconidies/mL H<sub>2</sub>O à 37°C pendant 40 min. Mélanger la suspension avant et après l'incubation. Centrifuger la suspension à 4500 tours par minute pendant 10 minutes. Récupérer le surnageant dans un autre tube.

## 2.2.2 Etape 2 : Préparation des conditions expérimentales :

- Préparer une suspension de *Candida albicans* à des concentrations finales de ( $1 \times 10^6$  bl/mL et  $40 \times 10^6$  bl/mL)
- préparer un tube contrôle et un tube surnageant selon le tableau suivant :

|                                                                                    | Tube contrôle | Tube surnageant |
|------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------------|
| Suspension cellulaire<br>( $1 \times 10^6$ bl/mL ou $40 \times 10^6$ bl/mL finale) | 250           | 250             |
| H <sub>2</sub> O (μL)                                                              | 250           | -               |
| Surnageant (μL)                                                                    | -             | 250             |
| Sérum sanguin                                                                      | 250           | 250             |
| MFF (μL)<br>pH 7, 4 - 7,5                                                          | 1250          | 1250            |
| Volume total (μL)                                                                  | 2000          | 2000            |

**Tableaux n°01** : Préparations des tubes contrôle et surnageant

- un tube contrôle et un tube surnageant sont placés dans un incubateur à 37°C,
- un tube contrôle et un tube surnageant sont placés dans un incubateur à 40°C,
- un comptage des tubes germinatifs (**Fig 8**) a été effectué après chaque heure pendant 3 heures. Le comptage se fait à l'aide de la cellule de Malassez. Après chaque comptage les tubes sont rendus à l'étuve d'incubation.



**Figure n°08** : *Candida albicans* sous forme filament observé sur une cellule de Malassez au microscope optique (Flèche noire, Gr x40)

**2.3. Analyses statistiques** : les tests statistiques (moyenne, SEM, déviation standards, test t de Student apparié et non apparié) ainsi que la mise en graphique des données ont été réalisés par un logiciel statistique. Les valeurs moyennes sont exprimées avec leur SEM.

# RESULTATS

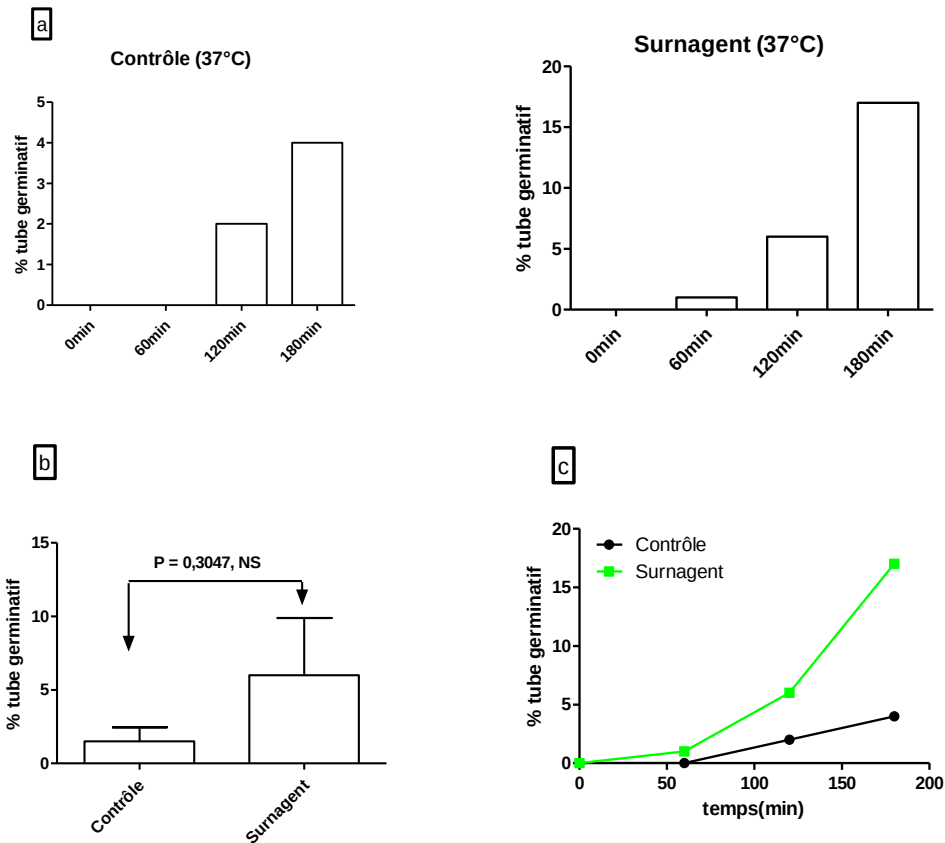
## 1. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation additionné de sérum sanguin (Incubation à 37°C)

- **Suspension cellulaire ajustée à  $20 \times 10^6$  bl/mL**

**La fig 9.** représente la formation de tubes germinatifs dans un milieu de culture MFF , avec un facteur stimulant (sérum sanguin). Durant la première heure d'incubation **Fig.9.(a)**, le pourcentage du tube contrôle est nul, tandis que le pourcentage du tube surnageant augmente de 0% à environ 1%. Pour le tube contrôle, entre 120 et 180 minutes, le nombre de tubes germinatifs a doublé, passant de 2% à 4%. Cela indique une augmentation de la présence de tubes germinatifs durant cette période de 60 minutes. **Pour le tube du surnageant**, une augmentation du nombre de tubes germinatifs entre 60 et 120 minutes a été observée, avec un triplement du nombre. Cette croissance se poursuit entre 120 et 180 minutes, pour atteindre plus de 15 %.

Lorsqu'on compare les valeurs du contrôle ( $1,500 \pm 0,9574$ ) et celles du surnageant ( $6,000 \pm 3,894$ ) à 37°C **Fig.9.(b)** , on observe une augmentation en présence du surnageant mais statistiquement non significative, avec une valeur  $p = 0,3047$  (N= 4, test non apparié de Student, significatif,  $p < 0,05$ ).

La courbe de formation des tubes germinatifs **Fig.9.(c)** montre que le surnagent augmente mais pas significativement le % de tubes germinatifs formés par rapport à son contrôle.



**Figure n° 09 :** a) Graphes illustrant la cinétique de la formation des tubes germinatifs à 37°C dans le milieu MFF additionné de sérum sanguin en absence (contrôle) et en présence du surnageant. b) Graphe de comparaison contrôle vs surnageant. c) Courbe de formation des tubes germinatifs.

## 2. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation additionné de sérum sanguin (Incubation à 40°C)

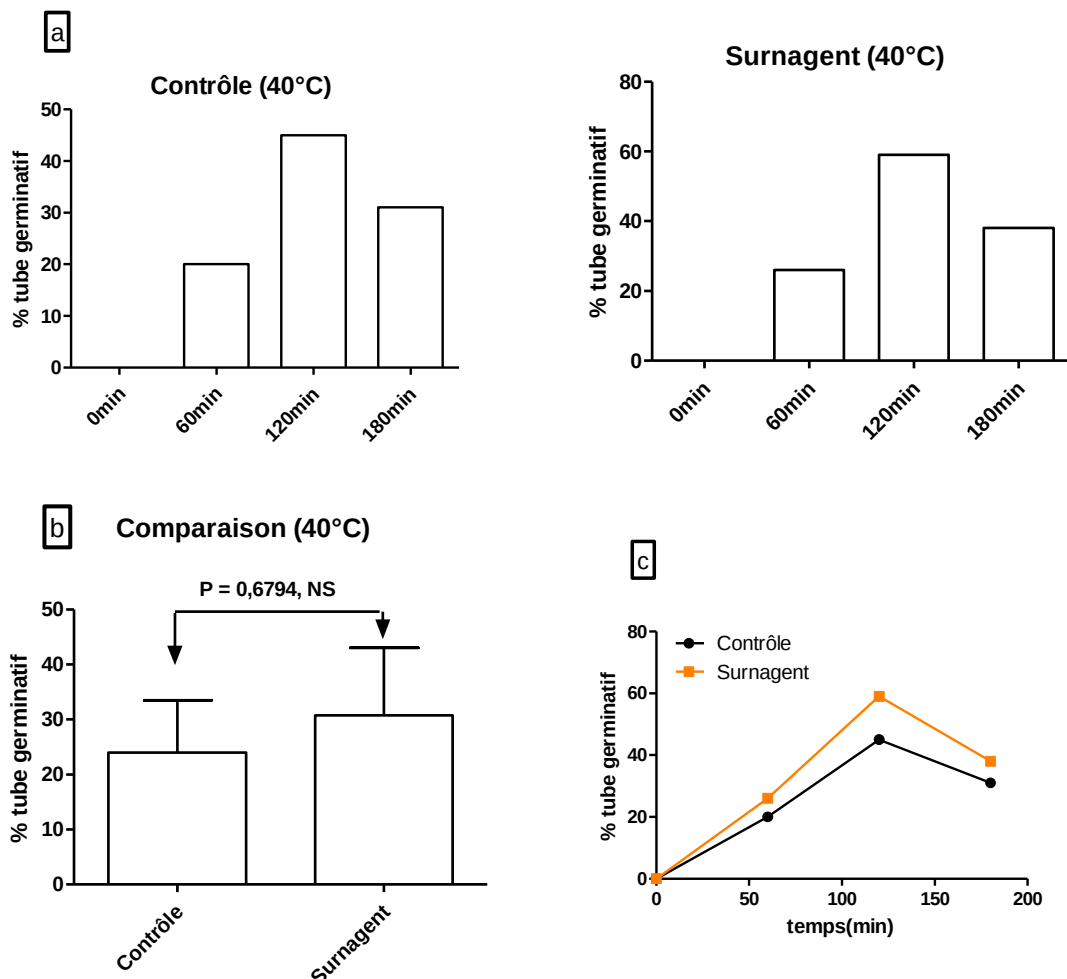
- Suspension cellulaire ajustée à  $20 \times 10^6$  bl/mL

La fig. 10 représente la formation de tubes germinatifs dans un milieu de culture MFF additionné du sérum sanguin et une incubation à 40°C. On peut observer une croissance exponentielle du nombre de tubes germinatifs formés entre 60 et 120 minutes, suivie d'une diminution entre 120 et 180 minutes aussi bien pour le contrôle que pour le surnageant. Durant la première heure d'incubation **Fig.10(a)**, le pourcentage du tube contrôle est d'environ 20%, tandis que le pourcentage du tube surnageant a dépassé les 20%. Pour le tube contrôle, entre 60 et 120 minutes, le nombre de tubes germinatifs a doublé, passant de 20% à

45%. Pour le tube du surnageant, une augmentation du nombre de tubes germinatifs entre 60 et 120 minutes a plus que doublé, passant de 26% à 59%.

La comparaison des valeurs du contrôle ( $24,00 \pm 9,496$ ) et celles du surnageant ( $30,75 \pm 12,31$ ) à 40°C **Fig.10.(b)**, on observe une augmentation en présence du surnageant mais statistiquement non significative, avec une valeur  $p = 0,6794$  ( $N= 4$ , test non apparié de Student, significatif,  $p < 0,05$ ).

La courbe de formation des tubes germinatifs **Fig.10.(c)** montre que le surnageant augmente mais pas significativement le % de tubes germinatifs formés par rapport à son contrôle. La diminution de la formation des tubes germinatifs après 120 minutes d'incubation à 40°C doit-être vérifiée par des essais supplémentaires.



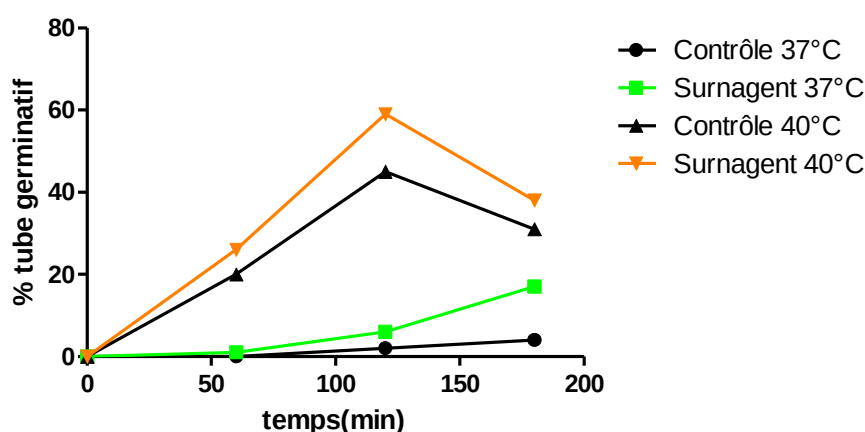


**Figure n° 10 :** a) Graphes illustrant la cinétique de la formation des tubes germinatifs à 40°C dans le milieu MFF additionné de sérum sanguin en absence (contrôle) et en présence du surnageant. b) Graphe de comparaison contrôle vs surnageant. c) Courbe de formation des tubes germinatifs.

### 3. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation additionné de sérum sanguin (Incubation à 37°C versus 40°C)

- Suspension cellulaire ajustée à  $20 \times 10^6$  bl/mL)

La courbe de formation des tubes germinatifs (**Fig.11**) montre que à 37°C et à 40°C le surnageant augmente mais pas significativement le pourcentage de tubes germinatifs formés par rapport aux contrôles respectifs. Toutefois, le pourcentage des tubes germinatifs formés est nettement plus important suite à une incubation à 40°C qu'à une incubation à 37°C aussi bien pour les contrôles que pour les tubes surnageants.



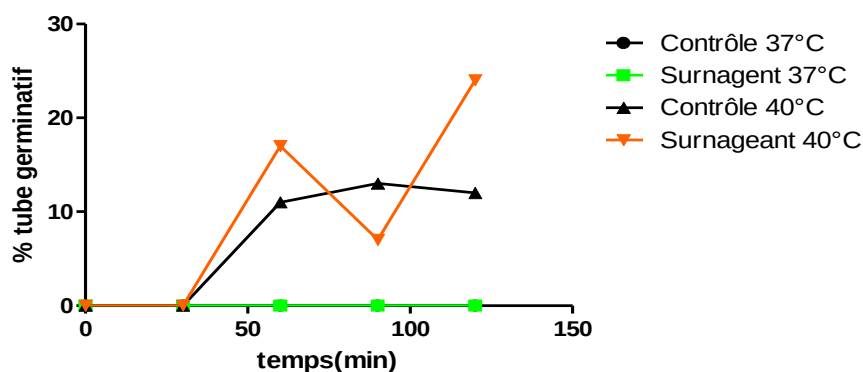
**Figure n° 11 :** Courbe de formation des tubes germinatifs (37°C versus 40°C) dans le milieu MFF additionné de sérum sanguin.

### 4. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation seul (Incubation à 37°C versus 40°C)

- Suspension cellulaire ajustée à  $20 \times 10^6$  bl/mL)

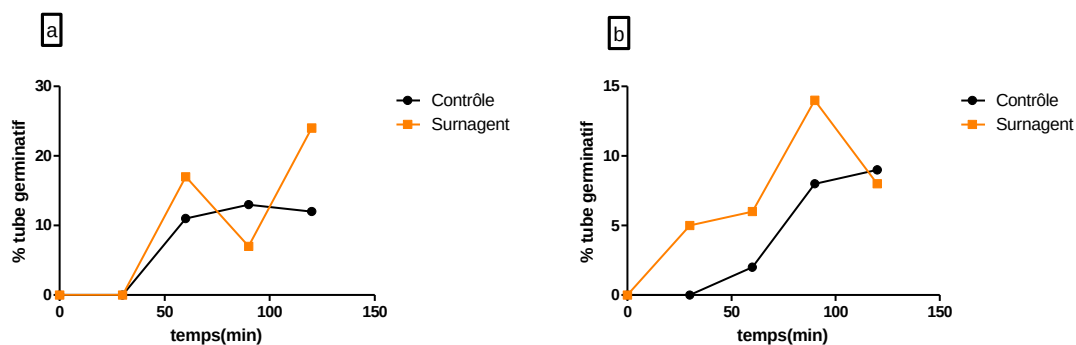
La courbe de formation des tubes germinatifs (**Fig.12**) dans le milieu qui favorise la filamentation seul sans addition du sérum sanguin montre que à 37°C la formation des tubes germinatifs est nulle aussi bien pour le contrôle que pour le surnageant. À 40°C le surnageant

augmente mais pas significativement le pourcentage de tubes germinatifs formés par rapport au contrôle. Toutefois, le pourcentage des tubes germinatifs formés est nettement plus important à 40°C qu'à 37°C aussi bien pour les contrôles que pour les tubes surnageants.



**Figure n° 12 :** Courbe de formation des tubes germinatifs (37°C versus 40°C) dans le milieu MFF seul

### 5. Comptage des tubes germinatifs formés dans un milieu qui favorise la filamentation seul après incubation à 40°C (Suspension cellulaire à $20 \times 10^6$ bl/mL versus $1 \times 10^6$ bl/mL)



**Figure n° 13 :** Courbe de formation des tubes germinatifs à 40°C dans le milieu MFF seul pour deux concentrations cellulaires différentes. a)  $20 \times 10^6$  bl/mL et b)  $1 \times 10^6$  bl/mL

La courbe de formation des tubes germinatifs à 40°C dans le milieu qui favorise la filamentation seul sans addition du sérum sanguin (**Fig.13**) montre que la concentration cellulaire peut influencer la formation des tubes germinatifs. Le nombre de tubes germinatifs formés lorsque la suspension cellulaire est ajustée à  $20 \times 10^6$  bl/mL est plus important que

lorsque la suspension cellulaire est ajustée à  $1 \times 10^6$  bl/mL. Ceci a été observé aussi bien chez les tubes contrôles que chez les tubes surnageants. Par exemple, après 1 heure d'incubation, à une concentration cellulaire de  $20 \times 10^6$  bl/mL (**Fig. 13 a**), dans le tube contrôle : le pourcentage des tubes germinatifs formés est égal à 11% contre 2% à  $1 \times 10^6$  bl/mL (**Fig. 13 b**). Dans le tube surnageant : le pourcentage des tubes germinatifs formés est égal à 17% (**Fig. 13 a**) contre 6% (**Fig. 13 b**).

## DISCUSSION ET CONCLUSION

## Discussion :

Nos résultats indiquent que la formation de tube germinatif par *Candida albicans* est favorisée à une température de 40°C par rapport à 37°C. Ce phénomène est cohérent avec les données qui démontrent que la virulence de *Candida albicans* est augmentée à des températures élevées (Sudarshan *et al* 2009). En effet, des études ont montré que l'exposition à des températures subfébriles (autour de 40°C) induit une série de changements morphologiques et physiologiques chez *Candida albicans*, la rendant plus apte à envahir les tissus et à résister aux défenses immunitaires de l'hôte.

Il est intéressant de noter que la formation de tubes germinatifs de *Candida albicans* est plus importante dans le surnageant que dans le contrôle. Cela suggère que les composants présents dans le surnageant peuvent jouer un rôle dans la promotion de la germination. La présence de molécules de *quorum sensing*, telles que le farnesol et le tyrosol, dans le surnageant pourrait expliquer l'augmentation de la formation du tube germinatif. Ces molécules sont connues pour réguler divers processus chez *Candida albicans*, y compris la morphologie cellulaire et la virulence.

La présence plus importante de tubes germinatifs dans le surnageant et leur faible présence dans le contrôle suggèrent que le Tyrosol joue un rôle important dans la promotion de leur formation. Ces résultats confirment des recherches antérieures ayant montré que le Tyrosol a des effets positifs sur la formation des tubes germinatifs durant les premières heures d'incubation (Chen *et al* 2004).

Cependant, il est important de noter que le Farnesol peut être présent dans le surnageant. Le Farnésol est un composé connu pour sa capacité à inhiber la formation des tubes germinatifs sans inhiber les tubes pré-existants (Hornby, J *et al* 2001 ; Mosel *et al.*, 2005).

D'après nos résultats, la concentration cellulaire initiale influence la filamentation chez *Candida albicans*. En effet, une population plus importante de cellules sécrète d'avantage de QSM induisant des changements phénotypiques tels que des changements morphologiques

Des investigations supplémentaires qui permettent d'isoler, de purifier et de doser ces molécules par un HPLC sont nécessaires pour vérifier si cet effet sur la filamentation est dû aux QSM.

## **Conclusion :**

*Candida albicans* est un champignon ubiquitaire qui peut causer des infections opportunistes chez l'homme. Sa capacité à former un tube germinatif est essentielle pour sa virulence. La formation du tube germinatif est déclenchée par des signaux environnementaux, notamment la présence de sérum humain ou de sucres, et est médiée par des molécules de *quorum sensing* comme le Farnesol et le Tyrosol.

Le tyrosol active une cascade de signalisation intracellulaire qui entraîne des changements morphologiques et physiologiques dans les cellules fongiques, conduisant à la formation du tube germinatif. Ce processus est crucial pour la capacité de *Candida albicans* à envahir les tissus et à causer des infections.

La compréhension des mécanismes de la formation du tube germinatif offre des perspectives prometteuses pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques contre les infections à *Candida albicans*. L'inhibition de la formation du tube germinatif pourrait constituer une approche efficace pour limiter la virulence du champignon et prévenir l'invasion des tissus.

Des recherches approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires régulant la formation du tube germinatif. Ces recherches pourraient identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pour le développement d'agents antifongiques plus efficaces et moins toxiques.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

### A

**Alem, M. A.**, Oteef, M. D., Flowers, T. H., and Douglas, L. J. (2006). Production of tyrosol by *Candida albicans* biofilms and its role in *quorum sensing* and biofilm development Eukaryotic cell, 5(10), 1770-1779.

### B

**Barelle, C. J.**, Richard, M. L., Gaillardin, C., Gow, N. A., and Brown, A. J. (2006). *Candida albicans* VAC8 is required for vacuolar inheritance and normal hyphal branching. *Eukaryotic Cell*, 5(3), 359-367.

**Buffo, J.**, Herman, M. A., and Soll, D. R. (1984). Caractérisation du dimorphisme régulé par le pH chez *Candida albicans*. *Mycopathologia*, 85, 21-30.

**Butler, G.**, Rasmussen, M. D., Lin, M. F., Santos, M. A. S., Sakthikumar, S., Munro, C. A., Rheinbay, E., Grabherr, M., Forche, A., Reedy, J. L., ... and White, J. K. (2009). Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. *Nature*, 459, 657-662.

### C

**Calderone, R. A.** (1993). Interactions moléculaires à l'interface de *Candida albicans* et des cellules hôtes. *Arch Med Res*, 24, 275-279.

**Calderone, R. A.**, and Fonzi, W. A. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, 9( 327-335).

**Carlino, P.**, and Budtz-Jørgensen, E. (1991). *Denture stomatitis*. *Schweizerische Monatsschrift für Zahnmedizin*, 101(2), 217-223.

**Cernéa, P.**, Crépy, C., Rouchon, C., Kuffer, R., & Badillet, G. (1967). Un cas de géotrichose aiguë de la muqueuse buccale. *Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale*, 68(277-284).

**Chaffin, W. L.**, Lopez-Ribot, J. L., Casanova, M., Gozalbo, D., and Martinez, J. P. (1998). Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(1), 130-180.

**Chen, H.**, Fujita, M., Feng, Q., Clardy, J., and Fink, G. R. (2004). Tyrosol is a *quorum sensing* molecule in *Candida albicans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(17), 5048-5052.

**Chu, W. S.**, Magee, B. B., and Magee, P. T. (1993). Construction of an SfiI macrorestriction map of the *Candida albicans* genome. *Journal of Bacteriology*, 175, 6637-6651.

## D

**Dixon, E. F.**, and Hall, R. A. (2015). Noisy neighbourhoods: *quorum sensing* in fungalpolymicrobial infections. *Cellular Microbiology*, 17(10), 1431-1441

## E

**Enjalbert, B.**, and Whiteway, M. (2005). Release from *quorum sensing* molecules triggers hyphal formation during *Candida albicans* resumption of growth. *Eukaryotic cell*, 4(7), 1203-1210.

**Euzeby, J.** (1994). Mycologie médicale comparée. Collection Mérieux., Fondation manuel, Tome II, 88-251.

## F

**Ferrer, J.** (2000). Vaginal candidosis: Epidemiological and etiological factors. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 71, 21-27. [CrossRef]

**Filloux, A.**, and Vallet, I. (2003). Biofilm: mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Médecine / Sciences*, 19(2), 77-83.

**Firon, A.**, Lesage, G., and Bussey, H. (2004). Les études intégratives placent la synthèse de la paroi cellulaire sur la carte fonctionnelle de la levure. *Current Opinion in Microbiology*, 7(6), 617-623.



**Filler, S. G.,** Swerdloff, J. N., Hobbs, C., and Luckett, P. M. (1995). Penetration and damage of endothelial cells by *Candida albicans*. *Infection and Immunity*, 63(9), 976-983.

**Fu, Y.,** Ibrahim, A. S., Fonzi, W., Zhou, X., Ramos, C. F., and Ghannoum, M. A. (1997). Clonage et caractérisation d'un gène (LIP1) codant pour une lipase de la levure pathogène *Candida albicans*. *Microbiology*, 143, 331-340.

**Fuqua, C.,** Parsek, M. R., and Greenberg, E. P. (2001). Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone *quorum sensing*. *Annual Review of Genetics*, 35, 439-468.

## G

**Ghannoum, M. A.** (2000). Rôle potentiel des phospholipases dans la virulence et la pathogénèse fongique. *Clin Microbiol Rev*, 13, 122-143.

**Ghannoum, M. A.,** and Rosenberg, M. (1999). Experimental gingivitis in man. *Journal of Periodontology*, 70(5-6), 621-625.

**Gow, N. A.** (2002). *Candida albicans* switches mates. *Molecular Cell*, 10, 217-218.

**Graser, Y.,** Volovsek, M., Arrington, J., Schonian, G., Presber, W., Mitchell, T. G., and Vilgalys, R. (1996). Molecular markers reveal that population structure of the human pathogen *Candida albicans* exhibits both clonality and recombination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 12473-12477.

## H

**Hakenbeck, R.,** and Stock, J. B. (1996). Analysis of two-component signal transduction systems involved in transcriptional regulation. *Methods in Enzymology*, 273, 281-300.

**Hogan, D. A.** (2006). Talking to themselves: autoregulation and *quorum sensing* in fungi. *Eukaryotic Cell*, 5, 613-619.

**Hoyer, L.**, Hecht, M., and Frommer, W. (2001). Ultrastructural localization of anionic sites on the surface of yeast, hyphal and germ-tube forming cells of *Candida albicans*. *European Journal of Cell Biology*, 46, 444-452.

**Hornby, J. M.**, Jensen, E. C., Lisec, A. D., Tasto, J. J., Jahnke, B., Shoemaker, R., Dussault, P., and Nickerson, K. W. (2001). Environmental factors influencing the survival of Enterococci in the South Platte River watershed. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 2982-2992.

**Hornby, J. M.**, Jensen, E. C., Lisec, A. D., Tasto, J. J., Jahnke, B., Shoemaker, R., Dussault, P., and Nickerson, K. W. (2001). Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7), 2982-2992.

**Hughes, D. T.**, and Sperandio, V. (2008). Inter-kingdom signalling: communication between bacteria and their hosts. *Nature Reviews Microbiology*, 6, 111-120

## I

**Ibata-Ombetta, S.**, Idziorek, T., Trinel, P. A., Poulain, D., and Jouault, T. (2003). *Candida albicans* phospholipomannan promotes survival of phagocytosed yeasts through modulation of bad phosphorylation and macrophage apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 13086-13093.

## J

**Joint, I.**, Tait, K., Callow, M. E., Callow, J. A., Milton, D., Williams, P., and Camara, M. (2002). Cell-to-cell communication across the prokaryote-eukaryote boundary. *Science (New York, NY)*, 298, 1207-1211.

**Johnson, M.** (2003). Le *Candida albicans* : un signal d'alarme. *Santé action*, 1992.

## K

**Kimura, L. H.**, and Pearsall, N. N. (1980). Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells. *Infection and Immunity*, 28, 464-468.

**Kimura, L. H.,** Pearsall, N. N. (1973). Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. *Infection and Immunity*, 21, 64-68.

**Klis, F. M.,** Mol, P., Hellingwerf, K., and Brul, S. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 239-256.

**Koenigh, B.** (1995). The cell wall architecture of *Candida albicans* wild-type cells and cell wall-defective mutants. *Molecular Microbiology*, 15, 601-611.

**Kolnick, J. R.** (1980). Candidose buccale. Rapport d'un cas impliquant *Candida parapsilosis* comme agent pathogène. *Oral Surg.*, 50, 411-415.

**Kornitzer, D.** (2019). Régulation de la morphogenèse hyphale de *Candida albicans* par les signaux endogènes. *Journal of Fungi*, 5, 21.

**Kruppa, M.** (2009). Quorum sensing and *Candida albicans*. *Mycoses*, 52(1), 1-10.

**Kuffer, R.,** and Badillet, G. (1981). Mycoses bucco-faciales. *Encyci Med Chir Paris, Stomatologie*, 22o62B1

## L

**Lazazzera, B. A.,** and Grossman, A. D. (1998). The ins and outs of peptide signaling. *Trends in Microbiology*, 6, 288-294.

## M

**Manning, M., and Mitchell, T. G.** (1980). Morphogenesis of *Candida albicans* and cytoplasmic proteins associated with differences in morphology, strain, or temperature. *Journal of Bacteriology*, 144, 258-273.

**McManus, B. A.,** and Coleman, D. C. (2014). Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 166-178. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.00>

**Miller, M. B.,** and Bassler, B. L. (2001). *Quorum sensing* in bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 55, 165-199.

**Miller, A. D., and Johnson, B. E.** (2002). A study of the elimination of chlorhexidine from the oral cavity using a new spectrophotometric method. *Journal of periodontal research*, 37, 231-235.

**Molero, G.,** Diez-Orejas, R., Navarro-García, F., Monteoliva, L., Pla, J., Gil, C., Sánchez-Pérez, M., and Nombela, C. (1998). *Candida albicans*: Genetics, dimorphism and pathogenicity. *International Microbiology*, 1, 95-106. [PubMed]

**Molano, J.,** Bowers, B., and Cabib, E. (1980). Distribution of chitin in the yeast cell wall. An ultrastructural and chemical study. *Journal of Cell Biology*, 85, 199-212.

**Monod, M.,** and Borg-von Zepelin, M. (2002). Protéinases sécrétées et autres mécanismes de virulence de *Candida albicans*. *Chem Immunol*, 81, 114-128.

**Mosel, D. D.,** Dumitru, R., Hornby, J. M., Atkin, A. L., and Nickerson, K. W. (2005). Farnesol concentrations required to block germ tube formation in *Candida albicans* in the presence and absence of serum. *Applied and environmental microbiology*, 71, 4938-4940.

## N

**Naranjo-Ortiz, M. A.,** and Gabaldón, T. (2019). Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews*, 94, 2101—2137.

**Naris, B.** (2003). *World of Microbiology and Immunology*. Gale Publishing: Detroit, MI, USA

**Nealson, K. H.,** Platt, T., and Hastings, J. W. (1970). Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *Journal of Bacteriology*, 104, 313-322.

**Noverr, M. C.,** and Huffnagle, G. B. (2004). Regulation of *Candida albicans* morphogenesis by fatty acid metabolites. *Infection and immunity*, 72, 6206-6210.

## O

**Odds, F. C.** (1985). Morphogenesis in *Candida albicans*. *Critical Reviews in Microbiology*, 12, 45-93.

**Odds, F. C.** (1979). *Candida* and candidosis. Leicester University Press, London.

**Odds, J. C.** (1988). *Candida* and candidosis.

## P

**Piper, K. R.,** Beck von Bodman, S., and Farrand, S. K. (1993). Conjugation factor of *Agrobacterium tumefaciens* regulates Ti plasmid transfer by autoinduction. *Nature*, 362, 448-450

## R

**Ramage, G.,** Saville, S. P., Wickes, B. L., and Lopez-Ribot, J. L. (2002a). Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Applied and environmental microbiology*, 68, 5459-5463.

**Reading, N. C.,** and Sperandio, V. (2006). Quorum sensing: the many languages of bacteria. *FEMS microbiology letters*, 254(1), 1-11.

**Rotstein, D.,** Parodo, J., Taneja, R., and Marshall, J. C. (2000). Phagocytose de *Candida albicans* induit l'apoptose des neutrophiles humains. *Shock*, 14, 278-283.

**Ruiz-Herrera, A.** (2006). Über den Soorpilz. *Physikalisch-Medicinische Societät zu Erlangen*, 9, 190-193.

**Ruiz-Herrera, J.,** Elorza, M. V., Valentin, E., and Sentandreu, R. (2006). Organisation moléculaire de la paroi cellulaire de *Candida albicans* et sa relation avec la pathogénicité. *FEMS Yeast Research*, 6, 14-29.

## S

**Samson, J.** (1990). Candidoses buccales: Épidémiologie, Diagnostic et traitement. *Revue Mensuelle Suisse d'Odonto-Stomatologie*, 100, 548-555.

**Sarazin, A.** (2010). Les glycannes pariétaux de levures et leur implication dans l'induction et la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte. Thèse de doctorat, Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie, Université Lille 2, 181p

**Schaller, M.,** Borelli, C., Korting, H. C., and Hube, B. (2005). Les enzymes hydrolytiques comme facteurs de virulence de *Candida albicans*. *Mycoses*, 48, 365-377.

**Segal, E.** (2005). *Candida*, still number one--what do we know and where are we going from there? *Mycoses*, 48 Suppl 1, 3-11.

**Semighini, C. P.,** Hornby, J. M., Dumitru, R., Nickerson, K. W., and Harris, S. D. (2006). Farnesol-induced apoptosis in *Aspergillus nidulans* reveals a possible mechanism for antagonistic interactions between fungi. *Molecular Microbiology*, 59, 753-764.

**Sobel, J. D.,** Myers, P. G., and Levison, M. E. (1981). Adherence of *Candida albicans* to human vaginal and buccal epithelial cells. *Journal of Infectious Diseases*, 143, 76-83.

**Staebell, M.,** and Soll, D. R. (1985). Temporal and spatial differences in cell wall expansion during bud and mycelium formation in *Candida albicans*. *Journal of General Microbiology*, 131, 1467-1480.

**Sudbery, P. E. (2001).** The germ tubes of *Candida albicans* hyphae and pseudohyphae show different patterns of septin ring localization. *Molecular Microbiology*, 41, 19-31.

**Sudbery, P.,** Gow, N., and Berman, J. (2004). Les différents états morphogéniques de *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, 12, 317-324.

**Sudhir, S. K.,** Chandrasekaran, N., and al. (2009). Fungal genetics and biology. *Fungal Genetics and Biology*, 46, 96-103.

**Sullivan, P.,** and Robert, J. P. (2000). Changes in sensitivity of salivary flora after two years of oral use of chlorhexidine in man. *Journal of Periodontal Research*, 35, 112-116.

**Surarit, R.,** (2001). Oral candidiasis: epidemiology, diagnosis and treatment. *Schweizer Monatsschrift fur Zahnmedizin = Revue mensuelle suisse d'odonto-stomatologie = Rivista mensile svizzera di odontologia e stomatologia / SSO*, 100, 548-559.

## **T**

**Tronchin, G.,** Poulain, D., Herbaut, J., and Biguet, J. (1981). Localisation de la chitine dans la paroi cellulaire de *Candida albicans* au moyen de l'agglutinine de germe de blé. Études en fluorescence et en ultrastructure. *Eur J Cell Biol*, 26, 121-128.

## U

**Uppuluri, P.**, Pierce, C. G., Thomas, D. P., Bubeck, S. S., Saville, S. P., and Lopez-Ribot, J. L. (2010). The transcriptional regulator *nrg1p* controls *Candida albicans* biofilm formation and dispersion. *Eukaryotic Cell*, 9(10), 1531-1537.

## V

**Vudhichamnong, K.**, Walker, D. M., and Ryley, H. C. (1982). The effect of secretory immunoglobulin A on the in vitro adherence of the yeast *Candida albicans* to human oral epithelial cells. *Archives of Oral Biology*, 27, 617-621.

## W

**Williams, S. C.**, Patterson, E. K., Carty, N. L., Griswold, J. A., Hamood, A. N., and Rumbaugh, K. P. (2004). *Pseudomonas aeruginosa* autoinducer enters and functions in mammalian cells. *Journal of Bacteriology*, 186, 2281-2287.



## Annexes

### Composition des milieux de culture

#### Milieu Sabouraud liquide :

|                         |       |
|-------------------------|-------|
| Glucose .....           | 5g    |
| Peptone .....           | 2.5g  |
| Extrait de levure ..... | 0.75g |
| Eau distillée .....     | 250mL |

#### Milieu Sabouraud Solide :

|                         |       |
|-------------------------|-------|
| Glucose .....           | 5g    |
| Peptone .....           | 2.5g  |
| Extrait de levure ..... | 0.75g |
| Agar .....              | 5g    |
| Eau distillée .....     | 250mL |

#### Milieu de culture favorisant la filamentation (MFF) :

|                      |       |
|----------------------|-------|
| Glucose .....        | 0.8g  |
| Peptone .....        | 4g    |
| Eau distillée .....  | 200mL |
| pH (FINAL) = 7,4-7,5 |       |