

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département De Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

Djaber Selma

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie

Thème

Le rôle des enzymes lytiques dans la physiopathologie des candidoses

Soutenu le 04/07/2021, devant le jury composé de :

Président	Mr Rahmoun Mohammed Nadjib	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	Mme Sari-Belkherroubi Lamia	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	Mme Benmansour Meriem	Maître de conférences B	Université de Tlemcen

Année universitaire 2020/2021

ملخص : دور الإنزيمات المحللة في الفيزيولوجيا المرضية لداء المبيضات.

داء المبيضات هو أكثر الأمراض الفطرية شيوعًا عند الإنسان وتسببه أنواع مختلفة من الخميرة مثل الفطريات التي تنتمي إلى جنس *Candida*. أكثر الأنواع شيوعًا هي *Candida albicans*. يرتبط تطور داء المبيضات بالعديد من عوامل الضراوة بما في ذلك إنتاج الإنزيمات المحللة للماء. تسهل هذه الإنزيمات المتحللة للماء خارج الخلية الخصائص المتعايشة والممرضة مثل الارتباط بالأنسجة المضيفة وتسبب اضطرابًا في غشاء الخلية المضيفة. الإنزيمات الرئيسية التي تنتجها المبيضات هي SAPs (يفرز بروتياز الأسبارتيل) ، Phospholipase ، l'hémolysine و l'estérase. الهدف من هذا العمل هو مراجعة دور إنزيمات التحلل المائي في تطور داء المبيضات ودراسة بعض العوامل التي يمكن أن تؤثر على نشاط هذه الإنزيمات.

الكلمات المفتاحية : داء المبيضات ، *Candida spp* ، عامل الضراوة ، Phospholipase ، Protéase ، hémolysine ، Esterase.

Résumé : Le rôle des enzymes lytiques dans la physiopathologie des candidoses.

La candidose est la maladie fongique la plus courante chez l'homme causée par diverses espèces de levure comme les champignons appartenant au genre *Candida*. L'espèce la plus courante est *Candida albicans*. Le développement de ces candidoses est lié à plusieurs facteurs de virulence dont la production des enzymes hydrolytiques. Ces enzymes hydrolytiques extracellulaires facilitent les caractéristiques commensales et pathogènes telles que l'attachement au tissu hôte et provoquent la rupture de la membrane cellulaire de l'hôte. Les principales enzymes produites par les *Candida* sont la SAPs (aspartyl protéase sécrétée), la phospholipase, l'hémolysine et l'estérase. L'objectif de ce travail est une revue bibliographique sur le rôle des enzymes hydrolytiques dans le développement des candidoses et les effets qui peuvent influencer l'activité de ces enzymes.

Mots clés : *Candida spp*, les Candidoses, facteur de virulence, phospholipase, protéase, estérase, hémolysine.

Summary: The role of lytic enzymes in the pathophysiology of candidiasis.

Candidiasis is the most common fungal disease in humans caused by various species of yeast such as fungi belonging to the genus *Candida*. The most common species is *Candida albicans*. The development of this candidiasis is linked to several virulence factors including the production of hydrolytic enzymes. These extracellular hydrolytic enzymes facilitate commensal and pathogenic characteristics such as attachment to host tissue and cause disruption of the host cell membrane. The main enzymes produced by *Candida* are SAPs (secreted aspartyl protease), phospholipase, hemolysin and esterase. The objective of this work is to review the literature on the role of hydrolytic enzymes in the development of candidiasis and the effects that can influence the activity of these enzymes.

Keywords : *Candida spp*, Candidiasis, virulence factor, phospholipase, protease, esterase, hemolysin.

Remerciements

Avant tout, je remercie ALLAH tout puissant qui m'a donné patience et m'a aidé pour la réalisation de ce mémoire.

*Je tiens à remercier en tout premier lieu **Mme Sari Belkherroubi Lamia**, Professeur à la faculté de des sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen pour son aide, ses conseils et son soutien tout au long de la réalisation de ce travail.*

*J'exprime mes remerciements à **Mr Rahmoun Mohamed Nadjib**, Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen, d'avoir accepté de présider le jury de master.*

*J'adresse mes sincères gratitude à **Mme Benmansour Meriem**, Maître de conférences B au département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'examiner et juger le contenu de ce mémoire.*

Dédicace

C'est avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie mon travail

A mon très cher père

J'ai vécu dans l'admiration de ta grande personnalité et de ta bonté

Tu es pour moi l'exemple de la réussite.

Puisse ce travail symbolise les fruits de tes longues années de sacrifices consenties pour mes études et mon éducation.

Puisse Dieu, le tout puissant, te protège et t'accorde meilleure santé et longue vie afin que puisse te rendre un minimum de ce que je te dois et faire en sorte que jamais je ne déçoive.

A ma très chère mère

Je ne trouve pas les mots pour traduire tout ce que je ressens envers une mère exceptionnelle.

Ta noblesse et ta bonté sont sans limites.

Que ce travail soit un hommage aux énormes sacrifices que tu t'es imposées afin d'assurer mon bien être, et que dieu tout puissant, préserve ton sourire et t'assure une bonne santé et une longue vie afin que je puisse te combler à mon amour

A mes frères Zaki et Mohamed

A la mémoire de mon frère Khaled

A mes meilleures amies Yousra, Amina, Imene qui ont toujours été là pour moi

A toute la famille Djaber et Mahdad.

A toute la promotion du Master Biochimie 2020/2021.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	2
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1. Les candidoses.....	5
2. Structure cellulaire de la levure <i>Candida</i>	8
3. Principales espèces de <i>Candida</i> d'intérêt médical.....	10
4. Physiopathologie et facteurs de virulence	12
4.1. Production d'adhésines	12
4.2. La thigmotropisme	13
4.3. Le polymorphisme	13
4.4. La formation de biofilm	13
4.5. La sécrétion d'enzymes hydrolytiques.....	14
5. La production d'enzymes lytique par la levure <i>Candida</i>	15
5.1. Les phospholipases	15
5.2. Les protéinases	16
5.3. Les estérases.....	17
5.4. Les lipases	18
5.5. Les hémolysines	19
6. Les paramètres qui peuvent influencer la production d'enzymes lytiques.....	20
LES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX POUR EVALUER L'ACTIVITE ENZYMATIQUE..	23
1. Recherche de la production de phospholipases	23
2. Recherche de la production de protéases	23
3. Recherche de la production d'estérases	23
4. Recherche de la production d'hémolysine.....	23
CONCLUSION GENERALE.....	26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	28

LISTE DES FIGURES

Figure N° 1 : Cibles des différentes classes d'antifongiques systémiques	7
Figure N° 2 : Schéma d'une cellule de levure	8
Figure N° 3 : Organisation cellulaire de la paroi	8
Figure N° 4 : Caractéristique macroscopiques et microscopiques des principales espèces de <i>Candida</i>	11
Figure N° 5 : les différentes étapes de la formation d'un biofilm par <i>Candida albicans</i>	14
Figure N° 6 : Réaction d'hydrolyse enzymatique de la phospholipase C au niveau de la première liaison phosphodiester	15
Figure N° 7 : Mécanisme d'action du clivage peptidique par la protéase aspartique	16
Figure N° 8 : Structure d'estérase carboxyle	18
Figure N° 9 : Activité catalytique des lipases	18

INTRODUCTION

Au cours des dernières décennies, les infections fongiques causées par les levures du genre *Candida* sont devenues un problème de santé majeur, entraînant une mortalité et des coûts médicaux élevés pour les gouvernements et les patients hospitalisés [(Nami et coll., 2018) ; (Sakagami et coll., 2019)].

Les candidoses sont les infections fongiques opportunistes les plus courantes. Ces infections sont associées à diverses manifestations cliniques allant des infections superficielles aux infections disséminées (Kullberg et Arendrup, 2015).

De nombreux facteurs contribuent à l'augmentation des infections fongiques tels que les procédures médicales invasives, les pose cathéters, la nutrition parentérale totale, la ventilation mécanique ainsi que l'utilisation d'antibiotiques à large spectre pendant de longues périodes (Ha et coll., 2011).

La physiopathologie de la candidose implique la transformation de la levure *Candida* d'un état saprophyte symbiotique vers un état de pathogène virulent. Cette transition est en rapport avec l'expression de programmes de virulence favorisée par des modifications environnementales et entretenue par le développement d'une réponse immunitaire inappropriée, voire facilitatrice de l'hôte (Poissy et coll., 2015).

La capacité de l'espèce *Candida* à infecter plusieurs niches d'hôtes est étayée par un large éventail de facteurs de virulence dont la capacité de transition morphologique entre les formes levure et hyphes, l'expression d'adhésines à la surface cellulaire, la formation de biofilms, les échanges phénotypiques et la sécrétion d'enzymes hydrolytiques [(Nicholls et coll., 2011) ;(Pammi et coll., 2013)].

Ces enzymes hydrolytiques sont des hydrolases lipolytiques qui auraient pour fonction de faciliter les caractéristiques commensales et pathogènes telles que l'attachement aux tissus de l'hôte et la rupture de la membrane de la cellule hôte (Sanita et coll., 2014). Les phospholipases, les aspartyl protéinases, les lipases et les hémolysines sont les hydrolases sécrétées les plus couramment par *Candida spp* (Ghannoum, 2000).

Plusieurs travaux réalisés au sein du laboratoire antibiotiques antifongiques ; physicochimie, synthèse et activité biologique [(Boucherit et coll., 2011), (Seddiki et coll., 2013), (Seghir et coll., 2017)] ont montré l'émergence de plusieurs espèces de *Candida spp* dans les centres hospitaliers de l'ouest Algérien. Par ailleurs, une étude en cours menée par l'équipe du Pr Sari-Belkherroubi a confirmé la présence de ces *Candida non albicans* au centre hospitalo-universitaire de Tlemcen, et que les souches isolées sont productrices d'enzymes lytiques

(résultats en cours de publication). C'est pourquoi nous avons entrepris cette revue bibliographique sur le rôle des enzymes lytiques dans la physiopathologie des candidoses.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Les candidoses sont des mycoses cosmopolites provoquées par des champignons levuriformes commensaux appartenant au genre *Candida*. L'espèce la plus courante est *Candida albicans*, un constituant normal de l'intestin humain, de la cavité buccale et de la microflore vaginale (Essendoubi, 2007).

Les candidoses sont les infections fongiques opportunistes les plus courantes, cela est dû à l'ubiquité de ces organismes et du nombre croissant de patients présentant des facteurs de risque [(Lan et coll., 2017) ; (Shiranie et coll., 2017)]. Elles peuvent être superficielles (cutanées, cutanéomuqueuse chronique, onychomycose) ou profondes (candidose invasive et hépatospléniques) (Guarana et Nucci., 2018).

1. Les candidoses superficielles

La candidose superficielle est la manifestation clinique la plus fréquente. Souvent bénignes, elles sont très variées et peuvent toucher les surfaces épidermiques et les muqueuses telles que la cavité buccales, le pharynx et l'œsophage (Wenyng et coll., 2016).

1.1. Les candidoses cutanées et unguéales

Ces candidoses des plis se manifestent par un érythème. Elles sont favorisées par l'obésité, l'humidité et une mauvaise ventilation (Wolf et coll., 2011). Ces candidoses provoquent des infections au niveau des grands plis appelées intertrigo des grands plis (plis inguinaux, axillaires, sous mammaires) et l'intertrigo au niveau des petits plis concerne les plis interdigitaux palmaires (Denise, 2020).

Les onychomycoses à *Candida* sont caractérisées par des onyxis qui siègent essentiellement au niveau des mains. Ces derniers sont associés à une réaction inflammatoire de l'ongle appelée périonixys (Angora et coll., 2018).

Aux pieds plus exceptionnellement aux mains l'onyxis est souvent primaire, il commence sur le bord libre ou les bords latéraux de la lame qui devient friable, blanchâtre, verdâtre ou même franchement noire (Borradori, 2017).

1.2. Les candidoses des muqueuses

1.2.1. Les candidoses digestives

L'œsophage est la localisation la plus commune des candidoses digestives, mais celles-ci peuvent intéresser tout le tube digestif de l'estomac jusqu'au colon (Anofel, 2014).

Parmi les affections digestives on distingue :

-La candidose orale : c'est une infection des muqueuses buccales, également connu sous le nom de candidose buccale ou bien le muguet buccal. Ce sont des affections courantes en

médecine dentaire elles représentent une partie importante des lésions des muqueuses buccales, les patients peuvent signaler une certaine sécheresse buccale, une irritation ou une gêne lors de la déglutition [(Born, 2013) ; (Ahmad et coll., 2020)].

Une étude d'Ahmed et coll (2020) ont montré que les prothèses dentaires incorporées dans des nanomatériaux peuvent être administrées aux patients à risque de candidose buccale.

-La candidose œsophagienne

L'œsophagite causée par *Candida albicans* est le plus souvent superficiel, c'est une maladie définissant le SIDA, les hémopathies malignes, les patients transplantés et chez les patients présentant des comorbidités telles que diabète, consommation d'alcool et tabagisme, antibiothérapie, corticothérapie, chimiothérapie, radiothérapie, lésions de l'œsophage supérieur et vieillesse [(Robertson et coll., 2013) ; (Mohamed et coll., 2019)].

1.2.2. Les candidoses uro-génitales

La vulvo-vaginite est une affection courante dans le domaine de la santé des femmes. Elle représente environ 10 % des consultations en cabinet chaque année et touche presque toutes les femmes à un moment donné de leur vie (Li, 2021). Elle se caractérise par des pertes généralement de type caillé, mais elles peuvent aussi être fines et aqueuses et des lèvres érythémateuses et gonflées (Li, 2021).

La balanite et balano posthite est une candidose génitale rares chez les hommes et due à une contamination sexuelle, avec des lésions le plus souvent régressives (Li, 2021). Elle se caractérise par les placards érythémateux prurigineux parfois érosifs, couverts d'un enduit blanchâtre, à la périphérie et une collerette épithélial (Chaine et coll., 2014). Généralement favorisée par des facteurs généraux tels que l'obésité, la prise d'antibiotiques, en particulier le diabète (Lin, 2020).

1.2.3. Les candidoses cutané muqueuses chroniques

Les candidoses cutané muqueuses chroniques (CMC) sont des infections relativement rares qui se caractérisent par une persistance ou récurrence des infections de la peau, des ongles et des muqueuses (Baghad et coll., 2019).

La CMC est associée à un défaut de l'immunité des cellules T helper 17 (Th17) ou à une perturbation des cytokines IL-17 et IL-22. Elle est également associée à des défauts impliqués dans la différenciation des cellules Th17 de reconnaissance des *Candida* (comme la mutation de STAT1) et la signalisation de l'IL-17 (Sparber et coll., 2019).

2. Les candidoses profondes

La candidose invasive est une infection émergente étroitement liée aux progrès de la technologie médicale et est largement reconnue comme une cause majeure de morbidité et de mortalité dans le milieu des soins de santé causée par le genre *Candida* (**Pappas et coll., 2018**). Sur le plan nosologique, on définit une candidose profonde lorsqu'il y a au moins un organe profond touché (**Anofel, 2014**).

Les infections invasives à *Candida spp* représentent la 3^{ème} cause la plus fréquente d'infections sanguines nosocomiales (**Whibley et coll., 2015**). La candidose chronique disséminée est une complication sévère avec une morbidité et une mortalité élevée chez les patients atteints d'hémopathies malignes ayant subi une chimiothérapie (**Rammaert et coll., 2012**). Elle se caractérise par une infiltration profonde du tissu de la cavité buccale par les hyphes du champignon, qui concerne principalement le foie et la rate [(**Lewis et coll., 2017**) ; (**Hellstein et coll., 2019**)].

Les moyens thérapeutiques disponibles dans la lutte contre les infections à *Candida* sont restreints contrairement au grand nombre d'antibiotiques accessibles. La quantité d'antifongiques disponibles pour cibler les mycoses médicales reste limitée à un petit nombre malgré les avancés de la recherche (**Gulati et Nobile, 2016**). En effet, il n'existe actuellement que quatre classes d'antifongiques : les polyènes (amphotéricine B), les pyrimidines analogues (5-fluorocytosine), les dérivés azolés (fluconazole) et enfin, les échinocandines (caspofongine) (**Maubon et coll., 2014**).

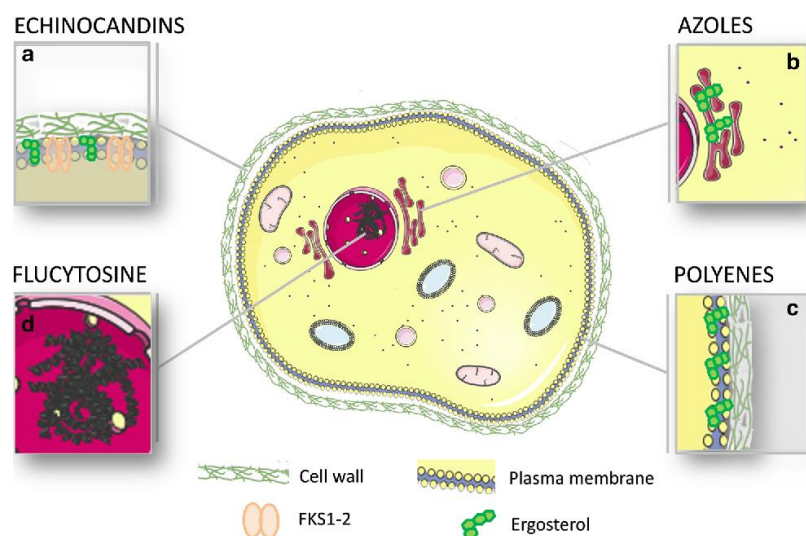


Figure N°1 : Cibles des différentes classes d'antifongiques systémiques (Maubon et coll., 2014).

2. Structure cellulaire de la levure *Candida*

Les levures du genre *Candida* sont des organismes eucaryotes unicellulaires possédant un noyau entouré d'une membrane nucléaire, un réticulum endoplasmique, des vacuoles et des mitochondries (Larcher, 2015) (Figure N°2). La membrane plasmique est riche en lipides dont l'ergostérol, et la paroi entourant la membrane est composée de protéines, de chitine et de sucres dont les mannanes et les glucanes (Höfs et coll., 2016) (Figure N°3).

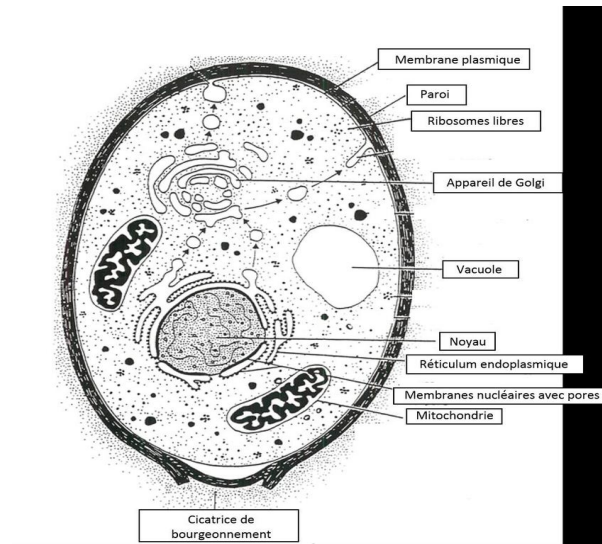


Figure N° 2 : Schéma d'une cellule de levure (Larpen et coll., 1997).

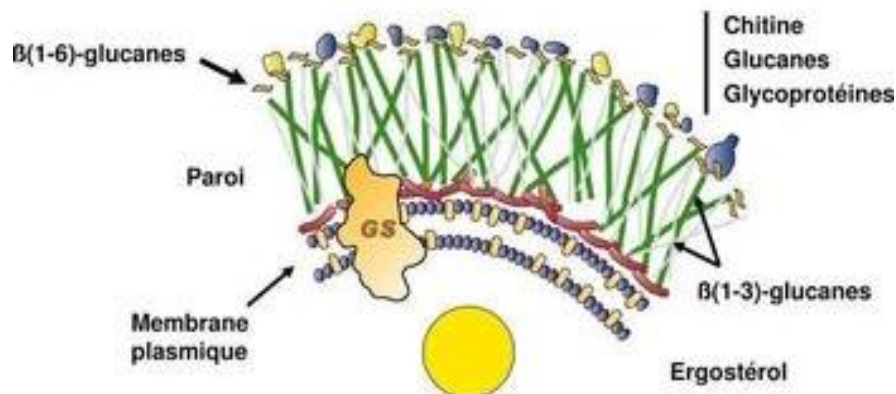


Figure N°3 : Organisation cellulaire de la paroi (Diamond et coll., 1999).

Le mannane est un composant important de la matrice de la paroi où il représente environ 40% des polysaccharides. C'est un polymère de mannose lié à des protéines par des liaisons

covalentes. De plus, étant donné que la couche externe de mannane recouvre les couches internes de la paroi cellulaire, il a été décrit comme étant important dans l'évasion immunitaire dissimulant les β -glucanes de la détection immunitaire de l'hôte (**Hernandez-Chavez et coll., 2017**).

Les glucanes sont les constituants majeurs du squelette pariétal (60% du poids sec de la paroi), ils confèrent une forte résistance à la levure mais jouent aussi un rôle dans l'adaptation de la cellule aux variations de son environnement. Le β -1,3- glucane forme de longues chaînes de glucoses liés en β -1,3 avec pour certaines des ramifications latérales en β -1,6 (**Gow et coll., 2011**).

La chitine se présente sous la forme de polymères de N-acétylglucosamine (plus de 2000 résidus) reliés par liaisons β -1,4. Les chaînes de chitines sont reliées entre elles par des ponts hydrogène pour former un réseau tridimensionnel de microfibrilles au-dessus de la membrane dans la couche la plus profonde de la paroi (**Ruiz-Herrera et coll., 2006**).

Les lipides pariétaux retrouvés en faible proportion au niveau de la paroi (1 à 7%), participent à la rigidité de la paroi. Les principaux lipides sont représentés par des triglycérides, des phospholipides et des stérols (libres ou estérifiés) (**Mille et coll., 2004**).

Un glycolipide intéressant a été identifié au niveau de la paroi de *C. albicans* : le phospholipomannane (PLM). Sa structure varie en fonction des conditions de pH et de température mais aussi en fonction de l'isolat clinique (**Trinel et coll., 2005**).

De plus, le PLM est un fort stimulus inflammatoire qui déclenche la production de cytokines inflammatoires (IL-6 notamment) par les macrophages (**Jouault et coll., 2003**).

Les protéines pariétales majeures chez *Candida spp* sont des protéines à ancre GPI (Glycosyl Phosphatidyl Inositol) qui permet leur liaison à la membrane plasmique (**Albrecht et coll., 2006**).

Les protéines pariétales jouent un rôle important dans la structure de la matrice, ces protéines peuvent être structurales, enzymatiques ou jouer un rôle dans les interactions cellulaires. Certaines participent au maintien du squelette cellulaire par association avec la chitine et les β -glucanes. L'expression des protéines pariétales est extrêmement régulée notamment lors de la transition levure-hyphe (**Netea et coll., 2008**).

3. Principales espèces de *Candida* d'intérêt médical

Les levures du genre *Candida* sont ubiquitaires présentes dans une grande diversité d'environnements. Sur plus de 200 espèces composant le genre *Candida* seules quelques-unes sont connues pour provoquer des infections opportunistes avec des taux de mortalité élevés (candidose) [(Odds et coll., 2001) (Ferreira et coll., 2009)] (Figure N°4).

Candida albicans est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. *Candida albicans* est un ascomycète diploïde possédant deux paires de 8 chromosomes, responsable de plus de la moitié des infections à la fois superficielles et systémiques (Mukherjee, 2015). Elle forme des colonies blanches, luisantes et lisses à bords nets sur milieu sabouraud (Bouchara 2010).

Candida parapsilosis est une levure diploïde possédant 14 chromosomes, caractérisée par son affinité pour les cathéters. Responsable d'un large éventail de manifestations cliniques dont les candidoses cutanées (intertrigo), d'onyxis (essentiellement des ongles des pieds) et les candidoses profondes (Kallel et coll., 2016). Elle forme des colonies couleur crème, luisantes et lisses ou irrégulières sur un milieu sabouraud (Bouchara, 2010).

Candida glabrata est une espèce de levures haploïde du genre *Candida* possédant 13 chromosomes, elle produit des colonies blanches lisses et luisantes sur un milieu sabouraud. Cette espèce est à l'origine de 8% d'infections digestives et de candidose systémique notamment chez les patients immunodéprimés (Ahmed et coll., 2014). Ces dernières décennies en raison de la pression des antifongiques azolés et sa sensibilité dose-dépendante à ces molécules, son incidence a augmenté (Bouchara, 2010).

Candida tropicalis est un saprophyte de l'environnement retrouvé dans l'eau, le sol, l'air, les céréales mais aussi chez certains mammifères. Cette levure diploïde (10-12 chromosomes) forme des colonies de couleur crème, luisantes et plissées sur milieu sabouraud. *Candida tropicalis* est à l'origine d'infection vulvo-vaginites et des candidoses systémiques (Bouchara, 2010).

Candida krusei est un saprophyte de l'environnement (sol, eau, air), caractérisé par des colonies blanches et mates, plates et sèches à bords festonnés sur milieu Sabouraud. Cette espèce est à l'origine de 4% des infections vulvo vaginites (Gómez et coll., 2020).

Candida kefyr est une levure pathogène émergente provenant des produits laitiers fermentés (fromages, yaourts), elle forme des colonies crémeuses de couleur blanche à crème et translucides sur milieu Sabouraud. En clinique, *C. kefyr* est responsable de candidoses profondes ou systémiques (Bouchara, 2010).

Candida lusitaniae est une espèce de levures peu fréquente, produit des colonies blanches, crèmes, lisses et brillantes sur un milieu de culture. *Candida lusitaniae* est à l'origine d'infection disséminée (Mavor et coll., 2005).

Candida guilliermondii est une levure haploïde issue du milieu extérieur où elle est assez répandue. Elle provoque des candidoses cutanées et des infections superficielles (intertrigo et onyxis). Sur un milieu sabouraud elle forme de petites colonies lisses de couleur blanches ou crèmes (Cuenca et coll., 2002).

Candida dubliniensis est une espèce proche de *C. albicans*, impliqué dans des cas de candidose orale chez des personnes infectées par le VIH. Elle produit des colonies blanches à bords nets, luisantes et lisses sur milieu Sabouraud (Bouchara, 2010).

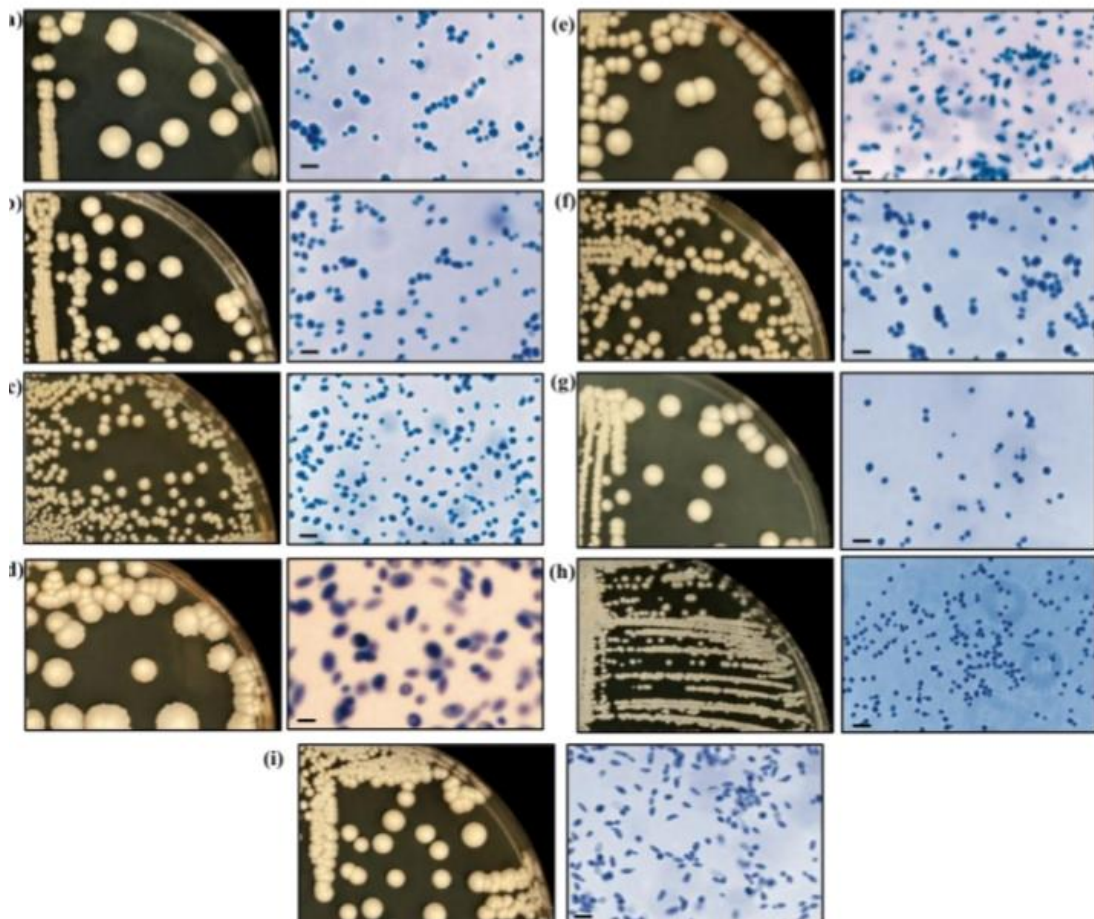


Figure N° 4 : Caractéristique macroscopiques et microscopiques des principales espèces de *Candida* d'intérêt médicales. (a) *C. albicans*, (b) *C. parapsilosis*, (c) *C. glabrata*, (d) *C. tropicalis*, (e) *C. krusei*, (f) *C. kefyr*, (g) *C. lusitaniae*, (h) *C. guilliermondii* et (i) *C. dubliniensis* (Pascal et Marielle, 2016).

4. Physiopathologie et facteurs de virulence

La physiopathologie des infections fongiques invasives fait intervenir une transition des levures du genre *Candida* d'un état saprophyte commensal vers un état pathogène virulent (Poissy, 2015).

Cette transition dépend de l'équilibre entre les capacités de colonisation de la levure et l'expression des facteurs de virulence. La candidose évolue en trois phases :

- Adhérence et colonisation.
- Invasion.
- Multiplication et survie chez l'hôte.

La pathogénèse de *Candida spp* dépend de l'expression de plusieurs facteurs de virulence tels que la production d'adhésines, le thigmotropisme, le changement de morphologie (Polymorphisme), la formation de biofilm et la production des enzymes hydrolytiques (Deorukhkar et coll., 2014).

4.1. Production d'adhésines

Les *Candida spp* sont capables d'adhérer à différents substrats et tissus par l'intermédiaire de molécules dénommées adhésines (Garcia et coll., 2011).

Candida albicans possède un grand nombre de récepteurs à sa surface qui lui permettent de reconnaître les cellules de son hôte et de se fixer telles que Hwp1, Als, Eap1 et Pga1 [(Li et coll., 2007) ; (Hashash et coll., 2011) ; (Mayer et coll., 2013)].

La famille de gènes ALS code huit protéines de la paroi cellulaire (Als1-7 et Als9) qui sont connues pour favoriser l'adhésion aux cellules épithéliales (Hoyer et coll., 2016).

Eap1 est une protéine de la paroi cellulaire réticulée au glucane ancrée au glycosyl phosphatidyl inositol. Il joue un rôle à la fois *in vitro* et *in vivo* dans l'adhérence et le développement de biofilm (Li et coll., 2007).

De plus, Pga1 est une protéine à ancrage GPI de 133 acides aminés qui est non seulement nécessaire pour l'adhésion et la formation de biofilm mais également pour maintenir l'intégrité de la paroi cellulaire (Hashash et coll., 2011).

D'autre part, la protéine de paroi Hwp1 est une mannoprotéine liée de manière covalente aux β -1,6-glucanes de la paroi par sa partie C-terminale (Staab et coll., 2007). Cette protéine spécifique du stade hyphé chez *C. albicans* joue un rôle important dans l'adhésion aux tissus (Sharkey et coll., 1999).

4.2. La thigmotropisme

La thigmotropisme est la croissance hyphale directionnelle démontrée par *Candida spp* sur des surfaces avec des topologies spécifiques (Mayer et coll., 2013). C'est un mécanisme important pour augmenter la virulence de *Candida spp*, il aide à créer un biofilm sur les surfaces abiotiques et à se propager dans le tissu hôte (Viana et coll., 2020).

4.3. Le polymorphisme

Candida albicans est un champignon polymorphe qui peut se développer sous forme de levure bourgeonnante, sous forme de cellules ellipsoïdes allongées avec des constriction au niveau des pseudohyphes ou sous forme d'hyphes vrais à parois parallèles (Mayer et coll., 2013).

Le polymorphisme implique la transition de *C. albicans* d'une forme commensale à une forme pathologique, qui dépend des changements de l'environnement dans lequel il se trouve. [(Noble et coll., 2017) ; (Hanaoka et coll., 2020)].

4.4. La formation de biofilm

Un autre facteur de virulence important de *Candida spp* est sa capacité à former des biofilms sur des surfaces abiotiques ou biotiques, ce qui entraîne une morbidité et une mortalité élevées (Tsui et coll., 2016). En général, le processus de développement du biofilm de *Candida sp* peut être divisé en quatre étapes : adhérence, initiation, maturation et dispersion (Figure N°5) [(Blankenship et Mitchell, 2006) ; Lohse et coll., 2018)].

Plusieurs facteurs de transcription contrôlent la formation du biofilm, ceux-ci incluent les facteurs de transcription Bcr1, Tec1 et Efg1 (Galdiero et coll., 2021).

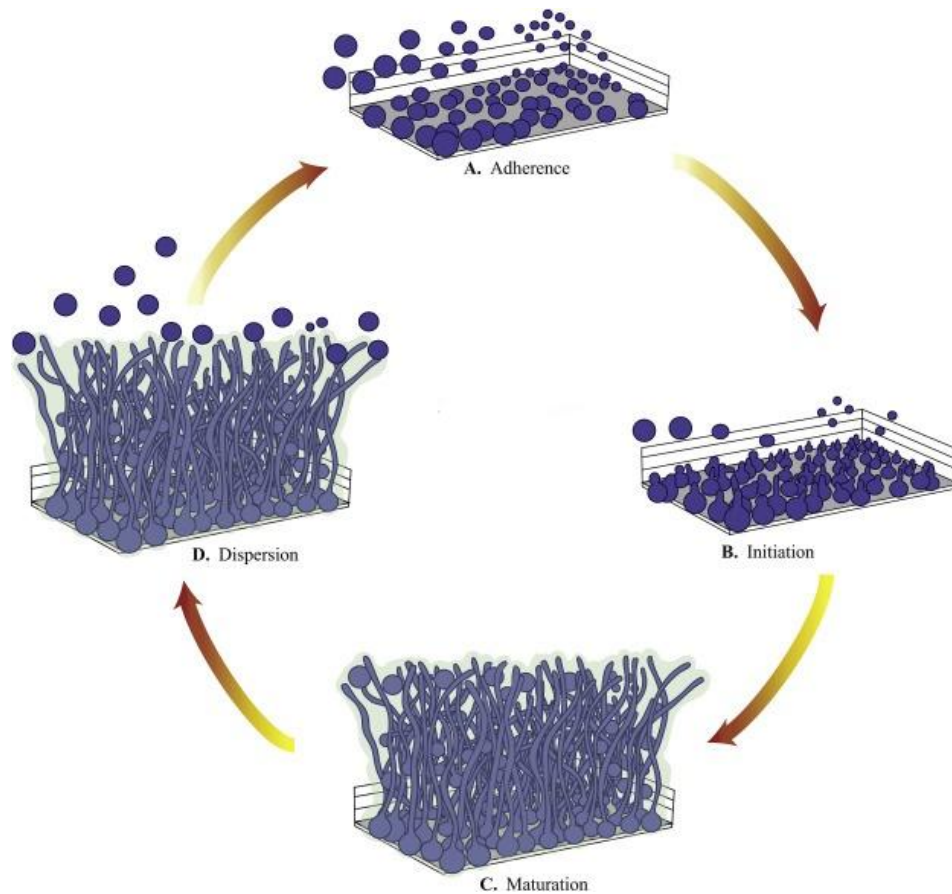


Figure N°5 : Les différentes étapes de la formation d'un biofilm par *Candida albicans* (Megha et coll., 2016).

4.5. La sécrétion d'enzymes hydrolytiques

Les enzymes hydrolytiques sont des hydrolases lipolytiques qui ont pour fonction de faciliter les caractéristiques commensales et pathogènes telles que l'attachement aux tissus de l'hôte et la rupture de la membrane de la cellule hôte (Sanita et coll., 2014).

En raison de ces enzymes une invasion dans les surfaces des muqueuse et des vaisseaux sanguins est possible et elles participent également à éviter la réponse immunitaire de l'hôte [(Wibawa et coll., 2016) ; (Talapko et coll., 2021)].

Les principales enzymes produites par les *Candida* sont la SAPs (aspartyl protéase sécrétée), la phospholipase, l'hémolysine et l'estérase [(Sardi et coll., 2013) ; (Wibawa et coll., 2016)].

5. La production d'enzymes lytique par la levure *Candida*

5.1. Les phospholipases

Les phospholipases (EC.3.1.1.4) sont des hydrolases qui hydrolysent les phospholipides communs à toutes les membranes cellulaires en acides gras et autres substances lipophiles (Mba et Nweze, 2020).

Selon la base de clivage de la liaison ester au sein d'une molécule phospholipide, ces enzymes sont divisées en quatre groupes dont les acyles hydrolases (PLA, PLB) et les phosphodiesterases (PLC et PLD) (Barman et coll., 2018) (Figure N°6).

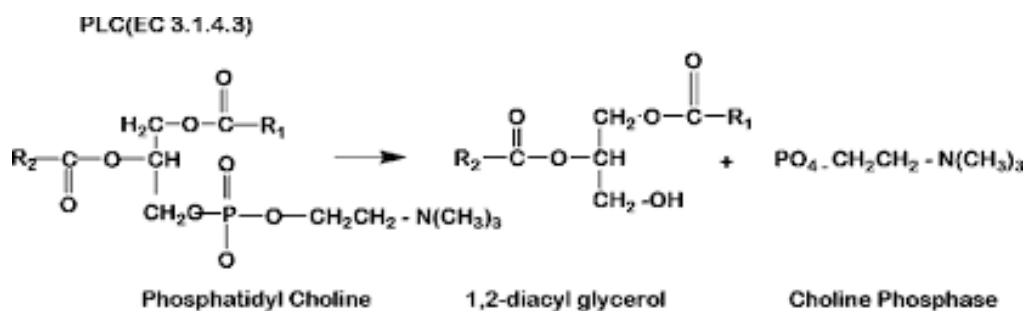


Figure N°6 : Réaction d'hydrolyse enzymatique de la phospholipase C au niveau de la première liaison phosphodiester (Ramrakhiani, 2011).

La sécrétion des phospholipases est un facteur important de virulence chez *Candida spp*, ces enzymes sont impliquées dans l'adhésion et la pénétration dans les cellules hôtes (Ghannoum, 2000). La lyse membranaire du tissu de l'hôte provoquée par les phospholipases facilite l'invasion tissulaire par *Candida spp*. Cela peut également permettre d'exposer des récepteurs facilitant l'adhésion de *Candida* aux cellules de l'hôte (Ghannoum, 2000).

L'étude réalisée par Tsai et coll (2013) a montré que la production de phospholipases est très élevée chez *Candida spp*, lors des lésions tissulaires en raison de ses capacités de dégrader les glycérophospholipides de la cellule hôte.

En 2016, Jasim et coll ont trouvé que 40 sur 50 *Candida spp* avaient tendance à avoir une activité positive de phospholipases.

Pour Pandey et coll (2018), les phospholipases sont exprimées par la majorité des isolats de *Candida non albicans* tel que *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* et même *C. parapsilose*.

D'autres auteurs, ont trouvé que 82,85% des souches de *Candida albicans* étaient de fortes productrices de phospholipases (Melo et coll., 2019).

En raison de son vaste rôle dans l'infection systémique, la production de ces enzymes peut être considérée comme l'un des principaux critères qui distinguent les souches virulentes invasives des souches non invasives chez *Candida spp* (Mba et Nweze, 2020).

5.2. Les protéinases

La protéinase ou la protéase est une enzyme importante qui clive la liaison peptidique au sein des protéines. Il existe quatre catégories de protéinases : la sérine protéinase, l'aspartyl protéinase, la cystéine protéinase et la métalloprotéinase (Mba et Nweze, 2020).

Chez *Candida spp*, se sont les aspartyles protéases (EC 3.4.2.3) qui sont fortement synthétisées et sécrétées (Figure N°7).

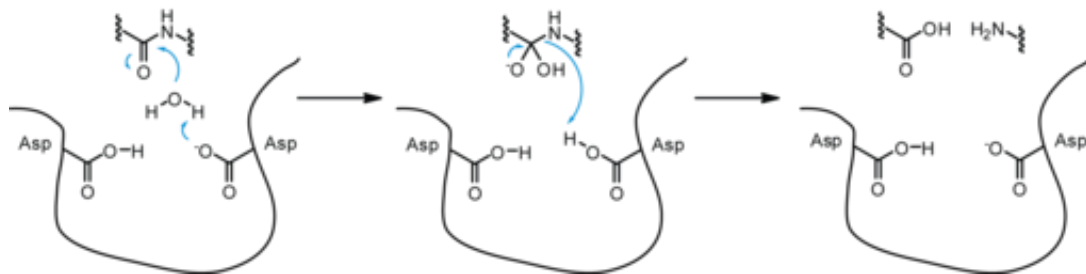


Figure N°7 : Mécanisme d'action du clivage peptidique par la protéase aspartique (Chamkant, 2010).

Cette famille d'enzymes protéolytiques, bien caractérisée chez *Candida spp* comporte 10 membres (Sap1 – Sap10) de poids moléculaires variable entre 35 et 50kDa.

Les protéinases Sap1 à Sap8 sont des exo-protéases, par contre Sap9 et Sap10 sont ancrées à la paroi cellulaire [(Neglik et coll., 2003) ; (Cassone et coll., 2016)].

Par ailleurs, l'activité métabolique des enzymes SAP varie selon le pH du milieu. Sap1 et Sap3 ont une activité protéolytique maximale à pH acide tandis que Sap4 et Sap6 sont plus actifs à pH neutre à légèrement alcalin, ce qui induit des infections systémiques (Aoki et coll., 2011).

Sap1-6 est essentiel pour l'adhérence, les lésions tissulaires et l'altération des mécanismes de défense de l'hôte et le rôle de Sap 7 dans la pathogénicité de *Candida sp* n'est pas complètement compris alors que Sap 9 et Sap 10 sont essentiels pour maintenir l'intégrité de surface régulatrice des cellules levuriennes (Deorukhkar et Saini, 2015).

Le rôle et l'action des Saps dans les processus d'invasion et de dommage tissulaires ont été prouvés par le fait que l'invasion est clairement inhibée par la pepstatin A (un inhibiteur des aspartyl protéases) chez *C. albicans* (Dalle et coll., 2010).

Le gène Sap a été observée chez plusieurs espèces de *Candida non albicans* notamment *C. parapsilosis* et *C. tropicalis*, alors qu'il est absent chez *C. glabrata*. L'absence de ce gène chez cette espèce révèle son potentiel de virulence plus faible par rapport aux autres espèces de *Candida* (**Kaur et coll., 2005**).

Les protéinases sont exprimées par la majorité des isolats de *C. albicans* provenant de différents échantillons cliniques [(**Junqueira et coll., 2012**) ; (**Ramos et coll., 2014**)]. De plus, **Ramos et coll** en **2015** ont détecté que la majorité des *Candida non-albicans* isolées des cas de candidose cutanée produisent du Sap.

La sécrétion des protéases est considérée comme l'un des principaux facteurs de virulence associé à l'infection qui joue un rôle important dans la croissance excessive de *Candida* puisque ces enzymes ouvrent la voie à l'adhérence à l'hôte (**Hoyer, 2001**).

En effet, les protéases aspartiques (Saps) contribuent à l'adhésion de *Candida*, à son invasion et à la destruction du tissu immunitaire de l'hôte. Ces enzymes sont capables de dégrader un nombre important de protéines des tissus de l'hôte présentes au niveau des sites infectés (**Kadry et coll., 2018**), telles que les immunoglobulines, les protéines du complément et les cytokines ainsi que des composants des muqueuses tels que le collagène, la kératine et la mucine [(**Kumar et coll., 2006**) ; (**Bochenska et coll., 2016**)].

5.3. Les estérases

Une autre famille d'enzyme hydrolytique est observée chez *Candida* celle des estérases. Les estérases nommées hydrolases carboxyl esters (EC 3.1.1.1) catalysent l'hydrolyse des liaisons esters dans les esters d'acides gras à chaîne courte des groupes acyle (**Borchet et coll., 2017**) (Figure N°8).

Ces enzymes accentuent l'invasion de *Candida spp* dans les tissus hôtes et médiatisent les interactions avec diverses enzymes [(**Khedidja et Abderrahmane, 2011**) (**Pandey et coll., 2018**)].

En raison des utilisations répandues des enzymes lipolytiques dans divers applications, il y a toujours un intérêt pour les nouvelles estérases aux propriétés uniques (**Borchet et coll., 2017**).

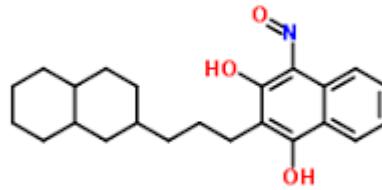


Figure N°8 : Structure d'estérase carboxyle (Wen et coll., 2013).

Une étude réalisée par Aktas et coll en 2002 a montré que toutes les souches de *Candida albicans* cultivées sont productrices d'estérases.

En 2011, Williams et Lewis suggèrent que le mécanisme de la virulence chez *Candida spp* est dû aux effets cytotoxiques de l'estérase dans les tissus de l'hôte. De plus, Pandey et coll (2018) ont trouvé que 56,25 % des souches de *C.albicans* étaient de fortes productrices d'estérase.

D'autre part, l'étude réalisée par Fatahinia et coll (2017) a signalé *C. glabrata* comme le plus faible producteur d'estérase chez les patients atteints de candidose vulvo-vaginale.

5.4.Les lipases

La lipase (EC 3.1.1.3) est l'une des enzymes produites par les pathogènes *Candida spp*, ces enzymes catalysent l'hydrolyse des liaisons esters dans les esters d'acides gras à chaîne longue des groupes acyle (Figure N°9).

En fonction des conditions du milieu, les lipases interviennent dans deux types de réaction : l'hydrolyse et la synthèse.

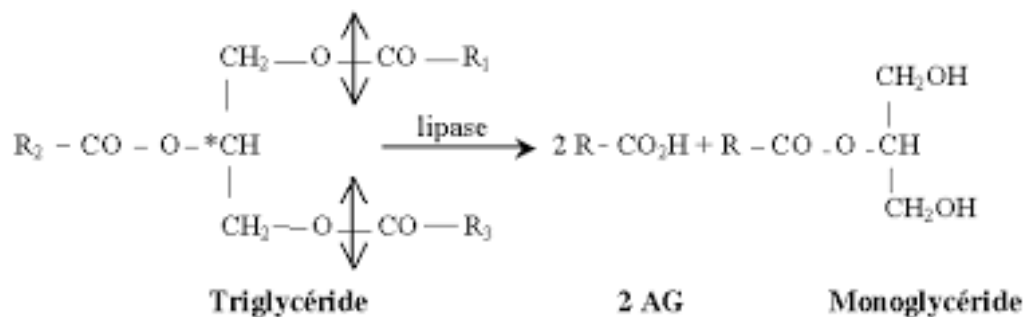


Figure N°9 : Activité catalytique des lipases (Regil et Georgina, 2013).

La production de lipases extracellulaires par les levures du genre *Candida* permet la dégradation des lipides pour l'assimilation des nutriments et l'adhésion aux tissus hôtes. Elles entraînent aussi le déclenchement de l'inflammation grâce à sa capacité de dégrader les microflore résidentes dans l'environnement immédiat qui affecte les cellules du système immunitaire (**Khedidja et Abderrahmane, 2011**).

En **2008**, une étude effectuée par **Paraje et coll** a montré que la lipase produite par *C. albicans* déclenche la cytotoxicité et facilite le dépôt lipidique dans les cellules du système immunitaire.

D'autres auteurs, suggèrent que la lipase sécrétée de *C. parapsilosis* favorise la survie des cellules fongiques dans les macrophages et atténue la réponse inflammatoire de l'hôte (**Toth et coll., 2014**).

5.5. Les hémolysines

Les hémolysines sont des facteurs de virulence cruciaux qui aident les *Candida* à survivre et à persister dans l'hôte (**Anil et coll., 2014**). *Candida spp* est bêta hémolytiques [(**Chin et coll., 2013**) ; (**Jasim et coll., 2016**)]. La levure *Candida* utilise l'hémolysine pour perturber les érythrocytes par la destruction de leur membrane cellulaire et la libération de leur teneur en hémoglobine (source de fer) qui est employée par les *Candida spp* comme nutriments qui contribuent à survivre et à persister au sein de l'hôte (**Furlaneto, 2018**). La capacité d'assimiler le fer est une propriété importante pour la continuité des microorganismes et le développement de l'infection. La plupart des organismes pathogènes tirent le fer de l'hémoglobine (**Mba et Nweze, 2020**).

L'activité hémolytique est un facteur de virulence potentiel qui aide à disséminer la candidose et à faciliter l'invasion des hyphes (**Tsang et coll., 2007**).

La capacité d'exprimer les enzymes hémolytiques varie non seulement entre les différentes espèces de *Candida*, mais également entre les souches de la même espèce isolées de différents sites (**Weissman et Kornitzer 2004**).

Rossoni et coll (2015) ont trouvé que *C. glabrata* présente une haute activité hémolytique par rapport à *Candida albicans*.

Pandey et ses collaborateurs (2018) montrent que *C. tropicalis* présente une activité hémolytique accrue par rapport à *C. albicans*.

6. Les paramètres qui peuvent influencer la production d'enzymes lytiques

L'activité enzymatique de *Candida* peut varier en fonction de l'espèce et de la source des isolats (Mohandas et Ballal, 2008). Plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité enzymatique des levures *Candida*, tels que la température, le pH, le glucose, certains ions, dont Fe^{3+} ou certains composés (éthanol, n-butanol) (Wan et coll., 2015).

Wan et coll (2015), ont testé l'effet de différentes concentrations de $CaCl_2$, NaCl et KCl sur la production d'hémolysine par les *Candida spp.* Les résultats ont montré que lorsqu'ils étaient cultivés dans du $CaCl_2$, NaCl ou KCl, l'activité hémolytique des isolats de *Candida* était réduite par rapport à leur culture en absence de ces sels. Ils ont déduit que la présence de différents électrolytes a eu un effet négatif sur la production de l'hémolysine par *C.albicans*, *C.tropicalis*, et *C. glabrata*.

En 2015, Fatahinia et coll, ont évalué l'influence du diabète sur l'activité enzymatique de *C.albicans* isolée de la cavité buccale par des dosages sur gélose au sang et des tests d'opacité Tween 80. Les résultats ont montré que les activités estérasiques et hémolytiques de *Candida albicans* chez les patients diabétiques sont supérieures à celles des sujets sains, mais certaines espèces telles que *C. glabrata* agissent de manière similaire à *C. albicans* dans le diabète.

D'autre part, une étude réalisée par Ravichandran et Muthuraman en 2016, visait à évaluer l'efficacité d'extrait de feuilles de *Lawsonia inermis* (Henné) sur la production d'enzymes par *Candida albicans*. Ils ont testé l'effet de l'extrait de *L. inermis* sur l'activité enzymatique de la protéase de *C. albicans* à deux concentrations différentes de 500g/ml et 750g/ml, et l'activité phospholipase a été testé à une concentration de 300 g/ml de l'extrait. Ils ont constaté que, pour des concentrations de 500g/ml 750g/ml et 300g/ml de l'extrait une diminution de 27%, 33% et 44.5% de la production des enzymes, respectivement.

En 2018, Yang et coll, ont évalué les effets antifongiques de la dioscine (une saponine stéroïdienne qui pourrait être isolée d'herbes médicinales et de légumes du genre *Dioscorea* sur la formation et le développement du biofilm, ainsi que des facteurs de virulence tels que l'adhésion, la transition morphologique et la production d'enzymes extracellulaires de *Candida albicans* par des tests *in vitro* et une analyse statistique. Ils ont déduit que la dioscine a inhibé de manière marquante la production d'enzymes extracellulaires hydrolytiques de *Candida albicans*.

Pour étudier l'effet du changement de pH et de température sur l'activité hydrolytique. Tefiani et et coll (2020), ont testé l'activité de phospholipase, estérase et de protéase de 14 souches de *C. albicans* dans différentes conditions de pH et de température. Les résultats ont

montré que le pH et la température ont un effet sur la production de phospholipase et de protéinases.

Une autre étude réalisée cette fois-ci par **Erum et coll (2020)**, visait à étudier la corrélation entre la résistance aux agents antifongiques et la virulence de *C. albicans*. Ils ont examiné le niveau de production de phospholipase dans les souches de *C. albicans* résistantes et sensibles au fluconazole. Ils ont trouvé que la majorité (83,33 %) des levures résistantes au fluconazole ont produit de la phospholipase tandis que seul 35,42% des souches sont sensibles au fluconazole et produisent de la phospholipase. Ils ont déduit qu'une production élevée de phospholipase était corrélée à la résistance au fluconazole.

Partant les travaux **Wan et coll (2015)**, **Andalouci et Chetitah (2020 sous la direction du Pr Sari-Belkherroubi L)**, ont évalué l'effet des sels NaCl et KCl sur la production d'hémolysine chez *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* et *Candida famata*. Les résultats ont montré que plus la concentration en NaCl augmente, plus l'activité hémolytique augmente. Cette augmentation varie d'un facteur de 0.23 à 0.42 chez *C.glabrata*, de 0.43 à 0.28 chez *C.tropicalis* et de 0.45 à 0.38 chez *C.famata* et ce pour des concentrations en NaCl de 1%, 5% et de 25% respectivement. Pour KCl les résultats ont montré que plus la concentration en KCl augmente, plus l'activité hémolytique augmente chez *C.tropicalis*. Cette augmentation varie d'un facteur de 0.22 à 0,31 lorsque la concentration passe de 1% à 5%. D'autre part, ils ont remarqué que la plupart des souches *C. glabrata* perdent leur activité hémolytique en présence de 25% de KCl tandis qu'une inhibition totale de croissance observé chez *C.famata*. Alors que plus la concentration en KCl augmente plus l'activité hémolytique de *C.famata* et *C.glabrata* diminue.

**LES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX
POUR EVALUER L'ACTIVITE
ENZYMATIQUE**

1. Recherche de la production de phospholipases

L'activité phospholipase est examinée selon la méthode de **Samaranayake et coll (1984)**. A cette fin, le milieu suivant est préparé comme suit, 13 g de sabouraud dextrose agar (SDA), 11.7 g de NaCl, 0.11 g de CaCl₂ dans 184 ml de l'eau distillée. Cette préparation est mise à l'autoclave pendant 20 min à 120°C. Ensuite, 20 ml du surnageant du jaune d'œuf obtenu après centrifugation à 3000 g pendant 10 min à 4°C sont ajoutés au milieu préparé précédemment. Un volume de 10 µl de l'inoculum (10⁸ cellule / ml) est déposé sur la surface de la gélose au jaune d'œuf déjà coulée dans les boîtes de pétri (laisser sécher à température ambiante). Ces dernières sont ensuite incubées à 37°C pendant 72 heures.

Selon **Price et coll (1982)**, les niveaux d'activité des enzymes hydrolytiques sont établis selon une gamme d'indices Pz. La zone de précipitation Pz est déterminée avec la formule décrite ci-dessous :

$$Pz = \frac{\text{Diamètre de la colonie (cm)}}{\text{Diamètre de la colonie (cm)} + \text{la zone de précipitation (cm)}}$$

Tous les indices d'activité enzymatique ont été classés comme suit:

-Pz = 1, activité négative (-).

-0,64 < Pz < 0,99, positif.

-Pz ≤ 0,64, fortement positifs.

2. Recherche de la production de protéases

Pour la détection de la production de protéase, la méthode de **d'Aoki et coll (1990)** est utilisée. Le milieu est une gélose qui contient du sérum d'albumine bovin (BSA). Pour cela, 0.04 de MgSO₄, 0.5 de K₂HPO₄, 1 g de NaCl, 0.2 g extrait de levure séchée, 4 g de glucose et 0.5 g BSA sont dissoutes dans 60 ml de l'eau distillée. Après avoir ajusté à pH = 3.5. Cette solution est stérilisée par filtration en utilisant des microfiltres de 0.22 µl. Puis mélangé à 140 mL d'agar fondue stérile. 10 µl de l'inoculum de la suspension de levure (10⁶ cellules / ml) sont déposées sur la gélose. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 7 jours. Les niveaux d'activité des protéases sont établis selon la gamme d'indices Pz (**Price et coll., 1982**).

3. Recherche de la production d'estérases

La production d'estérases est évaluée à l'aide du test d'opacité à tween 80 selon la méthode décrite par **Slifkin (2000)**. Le milieu de culture est constitué de peptone (10 g), NaCl (5g), CaCl₂ (0.1g) et 15 g d'agar sont dissous dans l'eau distillée. Le milieu est laissé se refroidir (50°C), ensuite 5 ml de Tween 80 stérile lui sont ajoutés. 10 µl de l'inoculum sont déposés sur la gélose coulée dans les boîtes de pétri. Les boîtes sont laissées pour séchage avant incubation dans l'étuve à 37 °C pendant 10 jours. La présence d'un halo opaque autour des colonies, observé sous lumière est considérée comme une activité estérase positive (+).

4. Recherche de la production d'hémolysine

Selon **Manns et coll (1994)** pour déterminer l'activité hémolytique, 7 ml de sang de mouton frais sont été ajoutés à 100 ml de milieu gélose Sabouraud dextrose. Ensuite, 10 µL de l'inoculum (10⁶ cellules / mL)

sont déposées sur le milieu en boîte de pétri. L'incubation se fait à 37 ° C pendant 48 h. La présence d'un halo translucide distinctif autour de la colonie indique une activité hémolytique positive.

CONCLUSION GENERALE

Les levures du genre *Candida* représentent la cause la plus fréquente de l'infection fongique humaine. Cette tendance est d'autant plus importante chez les patients immunodéprimés mais aussi chez ceux présentant des facteurs de risques tels qu'un âge avancé. Les enzymes hydrolytiques extracellulaires sont considérées comme un important facteur de virulence qui se traduit dans la pathogénie de *Candida*.

L'objectif que nous nous sommes fixés pour cette revue bibliographique est de faire le point sur le rôle des enzymes hydrolytiques dans la physiopathologie des candidoses.

Il ressort que :

- La dioscine et l'extrait de feuille *Lawsonia inermis* peuvent être considérées comme des sources potentielles pour le développement d'un médicament anti-candidat.
- La concentration glycémique et la présence des électrolytes font partie des facteurs qui influencent la production d'hémolysine chez *Candida spp.*
- L'activité de phospholipases et de protéase peut être influencée par les variations du pH et de la température contrairement aux estérases.
- Plus la résistance au fluconazole augmente plus la production de phospholipase augmente chez *Candida spp.*
- L'activité hémolytique varie en fonction des concentrations en NaCl et KCl chez *C.glabrata*, *C.famata* et *C.tropicalis*.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

1. **Ahmad, K. M., Kokošar, J., Guo, X., Gu, Z., Ishchuk, O. P., & Piškur, J. (2014).** Genome structure and dynamics of the yeast pathogen *Candida glabrata*. *FEMS yeast research*, *14*(4), 529-535.
2. **Ahmad, N., Jafri, Z., & Khan, Z. H. (2020).** Evaluation of nanomaterials to prevent oral Candidiasis in PMMA based denture wearing patients. A systematic analysis. *Journal of oral biology and craniofacial research*, *10*(2), 189-193.
3. **Aktas, E., Yigit, N., & Ayyildiz, A. (2002).** Esterase activity in various *Candida* species. *Journal of international medical research*, *30*(3), 322-324.
4. **Albrecht, A., Felk, A., Pichova, I., Naglik, J. R., Schaller, M., de Groot, P., ... & Hube, B. (2006).** Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteases of *Candida albicans* target proteins necessary for both cellular processes and host-pathogen interactions. *Journal of Biological Chemistry*, *281*(2), 688-694.
5. **Aoki, W., Kitahara, N., Miura, N., Morisaka, H., Yamamoto, Y., Kuroda, K., & Ueda, M. (2011).** Comprehensive characterization of secreted aspartic proteases encoded by a virulence gene family in *Candida albicans*. *The Journal of Biochemistry*, *150*(4), 431-438
6. **Armstrong-James, D., Brown, G. D., Netea, M. G., Zelante, T., Gresnigt, M. S., van de Veerdonk, F. L., & Levitz, S. M. (2017).** Fungal infections 6 Immunotherapeutic approaches to treatment of fungal diseases.
7. **Baghad, B., Benhsaien, I., El Fatoiki, F. Z., Migaud, M., Puel, A., Chiheb, S., ... & Ailal, F. (2020, January).** Candidose cutanéomuqueuse chronique avec mutation gain-de-fonction du gène STAT1 associée à des infections herpétiques et à mycobactérie. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 147, No. 1, pp. 41-45). Elsevier Masson.
8. **Barman, A., Gohain, D., Bora, U., & Tamuli, R. (2018).** Phospholipases play multiple cellular roles including growth, stress tolerance, sexual development, and virulence in fungi. *Microbiological research*, *209*, 55-69.
9. **Bochenska, O., Rapala-Kozik, M., Wolak, N., Aoki, W., Ueda, M., & Kozik, A. (2016).** The action of ten secreted aspartic proteases of pathogenic yeast *Candida albicans* on major human salivary antimicrobial peptide, histatin 5. *Acta Biochimica Polonica*, *63*(3), 403-410.
10. **Borchert, E., Selvin, J., Kiran, S. G., Jackson, S. A., O'Gara, F., & Dobson, A. D. (2017).** A novel cold active esterase from a deep sea sponge *Stelletta normani* metagenomic library. *Frontiers in Marine Science*, *4*, 287.
11. **Born, F. (2013).** *Les candidoses buccales: revue de littérature* (Doctoral dissertation, University of Geneva).
12. **Borradori, L., Lachapelle, J. M., Lipsker, D., Saurat, J. H., & Thomas, L. (2017).** *Dermatologie et infections sexuellement transmissibles*. Elsevier Masson.

13. **Bouchara, J. P., Pihet, M., De Gentile, L., Cimon, B., & Chabasse, D. (2010).** Les levures et levuroses-Cahier de Formation, Biologie Médicale.
14. **Cai, W., Lu, C., Li, X., Zhang, J., Zhan, P., Xi, L., ... & Yu, X. (2016).** Epidemiology of superficial fungal infections in Guangdong, Southern China: a retrospective study from 2004 to 2014. *Mycopathologia*, 181(5-6), 387-395.
15. **Cassone, A., Vecchiarelli, A., & Hube, B. (2016).** Aspartyl proteinases of eukaryotic microbial pathogens: from eating to heating. *PLoS pathogens*, 12(12), e1005992.
16. **Chambard, F. (2009).** Les candidoses cutanéomuqueuses: physiopathologie et conseils à l'officine. *Faculté de pharmacie de Grenoble*.
17. **Chandra, J., & Mukherjee, P. K. (2015).** Candida biofilms: development, architecture, and resistance. *Microbial Biofilms*, 115-134.
18. **Chin, V. K., Foong, K. J., Maha, A., Rusliza, B., Norhafizah, M., Ng, K. P., & Chong, P. P. (2013).** Candida albicans isolates from a Malaysian hospital exhibit more potent phospholipase and haemolysin activities than non-albicans Candida isolates. *Tropical biomedicine*, 30(4), 654-662.
19. **Cuenca-Estrella, M., Rodero, L., García-Effrón, G., & Rodríguez-Tudela, J. L. (2002).** Antifungal susceptibilities of Candida spp. isolated from blood in Spain and Argentina, 1996–1999. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(6), 981-987.
20. **Dalle, F., Wächtler, B., L'Ollivier, C., Holland, G., Bannert, N., Wilson, D., ... & Hube, B. (2010).** Cellular interactions of Candida albicans with human oral epithelial cells and enterocytes. *Cellular microbiology*, 12(2), 248-271.
21. **Das, V. M., & Ballal, M. (2008).** Actividad proteínasa y fosfolipasa como factores de virulencia en especies de Candida aisladas de sangre. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25(4), 208-210.
22. **de Melo, A. V., Zuza-Alves, D. L., da Silva-Rocha, W. P., de Souza, L. F. C., Francisco, E. C., de Azevedo Melo, A. S., & Chaves, G. M. (2019).** Virulence factors of Candida spp. obtained from blood cultures of patients with candidemia attended at tertiary hospitals in Northeast Brazil. *Journal de mycologie medicale*, 29(2), 132-139.
23. **De Regil, R., & Sandoval, G. (2013).** Biocatalysis for biobased chemicals. *Biomolecules*, 3(4), 812-847.
24. **de Souza Ramos, L., Barbedo, L. S., Braga-Silva, L. A., Dos Santos, A. L. S., Pinto, M. R., & da Graça Sgarbi, D. B. (2015).** Protease and phospholipase activities of Candida spp. isolated from cutaneous candidiasis. *Revista iberoamericana de micologia*, 32(2), 122-125.
25. **de Souza Ramos, L., Barbedo, L. S., Braga-Silva, L. A., Dos Santos, A. L. S., Pinto, M. R., & da Graça Sgarbi, D. B. (2015).** Protease and phospholipase activities of Candida spp. isolated from cutaneous candidiasis. *Revista iberoamericana de micologia*, 32(2), 122-125.

26. **Denise M.Aaron**, 2020, candidose (cutanéomuqueuse) ,2020
27. **Deorukhkar, S. C., & Roushani, S. (2017)**. Virulence traits contributing to pathogenicity of *Candida* species. *J Microbiol Exp*, 5(1), 00140.
28. **Eggimann, P., Garbino, J., & Pittet, D. (2003)**. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *The Lancet infectious diseases*, 3(11), 685-702.
29. **Erum, R., Samad, F., Khan, A., & Kazmi, S. U. (2020)**. A comparative study on production of extracellular hydrolytic enzymes of *Candida* species isolated from patients with surgical site infection and from healthy individuals and their co-relation with antifungal drug resistance. *BMC microbiology*, 20(1), 1-12.
30. **Essendoubi, M. (2007)**. *Identification et typage par (micro) spectroscopie IRTF des levures du genre Candida d'origine clinique* (Doctoral dissertation, Reims).
31. **Fatahinia, M., Halvaezadeh, M., & Rezaei-Matehkolaei, A. (2017)**. Comparison of enzymatic activities in different *Candida* species isolated from women with vulvovaginitis. *Journal de mycologie medicale*, 27(2), 188-194.
32. **Fatahinia, M., Poormohamadi, F., & Mahmoudabadi, A. Z. (2015)**. Comparative study of esterase and hemolytic activities in clinically important *Candida* species, isolated from oral cavity of diabetic and non-diabetic individuals. *Jundishapur journal of microbiology*, 8(3).
33. **Ferreira, J. A. G., Carr, J. H., Starling, C. E. F., De Resende, M. A., & Donlan, R. M. (2009)**. Biofilm formation and effect of caspofungin on biofilm structure of *Candida* species bloodstream isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(10), 4377-4384.
34. **Furlaneto, M. C., Góes, H. P., Perini, H. F., Dos Santos, R. C., & Furlaneto-Maia, L. (2018)**. How much do we know about hemolytic capability of pathogenic *Candida* species?. *Folia microbiologica*, 63(4), 405-412.
35. **Galdiero, E., Salvatore, M. M., Maione, A., Alteriis, E. D., Andolfi, A., Salvatore, F., & Guida, M. (2021)**. GC-MS-Based Metabolomics Study of Single-and Dual-Species Biofilms of *Candida albicans* and *Klebsiella pneumoniae*. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3496.
36. **Ghannoum, M. A. (2000)**. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clinical microbiology reviews*, 13(1), 122-143.
37. **Gómez-Gaviria, M., & Mora-Montes, H. M. (2020)**. Current Aspects in the Biology, Pathogeny, and Treatment of *Candida krusei*, a Neglected Fungal Pathogen. *Infection and Drug Resistance*, 13, 1673.
38. **Gow, N. A., Van De Veerdonk, F. L., Brown, A. J., & Netea, M. G. (2012)**. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nature reviews microbiology*, 10(2), 112-122.

39. **Guarana, M., & Nucci, M. (2018).** Acute disseminated candidiasis with skin lesions: a systematic review. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(3), 246-250.
40. **Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016).** Candida albicans biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and infection*, 18(5), 310-321.
41. **Hashash, R., Younes, S., Bahnan, W., El Koussa, J., Maalouf, K., Dimassi, H. I., & Khalaf, R. A. (2011).** Characterisation of Pgal1, a putative Candida albicans cell wall protein necessary for proper adhesion and biofilm formation. *Mycoses*, 54(6), 491-500.
42. **Hellstein, J. W., & Marek, C. L. (2019).** Candidiasis: red and white manifestations in the oral cavity. *Head and neck Pathology*, 13(1), 25-32.
43. **Hernández-Chávez, M. J., Pérez-García, L. A., Niño-Vega, G. A., & Mora-Montes, H. M. (2017).** Fungal strategies to evade the host immune recognition. *Journal of Fungi*, 3(4), 51.
44. **Höfs, S., Mogavero, S., & Hube, B. (2016).** Interaction of Candida albicans with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. *Journal of microbiology*, 54(3), 149-169.
45. **Hoyer, L. L., & Cota, E. (2016).** Candida albicans agglutinin-like sequence (Als) family vignettes: a review of Als protein structure and function. *Frontiers in microbiology*, 7, 280.
46. **Jasim, S. T., Flayyih, M. T., & Hassan, A. A. (2016).** Isolation and identification of Candida spp. from different clinical specimens and study the virulence factors. *World J Pharm Pharmaceut Sci*, 5(7), 121-37.
47. **Jouault, T., Ibata-Ombetta, S., Takeuchi, O., Trinel, P. A., Sacchetti, P., Lefebvre, P., ... & Poulain, D. (2003).** Candida albicans phospholipomannan is sensed through toll-like receptors. *The Journal of infectious diseases*, 188(1), 165-172.
48. **Junqueira, J. C., Vilela, S. F., Rossoni, R. D., Barbosa, J. O., Costa, A. C. B., Rasteiro, V., ... & Jorge, A. O. C. (2012).** Oral colonization by yeasts in HIV-positive patients in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 54(1), 17-24.
49. **Kadry, A. A., El-Ganiny, A. M., & El-Baz, A. M. (2018).** Relationship between Sap prevalence and biofilm formation among resistant clinical isolates of Candida albicans. *African health sciences*, 18(4), 1166-1174.
50. **Kallel, A., Rabhi, I., Abdellatif, S., Bellakhal, S., Ladeb, S., Ben-Hassen, A., ... & Kallel, K. (2016).** Complexe Candida parapsilosis: résultats préliminaires de l'identification moléculaire de 26 souches. *Journal de Mycologie Médicale*, 26(1), 67.
51. **Kaur, R., Domergue, R., Zupancic, M. L., & Cormack, B. P. (2005).** A yeast by any other name: Candida glabrata and its interaction with the host. *Current opinion in microbiology*, 8(4), 378-384.

52. **Khedidja, B., & Abderrahman, L. (2011).** Selection of orlistat as a potential inhibitor for lipase from *Candida* species. *Bioinformation*, 7(3), 125.
53. **Kullberg, B. J., & Arendrup, M. C. (2015).** Invasive candidiasis. *New England Journal of Medicine*, 373(15), 1445-1456.
54. **Kumar, C. G., Kumar, S. S. J., & Menon, T. (2006).** Phospholipase and proteinase activities of clinical isolates of *Candida* from immunocompromised patients. *Mycopathologia*, 161(4), 213-218.
55. **Lan, Y. B., Huang, Y. Z., Qu, F., Li, J. Q., Ma, L. J., Yan, J., & Zhou, J. H. (2017).** Time course of global gene expression alterations in *Candida albicans* during infection of HeLa cells. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 17(2), 120.
56. **Lewis, M. A. O., & Williams, D. W. (2017).** Diagnosis and management of oral candidosis. *British dental journal*, 223(9), 675-681.
57. **Li, F., Svarovsky, M. J., Karlsson, A. J., Wagner, J. P., Marchillo, K., Oshel, P., ... & Palecek, S. P. (2007).** Eap1p, an adhesin that mediates *Candida albicans* biofilm formation in vitro and in vivo. *Eukaryotic cell*, 6(6), 931-939.
58. **Lin, K., & Takashima, M. (2020).** Obstructive Sleep Apnea. In *Conn's Current Therapy 2021*. Elsevier.
59. **Luo, G., Samaranayake, L. P., & Yau, J. Y. (2001).** *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *Journal of clinical microbiology*, 39(8), 2971-2974.
60. **Maubon, D., Garnaud, C., Calandra, T., Sanglard, D., & Cornet, M. (2014).** Resistance of *Candida* spp. to antifungal drugs in the ICU: where are we now?. *Intensive care medicine*, 40(9), 1241-1255.
61. **Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013).** *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119-128.
62. **Mohammadi, R., Mirshekar, M., & Emami, M. H (2019).** In vitro antifungal susceptibility pattern of *Candida* species isolated from gastroesophageal candidiasis. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*.
63. **Naglik, J. R., Challacombe, S. J., & Hube, B. (2003).** *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(3), 400-428.
64. **Nami, S., Mohammadi, R., Vakili, M., Khezripour, K., Mirzaei, H., & Morovati, H. (2019).** Fungal vaccines, mechanism of actions and immunology: a comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 333-344.

65. Netea, M. G., Brown, G. D., Kullberg, B. J., & Gow, N. A. (2008). An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nature Reviews Microbiology*, 6(1), 67-78.
66. Nicholls, S., MacCallum, D. M., Kaffarnik, F. A., Selway, L., Peck, S. C., & Brown, A. J. (2011). Activation of the heat shock transcription factor Hsf1 is essential for the full virulence of the fungal pathogen *Candida albicans*. *Fungal Genetics and Biology*, 48(3), 297-305.
67. Noble, S. M., Gianetti, B. A., & Witchley, J. N. (2017). *Candida albicans* cell-type switching and functional plasticity in the mammalian host. *Nature Reviews Microbiology*, 15(2), 96.
68. Noble, S. M., Gianetti, B. A., & Witchley, J. N. (2017). *Candida albicans* cell-type switching and functional plasticity in the mammalian host. *Nature Reviews Microbiology*, 15(2), 96.
69. Odds, F. C. (2001). *Candida and candidosis: a review and bibliography*. Bailliere Tindall.
70. Pammi, M., Holland, L., Butler, G., Gacser, A., & Bliss, J. M. (2013). *Candida parapsilosis* is a significant neonatal pathogen: a systematic review and meta-analysis. *The Pediatric infectious disease journal*, 32(5), e206.
71. Pandey, N., Gupta, M. K., & Tilak, R. (2018). Extracellular hydrolytic enzyme activities of the different *Candida* spp. isolated from the blood of the Intensive Care Unit-admitted patients. *Journal of laboratory physicians*, 10(4), 392.
72. Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D. R., Clancy, C. J., Marr, K. A., Ostrosky-Zeichner, L., ... & Sobel, J. D. (2016). Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 62(4), e1-e50.
73. Pappas, P. G., Lionakis, M. S., Arendrup, M. C., Ostrosky-Zeichner, L., & Kullberg, B. J. (2018). Invasive candidiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1-20.
74. Paraje, M. G., Correa, S. G., Renna, M. S., Theumer, M., & Sotomayor, C. E. (2008). *Candida albicans*-secreted lipase induces injury and steatosis in immune and parenchymal cells. *Canadian journal of microbiology*, 54(8), 647-659.
75. Parasitologie-Mycologie, A. (2014). Association française des enseignants de Parasitologie.
76. Poissy, J. (2015). Physiopathologie des candidoses invasives. *Réanimation*, 24(3), 318-327.
77. Rammaert, B., Desjardins, A., & Lortholary, O. (2012). New insights into hepatosplenic candidosis, a manifestation of chronic disseminated candidosis. *Mycoses*, 55(3), e74-e84.
78. Ravichandran, S., & Muthuraman, S. (2016). Examining the anti-candidal activity of 10 selected Indian herbs and investigating the effect of *Lawsonia inermis* extract on germ tube formation, protease, phospholipase, and aspartate dehydrogenase enzyme activity in *Candida albicans*. *Indian journal of pharmacology*, 48(1), 47.

79. **Robertson, K. D., Nagra, N., & Mehta, D. (2020).** Esophageal Candidiasis. *StatPearls [Internet]*.
80. **Rossoni, R. D., Barbosa, J. O., Vilela, S. F. G., Jorge, A. O. C., & Junqueira, J. C. (2013).** Comparison of the hemolytic activity between *C. albicans* and non-*albicans* *Candida* species. *Brazilian oral research*, 27(6), 484-489.
81. **Ruiz-Herrera, J., Victoria Elorza, M., Valentín, E., & Sentandreu, R. (2006).** Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS yeast research*, 6(1), 14-29.
82. **Sakagami, T., Kawano, T., Yamashita, K., Yamada, E., Fujino, N., Kaeriyama, M., ... & Mikamo, H. (2019).** Antifungal susceptibility trend and analysis of resistance mechanism for *Candida* species isolated from bloodstream at a Japanese university hospital. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 25(1), 34-40.
83. **Sanitá, P. V., Zago, C. E., de Oliveira Mima, E. G., Pavarina, A. C., Jorge, J. H., Machado, A. L., & Vergani, C. E. (2014).** In vitro evaluation of the enzymatic activity profile of non-*albicans* *Candida* species isolated from patients with oral candidiasis with or without diabetes. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 118(1), 84-91.
84. **Sardi, J. C. O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A. M., & Giannini, M. M. (2013).** *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of medical microbiology*, 62(1), 10-24.
85. **Shields, R. K., Kline, E. G., Healey, K. R., Kordalewska, M., Perlin, D. S., Nguyen, M. H., & Clancy, C. J. (2019).** Spontaneous mutational frequency and FKS mutation rates vary by echinocandin agent against *Candida glabrata*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(1), e01692-18.
86. **Shirani, M., Samimi, A., Kalantari, H., Madani, M., & Zanganeh, A. K. (2017).** Chemical composition and antifungal effect of hydroalcoholic extract of *Allium tripedale* (Tvautv.) against *Candida* species. *Current medical mycology*, 3(1), 6.
87. **Spampinato, C., & Leonardi, D. (2013).** *Candida* infections, causes, targets, and resistance mechanisms: traditional and alternative antifungal agents. *BioMed research international*, 2013.
88. **Sparber, F., & LeibundGut-Landmann, S. (2019).** Interleukin-17 in antifungal immunity. *Pathogens*, 8(2), 54.
89. **Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021).** *Candida albicans*—The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *Journal of Fungi*, 7(2), 79.

90. **Tóth, A., Németh, T., Csonka, K., Horváth, P., Vágvölgyi, C., Vizler, C., ... & Gácsér, A. (2014).** Secreted *Candida parapsilosis* lipase modulates the immune response of primary human macrophages. *Virulence*, 5(4), 555-562.
91. **Trinel, P. A., Delplace, F., Maes, E., Zanetta, J. P., Mille, C., Coddeville, B., ... & Poulain, D. (2005).** *Candida albicans* serotype B strains synthesize a serotype-specific phospholipomannan overexpressing a β -1, 2-linked mannotriose. *Molecular microbiology*, 58(4), 984-998.
92. **Tsai, P. W., Chen, Y. T., Hsu, P. C., & Lan, C. Y. (2013).** Study of *Candida albicans* and its interactions with the host: a mini review. *BioMedicine*, 3(1), 51-64.
93. **Tsang, C. S. P., Chu, F. C. S., Leung, W. K., Jin, L. J., Samaranayake, L. P., & Siu, S. C. (2007).** Phospholipase, proteinase and haemolytic activities of *Candida albicans* isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of medical microbiology*, 56(10), 1393-1398.
94. **Tsui, C., Kong, E. F., & Jabra-Rizk, M. A. (2016).** Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *FEMS Pathogens and Disease*, 74(4), ftw018.
95. **Viana, R., Dias, O., Lagoa, D., Galocha, M., Rocha, I., & Teixeira, M. C. (2020).** Genome-scale metabolic model of the human pathogen *Candida albicans*: a promising platform for drug target prediction. *Journal of Fungi*, 6(3), 171.
96. **Wan, L., Luo, G., Lu, H., Xuan, D., Cao, H., & Zhang, J. (2015).** Changes in the hemolytic activity of *Candida* species by common electrolytes. *BMC microbiology*, 15(1), 1-7.
97. **Whibley, N., Jaycox, J. R., Reid, D., Garg, A. V., Taylor, J. A., Clancy, C. J., ... & Gaffen, S. L. (2015).** Delinking CARD9 and IL-17: CARD9 protects against *Candida tropicalis* infection through a TNF- α -dependent, IL-17-independent mechanism. *The Journal of Immunology*, 195(8), 3781-3792.
98. **Wibawa, T. (2016).** The role of virulence factors in *Candida albicans* pathogenicity. *Journal of medical science*, 48(1), 58-68.
99. **Williams, D., Silva, S. C., Malic, S., Kuriyama, T., & Lewis, M. A. (2012).** *Candida* biofilms and oral candidosis: treatment and prevention.
100. **Wolf, R., Oumeish, O. Y., & Parish, L. C. (2011).** Intertriginous eruption. *Clinics in dermatology*, 29(2), 173-179.
101. **Yang, L., Liu, X., Zhong, L., Sui, Y., Quan, G., Huang, Y., ... & Ma, T. (2018).** Dioscin inhibits virulence factors of *Candida albicans*. *BioMed research international*, 2018.

