



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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à
L'Environnement « LAMAABE »

MEMOIRE

Présenté par :

Benseddik Imane & Torchi Amina

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Microbiologie et Contrôle de qualité

Thème

Effet antifongique des micronutriments

Soutenu le : 10/06/2024 devant le jury composé de :

Présidente	Boudghene Stambouli Amina	Docteur MCA	U. de Tlemcen
Encadrant	M'Hamedi Imane	Docteur MCA	U. de Tlemcen
Examinatrice	Bouali Waffa	Docteur MCA	U. de Tlemcen

Année universitaire 2023-2024

ملخص

اليوم، أصبح انتشار مقاومة مضادات الفطريات أحد التهديدات الرئيسية للصحة العالمية. تسلط هذه الظاهرة الضوء على أهمية تطوير منتجات جديدة فعالة، مثل الفيتامينات، للحد من مخاطر فشل العلاج. في هذا السياق، كان هدفنا تقييم النشاط المضاد للفطريات لفيتامين د وفيتامين ب 12 ضد ثلاث سلالات مرجعية من أصل فطري. تم إجراء ذلك باستخدام طريقة الانتشار الآجار. وفقاً للنتائج، لم يلاحظ أي نشاط مع سلالات المبيضات البيضاء هذه. لذلك من الضروري تسليط الضوء على هذا الموضوع من أجل تطويره أكثر في المستقبل.

الكلمات المفتاحية: المقاومة، النشاط المضاد للفطريات، فيتامين ب 12، فيتامين د، المبيضات البيضاء.

Résumé

De nos jours, la dissémination de la résistance aux antifongiques est devenue l'une des principales menaces pour la santé mondiale. Ce phénomène met en évidence l'importance de développer de nouveaux produits efficaces, tels que les vitamines pour réduire le risque d'échec thérapeutique. Dans ce contexte, notre but est d'évaluer l'activité antifongique de la Vit D et de la Vit B12 vis-à-vis de trois souches de référence d'origine fongique. Cela a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Selon les résultats aucune activité n'a été observée avec ses souches de *Candida albicans*. Il est donc essentiel de mettre en évidence ce sujet afin de le développer davantage en cours.

Mots clés: Résistance, l'activité antifongique, Vitamine B12, Vitamine D, *Candida albicans*.

Summary

Today, the spread of antifungal resistance has become one of the major threats to global health. This phenomenon highlights the importance of developing new effective products, such as vitamins, to reduce the risk of therapeutic failure. In this context, our aim was to evaluate the antifungal activity of vitamin D and vitamin B12 against three reference strains of fungal origin. This was carried out using the agar diffusion method. According to the results, no activity was observed with these *Candida albicans* strains. It is therefore essential to highlight this subject in order to develop it further in the future.

Key words: Resistance, the antifungal activity, Vitamin B12, Vitamin D, *Candida albicans*.

Remerciements

Nous souhaitons exprimer nos profondes gratitude et respectueuses reconnaissances à notre directrice de mémoire, madame M'HAMEDI Imane, maître de conférences classe A au département de biologie, pour avoir accepté de nous encadrer. Nous vous remercions mille fois pour son soutien, sa gentillesse, ses encouragements et ses conseils tout au long du temps que vous nous avez accordé. Nous espérons que la confiance que vous nous avez témoignée est à la hauteur de vos espérances.

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury, notamment madame Boudghene Stambouli Amina, maître de conférences classe A au département de biologie, pour avoir assuré la présidence du jury, ainsi que madame Bouali Waffa, maître de conférences classe A au département de biologie, pour l'honneur qu'elles nous ont fait en acceptant de participer à notre soutenance.

Nos hommages respectueux et nos remerciements vont à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation, ainsi qu'à l'équipe du laboratoire de microbiologie LAMAABE, qui a mis à notre disposition tous les moyens nécessaires au bon déroulement de notre travail.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier avec fierté ce travail à :

Mon adorable mère pour son soutien et ses encouragements: Merci maman

À mon cher père pour ses sacrifices, ses conseils et ses encouragements.

À ma sœur unique Asmaa (je t'aime beaucoup).

À mes frères (Mohammed et Younes) merci d'avoir toujours été là pour moi dans les moments difficiles comme dans les bons moments.

À toute la famille Torchi et Ghermoul, votre soutien m'a été précieux.

Mes amis et camarades de promotion

Aussi beaucoup d'autres personnes que je n'ai pas eu l'occasion de les mentionner. Ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

À la doctorante Douili Zahra pour son encouragement, sa gentillesse et son aide précieux.

À mon binôme Imane qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.

À tous ceux qui m'aiment, à tous ceux que j'aime.

Amina.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier avec fierté ce travail à :

Mes chers parents, quoi que je dise ou que je fasse, je n'arrivai jamais à vous remercier comme il se doit. C'est grâce à vos encouragements, vos bienveillances et votre présence à mes côtés, que j'ai réussi ce respectueux parcours. Je souhaite que vous soyez fière de moi, et que j'ai pu répondre aux espoirs que vous avez fondé en moi.

À mon cher fiancé Ayoub, je vous remercie pour son soutien moral, sa confiance et ses conseils précieux, qui m'ont aidée dans les moments difficiles.

À mes sœurs Sihem et Nihed et mon frère Housseem, pour leurs encouragements et leurs soutien. Je vous souhaite le bonheur et la réussite dans vos vies.

À ma famille et mes copines, pour leurs mots d'encouragement et leur gentillesse.

À la doctorante Douili Zahra pour son encouragement, sa gentillesse et son aide

À mon binôme Amina qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail

Imane.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Partie bibliographique	3
Chapitre 01: Les vitamines.....	4
1. Généralités sur les vitamines	5
1.1. Découverte	5
2. La vitamine B12	5
2.1. Définition de vitamine B12	5
2.2. Structure de la vitamine B12	6
2.3. Origines et sources alimentaires	7
2.4. Métabolisme	8
2.4.1. Absorption	8
2.4.2. Transport	9
2.4.3. Stockage et élimination	10
2.5. Mécanisme d'action	10
2.6. Rôles.....	10
3. La "vitamine D"	11
3.1. Définition	11
3.2. Structure	11
3.3 Origines et sources	12
3.4. Métabolisme de vitamine D.....	12

3.5. Catabolisme	13
3.6. Rôle	13
Chapitre 02: Pathologie et vitamines.....	15
1. Notion de carence et hypervitaminose	16
1.1. Notion de carence	16
1.2. Hypervitaminose	16
2. Infections bactériennes	17
2.1. La colonisation bactérienne chronique de l'intestin grêle	17
2.2. Tuberculose	17
3.2. Vaginose bactérienne.....	18
2.4. Infection à staphylococcus aureus	18
2.5. Les pneumopathies	18
3. Infections virales	19
3.1. Covide 19	19
3.2. VIH.....	19
Chapitre 03: <i>Candida albicans</i>.....	20
1. Définition et classification.....	21
2. Morphologie	22
3. Habitat	22
4. Facteurs de virulence de <i>candida albicans</i>	22
5. Infections dues à <i>candida albicans</i>	23
5.1. Facteurs de risque	23
5.2. Les types de candidoses	24
5.2.1. Candidoses superficielles	24

5.2.2. Les candidoses profondes (systémique)	25
Matériel et méthodes	26
1. Le lieu d'étude	27
2. Les vitamines utilisées.....	27
3. Les souches de référence utilisées	27
4. Revivification des souches	28
5. Conservation des souches.....	28
6. L'évaluation de l'effet antifongique	28
6.1. Néo-Sensitabs	28
Résultats et discussion	30
1. L'aspect macroscopique des souches utilisées	31
2. Résultats de diffusion sur gélose	31
Conclusion et perspectives	34
Annexes	36
Bibliographie	38

Liste des abréviations

- ADN:** Acide désoxyribonucléique
- AdoCbl:** Adénosylcobalamine
- ARN:** Acide ribonucléique
- ATCC:** American Type Culture Collection
- BHIB:** Bouillon Cœur-Cerveille (Brain Heart Infusion)
- BK:** *Bacille* de Koch
- CMF:** Concentration minimale fongistatique
- CMFC:** Concentration minimale fongicide
- CH3:** Méthyl
- CN:** Cyanique (cyanure)
- CVV:** Candidose vulvo-vaginale
- CYP2R1:** Cytochrome P450 2R1
- CYP24:** Cytochrome
- P-450 CYP27B1:** Cytochrome p450 27
- B1DBP:** Binding Protein
- DMB:** Diméthylbenzimidazole
- FI:** Facteur intrinsèque
- FI-B12:** Facteur intrinsèque -vitamine B12
- FGF23:** Facteur de croissance des fibroblastes 23
- HWp1P:** Hyphalwallprotein
- IFN- γ :** Interféron- γ
- GN:** Gélose nutritive
- MéCbl:** Méthylcobalamine
- Méthyl THF:** Méthyltétrahydrofolate
- Nys:** Nystatine
- OH:** Hydroxyl
- 25(OH)D3:** Formation de 25-hydroxyvitamine D3
- Saps:** Aspartyl protéinases
- SARM:** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline
- THF:** Tétrahydrofolate
- VB:** Vaginose bactérienne

Vit B12: Vitamine B 12

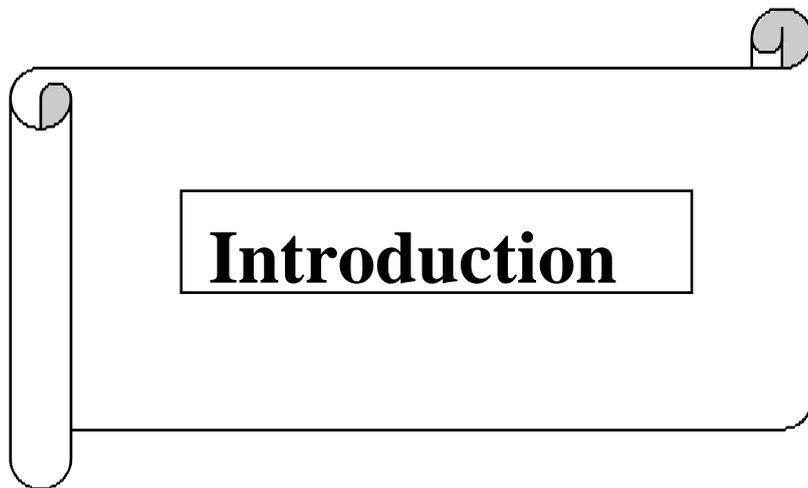
Vit D: vitamine D

Liste des figures

Figure 1: La structure chimique de cobalamine	6
Figure 2: Absorption de la vitamine B12 par le système de facteur intrinsèque-dépendant.....	9
Figure 3: Transport de la vitamine B12	10
Figure 4 : Structure moléculaire de la vitamine D2 et D3.....	12
Figure 5: Métabolisme de vitamine D.....	13
Figure 6: Aspect typique de <i>Candida albicans</i>	21
Figure 7: Les formes génériques de la Vit B12 et de la Vit D	27
Figure 8: L'aspect macroscopique des colonies de <i>Candida albicans</i>	31
Figure 9: Résultats d'activité antifongique	33

Liste des tableaux

Tableau 1: Teneurs en vitamine B12 des produits d'origine animale (en µg/100g de fraction comestible fraîche)	7
Tableau 2: Classification selon la reproduction asexuée de <i>Candida albicans</i>	21
Tableau 3: Les souches de référence utilisées dans l'étude	27
Tableau 4: Concentration des vitamines utilisées	29
Tableau 5: Résultats d'activité antifongique des souches testées	33



Introduction

Les infections fongiques provoquent environ 1,7 million de décès par an dans le monde, *Candida albicans* est le principal agent causal de la candidose et des infections fongiques (Macias-Paz et al., 2023). Puis qu'elle *Candida albicans* est classé comme un pathogène fongique opportuniste qui existe sous forme d'agent commensal inoffensif dans les voies gastro-intestinales et génito-urinaires (Anaul Kabir et al., 2012). Il est hautement adaptable, permettant la transition du commensal au pathogène en raison d'un répertoire de facteurs de virulence. Plus précisément, il possède la capacité de changer de morphologie et de former des biofilms (Pereira et al., 2021). En effet, en tant qu'agent pathogène opportuniste, chaque fois que le statut immunitaire de l'hôte ou son microbiote est perturbé, il peut provoquer une colonisation étendue des muqueuses et des maladies locales ou systémiques (Costa-de- Oliveira et Rodrigues, 2020).

L'émergence de la résistance des *Candida* aux antifongiques, associée à l'efficacité limitée des médicaments antifongiques actuels sur le marché soulignent l'importance du développement de nouveaux agents antifongiques pour la prise en charge de ces infections. À cet égard, des micronutriments tels que des vitamines, en tant que facteurs essentiels peuvent être envisagés pour améliorer la fonction du système immunitaire et accélérer la procédure de traitement (Fariba et al., 2022). Des carences en ces vitamines peuvent altérer la fonction immunitaire et augmenter la susceptibilité aux infections et aux maladies chroniques (Yaming, 2023). Il est de plus en plus reconnu que la vitamine B12 et la vitamine D jouent un rôle important dans le fonctionnement du système immunitaire.

Il n'existe cependant aucune étude sur l'activité directe de ces vitamines sur les micro-organismes, dont *C. Albicans*. Ce qui a suscité l'intérêt de cette étude qui a pour objectif, d'évaluer l'activité antifongique de la Vit B12 et de la Vit D vis-à-vis de *Candida albicans*.

Ce travail est divisé en trois parties :

- Une première partie bibliographique comprenant trois chapitres, un chapitre présentant des généralités sur les vitamines B12 et la vitamine D, un deuxième chapitre décrivant les pathologies associées aux carences et à l'hypervitaminose de celle-ci. Enfin, un troisième chapitre consacré à l'espèce de *Candida albicans*.
- Une deuxième partie, expérimentale exposant le matériel et les méthodes utilisées, ainsi que les résultats obtenus de cette étude.

Partie bibliographique

Chapitre 01: Les vitamines

1. Généralités sur les vitamines

Les vitamines sont des substances organiques, indispensables au bon fonctionnement de l'organisme, car elles interviennent dans de nombreux métabolismes. Ces substances n'ont pas de valeur énergétique propre (Aziz et Tebani, 2010). Il existe treize familles de molécules répondant à cette définition et pouvant être classées en deux groupes en fonction de leur solubilité: les vitamines hydrosolubles qui sont au nombre de neuf (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12, et C) et les vitamines liposolubles au nombre de quatre (A, D, E, K). L'absence ou manque relatif de vitamines dans l'alimentation est à l'origine d'états de carence spécifiques et de maladies (Benattalah, 2021).

1.1. Découverte

Le premier quart du Xxe siècle fut le temps des vitamines, regroupant 13 substances découvertes les unes après les autres. Elles furent classées selon une nomenclature proposée par Jack Drummond, désignant par une lettre de l'alphabet (Schlienger et Monnier, 2011), cette découverte a constitué une avancée scientifique majeure dans notre compréhension de la santé et de la maladie (Semba, 2012). En 1912, Casimir Funk a isolé un concentré de riz poli qui a guéri la polynévrite chez les pigeons. Il a nommé le concentré « vitamine » parce qu'il semblait vital à la vie et parce qu'il s'agissait probablement d'une amine (Rosenfeld, 1997). Ensuite, Elmer V. Mc Collum et Marguerite Davis ont découvert la vitamine A entre 1912 et 1914. En 1913, les chercheurs de Yale, Thomas Osborne et Lafayette Mendel, ont découvert que le beurre contenait un nutriment liposoluble bientôt connu sous le nom de vitamine A (Bellis, 2018). Puis l'évolution s'accélère dans les années 1930 avec l'identification de l'ergocalciférol ou vitamine D2 obtenu par irradiation de l'ergostérol végétal, et la synthèse du cholécalciférol ou vitamine D3 par Windaus (Mallet, 2014). Entre 1923 et 1948, les folates furent découverts, les vitamines C, E et K, ainsi que des vitamines B hydrosolubles supplémentaires telles que la riboflavine, l'acide pantothénique, la biotine, la folacine et la vitamine B1 (Lee et Dowell, 2013). La vitamine B12 a été la dernière à être identifiée en 1948 par le biochimiste américain Karl Folkers et ses collègues; ils ont réussi à l'isoler à partir de concentrés de foie (Msihid, 2017).

2. La vitamine B12

2.1. Définition de vitamine B12

La cobalamine ou vitamine B12 est une vitamine hydrosoluble la plus complexe synthétisée par des micro-organismes (Hannibal et Jacobsen, 2022). Sa structure chimique

est proche de l'hème, l'atome central de fer étant remplacé par un atome de cobalt, d'où son nom (Guéant et Covi, 2007).

Elle peut se trouver sous forme cyanocobalamine, hydroxycobalamine, méthylcobalamine et adénosylcobalamine; ces deux dernières formes sont photosensibles. Elle existe sous forme de poudre cristalline ou de cristaux de couleur rouge foncé, due au cobalt (Ghemrawi, 2018).

2.2. Structure de la vitamine B12

La cobalamine est une macromolécule qui possède un noyau corrinoïde tétrapyrrolique avec un atome central de cobalt (acide cobyrique) liés par des ligands axiaux supérieur (R) et inférieur (R') (Charlotte, 2019) (figure 01).

Le groupement pseudo-nucléotidique diméthylbenzimidazole (DMB) présente l'étage inférieur ou le groupe imidazole est relié au cobalt et le phosphate à l'un des noyaux pyrroles (Jardy, 2000). La partie supérieure se lie à l'atome de cobalt, donnant quatre types de cobalamines selon la nature du ligand fixé: un groupement cyanique (cyanure) (-CN) pour cyanocobalamine, un groupement hydroxyle (-OH) pour hydroxycobalamine, un groupement méthyle (-CH₃) pour méthylcobalamine, un résidu 5'-deoxyadénosyl pour l'adénosylcobalamine (Hiolle, 2019).

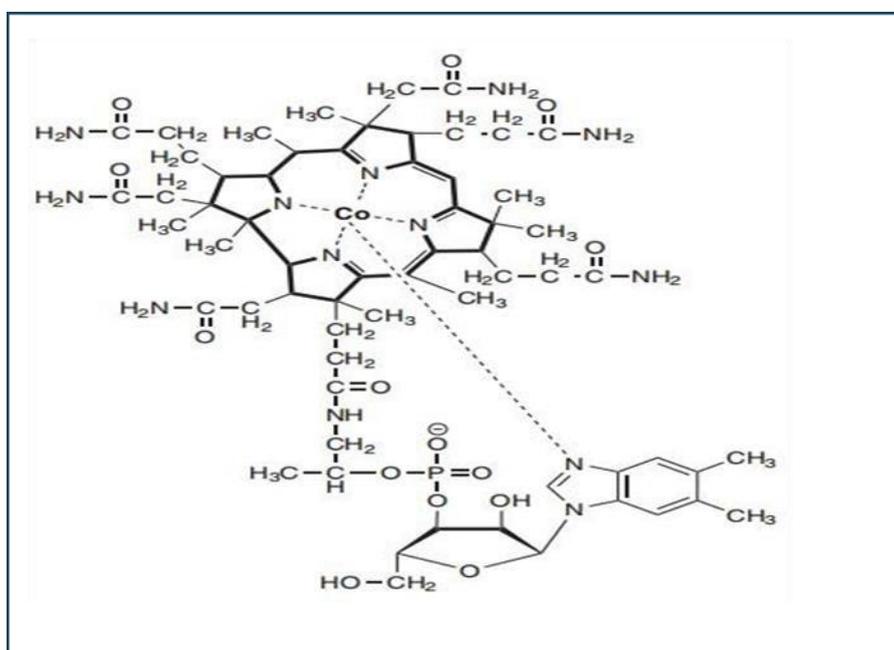


Figure 1: La structure chimique de cobalamine (Gibney et al., 2009).

2.3. Origines et sources alimentaires

Les sources riches en vitamine B12 sont des aliments d'origine animale tels que les viandes, le foie, les poissons, les œufs et les produits laitiers (Tableau 01). Par contre les aliments d'origine végétale sont dépourvus de cobalamine (O'Leary et Samman, 2010).

Les espèces des genres suivants sont connues pour synthétiser de la B12: *Acetobacterium*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Lactobacilles*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Propionibacterium*, *Protaminobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella*, *Serratia*, *Streptomyces*, *Streptocoques* et *Xanthomonas* (Bouabdallah, 2019).

Tableau 1: Teneurs en vitamine B12 des produits d'origine animale (en µg/100g de fraction comestible fraîche) (Dreistadt, 2019).

Aliments		Teneurs (µg/100g)
Viandes	bœuf	1.0
	Veau	1.5
	Poulet	0.6
Abats	Foie bœuf	80
	Foie veau	60
	Rognon bœuf	30
	Rognon veau	25
Poissons et fruits de mer	Albacore	0.15
	Anguille	1
	Sardine	10
	Thon	3
Produits laitiers	Lait de ferme	0.4
	Lait de vache	0.5
	Lait de chèvre	0.1
Fromages	Frais	1
	Camembert	1.5
Œuf	Entier	2

2.4. Métabolisme

Le parcours métabolique de la vitamine B12 dans le corps humain est complexe et malcompris, décrit comme suit (Figures 02 et 03).

2.4.1. Absorption

L'absorption intestinale de la cobalamine se fait en plusieurs étapes, mais dont les défauts peuvent entraîner une diminution ou une absence d'absorption de la cobalamine alimentaire (Agostoni et *al.*, 2015). Elle dépend de deux systèmes distincts :

Le système facteur intrinsèque-dépendant: lors de l'ingestion, la cobalamine se lie à des protéines alimentaires sous forme adénosylcobalamine (d'AdoCbl) et de méthylcobalamine (MéCbl), libérée sous l'influence de suc gastrique à l'acide chlorhydrique et à la pepsine, puis se lie aux haptocorrines dans le duodénum (Ghemrawi, 2018). La vitamine B12 se lie alors au facteur intrinsèque (FI), qui est une glycoprotéine produite par les cellules pariétales de muqueuse gastrique, cette liaison forme un complexe FI-B12 qui est absorbé au niveau d'iléon. Ce système est saturable (Dreistadt, 2019).

Le système indépendant du facteur intrinsèque: c'est une diffusion passive impliquée tout au long du trac digestif, n'est valable que lorsque des doses importantes de vitamine se trouvent dans la lumière intestinale. Ce mécanisme est insuffisant et insaturable, qui permet l'absorption seulement de 1% de vitamine B 12 (Jardy, 2000).

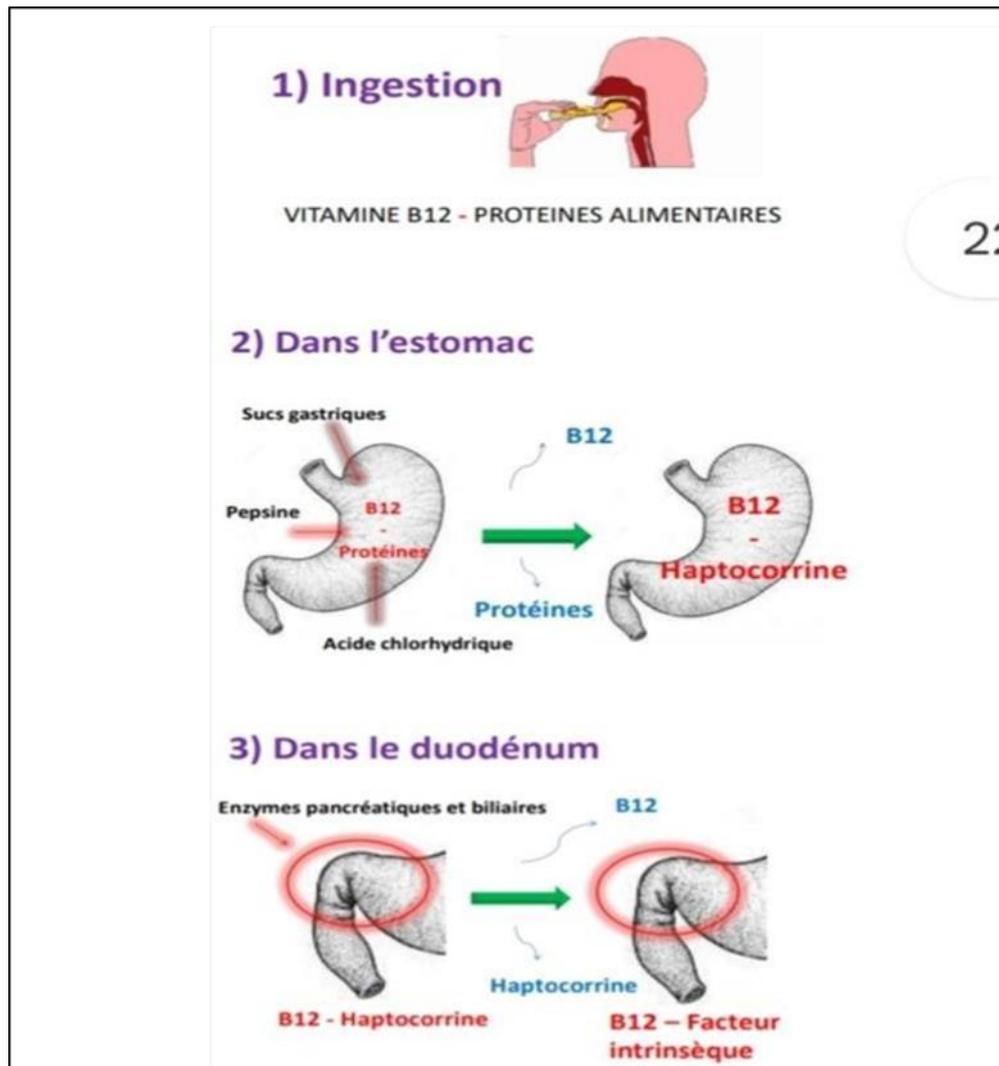


Figure 2: Absorption de la vitamine B12 par le système de facteur intrinsèque-dépendant (Dreistadt, 2019).

2.4.2. Transport

Au niveau du sang, la cobalamine est liée à trois types de protéines de transport appelées les transcobalamines: les transcobalamines I sont utilisées pour le stockage de vitamine B12, les transcobalamines II jouent un rôle dans leur pénétration dans les cellules cibles et leur transport intracellulaire, tandis que les transcobalamines III dont les fonctions restent encore inconnus (Preynat, 2009).

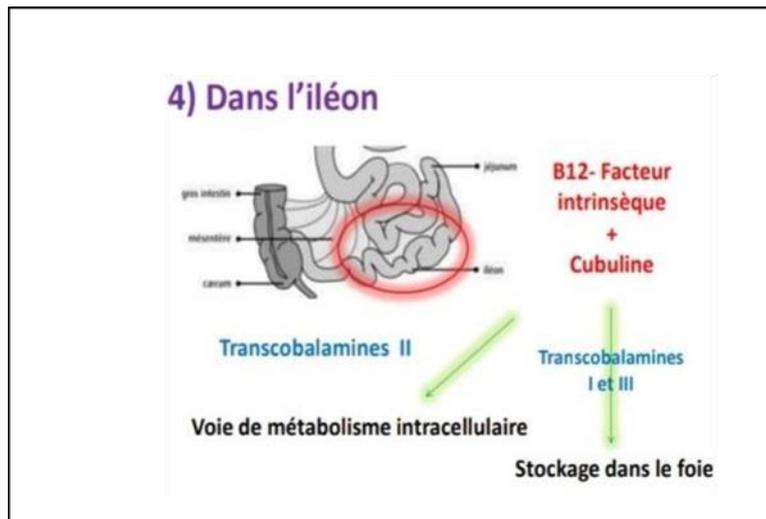


Figure 3: Transport de la vitamine B12 (Dreistadt, 2019)

2.4.3. Stockage et élimination

La vitamine B12 est stockée en grandes quantités, principalement dans le foie, jusqu'à ce que l'organisme en ait besoin. Si une personne cesse de consommer cette vitamine, les réserves de l'organisme prennent généralement de 3 à 5 ans pour s'épuiser (Johnson, 2022), puis elle sont éliminées dans la bile, les urines, les diverses sécrétions et les desquamations (Saadi, 2015). La demi-vie de la vitamine B12 dans l'organisme est environ un an (Guéant et Covi, 2007).

2.5. Mécanisme d'action

La cobalamine possède des formes actives impliquées en tant que coenzyme au niveau mitochondrial et cytoplasmique. En effet au niveau mitochondrial, l'adénosylcobalamine permet la conversion du méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA, qui est un métabolite intermédiaire du cycle de Krebs et participant à la néoglucogenèse (Preynat, 2009). Cependant au niveau de cytoplasmique, la méthylcobalamine permet la conversion de l'homocystéine en méthionine et utilise des folates dans la synthèse des purines et des pyrimidines qui participent à la synthèse de l'ADN par conversion du méthyltétrahydrofolate (méthylTHF) en tétrahydrofolate (THF) (Guillerme, 2019).

2.6. Rôles

La vitamine B12 favorise la synthèse de l'ADN et de l'ARN, la formation des hématies,

ainsi qu'à la production des neurotransmetteurs qui transmettent des messages entre les cellules de système nerveux. Elle transforme les aliments en énergie ce qui est nécessaire au bon fonctionnement de l'organisme. Elle peut être considérée comme un traitement antianémique, qui aide à l'assimilation de l'acide folique (vitamine B 9) et peut être utilisé comme un antiallergique pour la disparition de symptômes allergiques en association avec à un antihistaminique. Elle participe également à la détoxification et aide l'organisme à éliminer les toxines accumulées au niveau du foie (Zubiria, 2018).

D'autre part, la vitamine B12 favorise le fonctionnement du système immunitaire par la production des leucocytes qui aident à combattre les infections. Une carence en vitamine B12 peut entraîner une immunodépression et rendre la lutte contre les infections plus dur pour l'organisme (Rousse, 2023).

3. La "vitamine D"

3.1. Définition

La vitamine D également appelée calciférol, est une vitamine liposoluble qui doit être considérée comme une pro-hormone de par sa similarité avec les hormones stéroïdes (Armande Ake, 2019). Elle existe sous deux formes: la première est la vitamine D2, dérivant d'un stérol végétal nommé ergocalciférol, elle peut être apportée par les médicaments lors d'une supplémentation en vitamine D. La deuxième forme est la vitamine D3 ou cholécalciférol, synthétisée au niveau de la peau après irradiation solaire du 7- déhydrocholestérol ou apportée par voie orale (alimentation ou médicaments) (Vivien, 2013).

3.2. Structure

La vitamine D est un composé polyphénolique cyclopentane associé aux stérols, classé comme vitamine liposoluble (Jiang et *al.*, 2020). Connue sous deux formes cholécalciférol (vit D3) et l'ergocalciférol (vit D2) qui sont chimiquement très proches. Ce sont des stéroïdes avec un noyau cyclo-pentano-phénanthrénique, mais l'ouverture du cycle B de ce noyau en position 9-10 en fait un sécostéroïde (Vatan, 2011). La principale différence se traduit par la présence d'un groupe méthyle en C24 et d'une double liaison sur la vitamine D2 en C22 (Figure 04) (Richard, 2016).

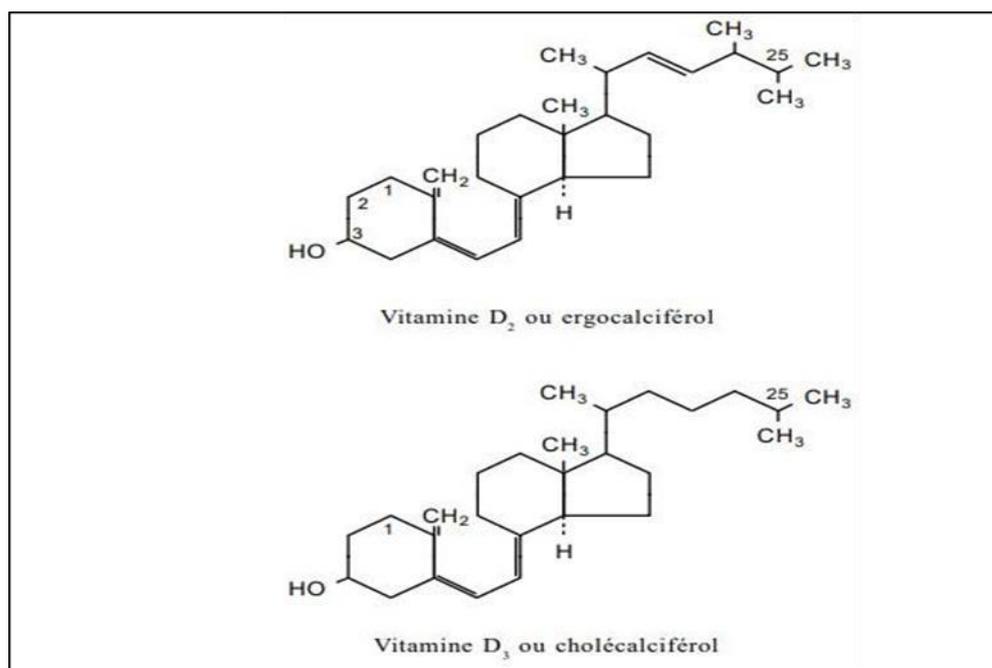


Figure 4 : Structure moléculaire de la vitamine D2 et D3 (Landrier et *al.*, 2014).

3.3 Origines et sources

Contrairement aux autres vitamines apportées uniquement par l'alimentation, la vitamine D possède une double origine (Aubry, 2019). Elle provient en majeure partie (les deux tiers environ) de synthèse endogène à partir du cholestérol au niveau des cellules des couches profondes de l'épiderme sous l'action des UV (Aziz et Tebani, 2010) et l'autre exogène, retrouvée dans les rares sources alimentaires animales telles que les poissons gras (hareng, saumon, sardine, anchois) et les œufs essentiellement (Nesty, 2016).

3.4. Métabolisme de vitamine D

La vitamine D (D2 ou D3) est transportée dans le sang par la vitamine D binding Protein (DBP) (Lopez et *al.*, 2020), elle doit ensuite subir deux hydroxylations pour devenir active. La première étape est une hydroxylation en position 25 qui conduit à la formation de 25-hydroxyvitamine D3 (25(OH)D3) forme de réserve de la vitamine D3, et dont la demi-vie plasmatique est de deux à trois semaines. Cette hydroxylation hépatique est réalisée par des CYP situées dans le réticulum endoplasmique ou dans les mitochondries. Aujourd'hui, la CYP2R1 localisée dans les microsomes apparaît comme le candidat majeur à la synthèse de 25(OH)D3 (Tissandié et *al.*, 2006). La deuxième hydroxylation, transforme le 25(OH)D en calcitriol (1,25(OH)₂D) par une enzyme appelée 1- α -hydroxylase (Alwan, 2018). Cette

hydroxylation en position 1 est assurée par le cytochrome p450 27B1 (CYP27B1), fortement exprimé au niveau du rein (Landrier, 2014). La 1,25(OH)₂D est le métabolite actif de la vitamine D, et possède une demi-vie dans le sérum de quatre heures environ. Son objectif principal est de maintenir un taux de calcium sérique adéquat grâce aux effets sur les reins, l'intestin et os (Figure 05) (Lopez et al., 2020).

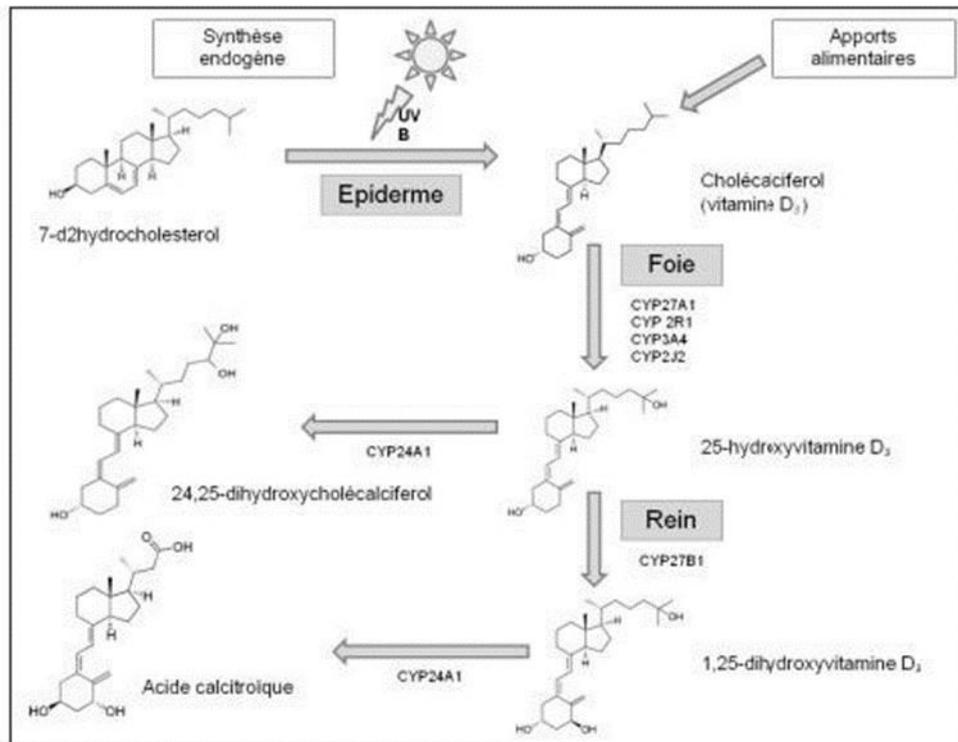


Figure 5: Métabolisme de vitamine D (Landrier, 2014)

3.5. Catabolisme

Le catabolisme de la 25(OH)D et de la 1,25(OH)₂D s'effectue grâce à une enzyme à cytochrome P-450(CYP24), la 24-hydroxylase dont l'activité aboutit à des produits biologiquement inactifs de la vitamine D: 24,25(OH)₂D et 1,24,25(OH)₃D (Vivien, 2013), transformés ensuite en acide calcitroïque inactif (Landrier, 2014). La CYP24A1 est localisée de façon ubiquitaire dans les cellules cibles de la vitamine D permettant une régulation à l'échelle de l'organisme (Esterle et al., 2014).

3.6. Rôle

La vitamine D joue un rôle essentiel dans la régulation du métabolisme du calcium et du phosphate par des effets sur l'intestin, les os et les reins. Elle permet l'absorption du calcium au niveau intestinal et exerce des effets pléiotropes sur les cellules osseuses afin de maintenir l'homéostasie minérale (Lopez et al., 2020). Elle contrôle la sécrétion de parathormone,

Chapitre 01 : Les vitamines

participe à la réabsorption du calcium dans le tubule distal rénal, et exerce des effets complexes sur l'os, anaboliques ou cataboliques suivant les besoins, et y stimule la sécrétion du FGF23 par les ostéocytes (Souberbielle, 2023). Elle aurait un effet protecteur contre les infections, les pathologies auto-immunes, les cancers et les pathologies cardiovasculaires. Ainsi, elle renforce le système immunitaire, améliore la force musculaire, contribue à réduire les inflammations (Shadouh, 2021).

Chapitre 02: Pathologies et vitamines

1. Notion de carence et hypervitaminose

1.1. Notion de carence

Une carence en vitamines peut résulter d'un manque de vitamines alimentaires ou d'une incapacité à absorber les vitamines contenues dans les aliments dans le tube digestif (Kent, 2006).

La définition la plus pertinente pour confirmer une carence en vitamine B12 serait un taux sérique < 200 pg/mL (soit < 150 pmol/L) et taux sérique de l'homocystéine totale > 13 pmol/L ou taux sérique de l'acide méthylmalonique $> 0,4$ umol/L, en l'absence d'une insuffisance rénale ou d'un déficit en folates ou en vitamine B6 (Bouquet et Grossetête, 2021).

Un déficit en vitamine B12 résulte principalement par le syndrome de non-dissociation de la B12 (Andrès et *al.*, 2005) (Il regroupe les pathologies responsables d'une rupture de l'intégrité du système de transport) (Loup-leuciuc et *al.*, 2011), malabsorptions due à des maladies inflammatoires de l'intestin ou l'apports insuffisants chez les végétaliens. Par conséquence cette carence est responsable d'une anémie pernicieuse également connue sous le nom de maladie de Biermer's (Andres et Serraj, 2012) qui est une gastrite atrophique auto-immune (Ghannouchi, 2016), caractérisée par la perte du facteur intrinsèque (Ankar et Kumar, 2022).

Par contre, la concentration sérique de 25(OH)D est le paramètre biologique qui définit le statut en vitamine D. Une majorité d'experts considère qu'une concentration de 25(OH)D inférieure à 50 nmol/L correspond à l'hypovitaminose et qu'une concentration entre 50 et 75 nmol/L est une insuffisance en vitamine D (Souberbielle et *al.*, 2013). Cette déficience peut être due à l'exposition rare à la lumière solaire, malabsorption intestinal (Johnson, 2022).

La carence en vitamine D a été découverte à travers le rachitisme. Cette pathologie correspond à une prolifération du cartilage des os en croissance avec une minéralisation inappropriée (Duchadeau, 2001) sa cause principale c'est une insuffisance de l'apport en vitamine D (Flot, 2019) qui détermine des troubles du métabolisme du phosphore et du calcium entraînant une mauvaise calcification des os (Aziz et Tebani, 2010).

1.2. Hypervitaminose

Peut être définie comme une condition de niveaux de stockage anormalement élevés de vitamines, ce qui peut entraîner des symptômes toxiques (toxicité) (Al-gharer, 2019).

L'hypercobalaminémie (taux sériques élevés de vitamine B12) est une anomalie fréquente (Andrée et *al.*, 2013), est définie par un taux supérieur aux normes biologiques de 950 pg/mL (Serraj, 2011). Cliniquement, elle peut être paradoxalement accompagnée de signes de

carence, qui sont liés à des défauts dans l'absorption tissulaire de la vitamine B12. L'augmentation du taux de cobalamine sérique se produit principalement dans les maladies graves: hémoblastose, maladies du foie et des reins... (Podzolkov et *al.*, 2019).

L'hypervitaminose D est définie à son tour par une concentration de 25(OH)D allant de 125 à 375 nmol/l" (50 à 150 ng/ml)(Héraud, 2016), c'est une affection rare qui peut être toxique associée à une hypercalcémie (Kumar Gupta, 2014).

2. Infections bactériennes

2.1. La colonisation bactérienne chronique de l'intestin grêle

La colonisation bactérienne dans l'intestin grêle est un trouble dans lequel une diminution des mouvements du contenu intestinal permet à certaines bactéries intestinales (les *streptocoques*, *Bacteroides*, *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Klebsiella*, et *Aeromonas*) normales de proliférer, entraînant une diarrhée et une mauvaise absorption des nutriments (malabsorption). Les bactéries en excès consomment des nutriments notamment de glucides et de vitamine B12, ce qui donne lieu à un apport calorique inférieur et à une carence en vitamine B12 (Malik, 2023).

2.2. Tuberculose

La tuberculose est une maladie infectieuse transmissible provoquée par *Mycobacterium tuberculosis* (bacille de Koch ou BK) (Mjid et *al.*, 2015). Le poumon est la localisation la plus fréquente de cette infection (Dombret, 2004). Une étude lancée par des scientifiques pour examiner l'activité antimicrobienne de la vitamine D pour une réponse efficace du système immunitaire contre la tuberculose, a rapporté que les cellules T par la libération d'interféron- γ (IFN- γ), induisent l'autophagie, la maturation phagosomale, la production de peptides antimicrobiens tels que la cathélicidine et une activité antimicrobienne contre *Mycobacterium tuberculosis* dans les macrophages humains via une voie dépendante de la vitamine D. L'IFN- γ a induit la voie antimicrobienne dans les macrophages humains cultivés dans des sérums suffisamment riches en vitamine D, mais pas dans les sérums d'Afro-Américains qui contiennent de plus faibles quantités de vitamine D et qui sont plus sensibles à la tuberculose. La supplémentation *in vitro* de sérum déficient en vitamine D avec de la 25-hydroxyvitamine D3 a restauré l'expression du peptide antimicrobien induit par l'IFN- γ , l'autophagie, la fusion phagosome-lysosome et l'activité antimicrobienne. Ces résultats suggèrent un mécanisme dans lequel la vitamine D est nécessaire à l'immunité acquise pour vaincre la capacité des agents pathogènes intracellulaires à échapper aux réponses antimicrobiennes médiées par les

macrophages. Les présents résultats soulignent l'importance de quantités adéquates de vitamine D dans toutes les populations humaines pour maintenir l'immunité innée et acquise contre les infections (Fabri *et al.*, 2011).

3.2. Vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne (VB) est une des pathologies infectieuses génitales les plus courantes (Bohbot et Leprgneur, 2012). Elle est caractérisée par un déséquilibre de la flore bactérienne normale du vagin (Mach *et al.*, 2020). Très récemment, des chercheurs iraniens à l'origine de cette étude ont recruté un peu plus de 200 femmes jeunes carencées en vitamine D. Puis, une dose de 2000 UI par jour pendant 15 semaines a été donnée pour la moitié d'entre elle tandis que l'autre moitié recevait simplement un placebo, c'est-à-dire un produit inactif (Le Bail, 2015).

Au terme de l'étude, le taux de vitamine D du groupe vitamine D est passé en moyenne de 9,5 ng/ml à 28 ng/ml, alors que celui du groupe placebo n'a pas bougé, demeurant autour de 9 ng/ml (3). Cela a manifestement eu une incidence sur le taux de guérison, qui a été de 19,2 % dans le groupe placebo, contre 63,5 % dans le groupe vitamine D, soit 3 fois plus ! Un résultat spectaculaire qui explique le ton « affirmatif » des chercheurs quant à l'intérêt thérapeutique de la vitamine D en cas de vaginose bactérienne asymptomatique (Le Bail, 2015).

2.4. Infection à staphylococcus aureus

La vitamine D favorise l'immunité épithéliale en régulant positivement les peptides antimicrobiens, notamment le LL-37 qui a une activité bactéricide contre *Staphylococcus aureus*. L'étude de Jeffrey *et al.* ont été constaté que les enfants présentant une carence ou une insuffisance en vitamine D [25-hydroxyvitamine D < 30 ng/mL] étaient plus susceptibles de présenter une infection récurrente, plutôt que primaire de la peau ou des tissus mous à *S. Aureus*. La suffisance en vitamine D peut être l'un des nombreux facteurs liés à l'hôte et à l'environnement qui peuvent être directement influencés pour réduire la fréquence des infections cutanées et des tissus mous à *S. Aureus* (Jeffrey *et al.*, 2015).

2.5. Les pneumopathies

Une pneumopathie est une infection respiratoire aiguë généralement d'origine bactérienne qui touche les poumons, causée par le pneumocoque ou *Streptococcus pneumoniae* ou d'autres bactéries (Charline, 2022). Dans les poumons, le CYP27B1 (exprimé dans les voies

bronchiques cellules épithéliales) est induit par des stimulés inflammatoires. Une expression accrue d'un peptide antimicrobien (cathélicidine) par les cellules immunitaires (macrophages et cellules épithéliales). La réponse à l'infection dépend de la présence de vitamine D. Ainsi, le circuit vitamine D/peptide antimicrobien pourrait être activé dans les infections des voies respiratoires y compris la pneumonie (Das et *al.*, 2015).

3. Infections virales

3.1. Covid 19

Le lien entre l'immunité et l'alimentation est clairement connu et une attention particulière est accordée à son rôle dans la maladie COVID-19 (Alshammari, 2021). Certaines études ont suggéré que la supplémentation en vitamine B12 semble être efficace dans la gestion du COVID-19 (Erfani et *al.*, 2023). La cobalamine peut jouer un impact substantiel sur la réduction de la morbidité et de la mortalité liées au COVID-19 en raison de sa fonction dans la synthèse de l'ADN, le contrôle cellulaire, l'amélioration des réponses immunitaires anti-inflammatoires et la diminution des réponses pro-inflammatoires (Srinidhi et *al.*, 2021).

La vitamine D, de plus en plus demandée à l'officine et de plus en plus prescrite, pourrait être un atout dans le traitement de la Covid-19 en diminuant la mortalité ou la sévérité de l'affection (Piroux, 2021), parce qu'elle favorise l'activation de la réponse immunitaire et limite les conséquences néfastes d'immunopathologie induite par les agents pathogènes (Taqaortet et Chadli, 2020).

3.2. VIH

La carence en micronutriment est un signe biologique très précoce de l'infection à VIH. Toutefois, les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (HIV-1) peuvent présenter un taux élevé de carence en vitamine B12 et de maladies du système nerveux (Robertson, 1993).

L'infection par le VIH est souvent associée à un déficit en 25(OH)D et le taux de 1,25-(OH)₂D₃ la forme active de la 25(OH)D, est plus faible chez les patients séropositifs que dans la population générale. La vitamine D joue assurément un rôle important dans l'infection, tant au niveau squelettique qu'au niveau de l'évolution de la maladie elle-même. En effet, cette hormone augmente l'activité des macrophages entre autres via le processus d'autophagocytose, ce qui permet d'inhiber l'infection par le VIH1 (Pirotte et *al.*, 2013).

Chapitre 03: *Candida albicans*

1. Définition et classification

Candida albicans est une levure commensale non capsulée, non pigmentée et aérobie. Ces champignons unicellulaires (eucaryotes) se reproduisent de façon asexuée par bourgeonnement multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore) (Lagane, 2007), formant ainsi des colonies blanches crémeuses ou par fission binaire (Figure 06) (Emma, 2005). Ils sont appartient au règne des Fungi, le phylum des Deuteromycotina, classe des Blastomycètes, ordre des Cryptococcales, famille des Cryptococcaceae (Tableau 02) (Hamri et Brinis, 2018).

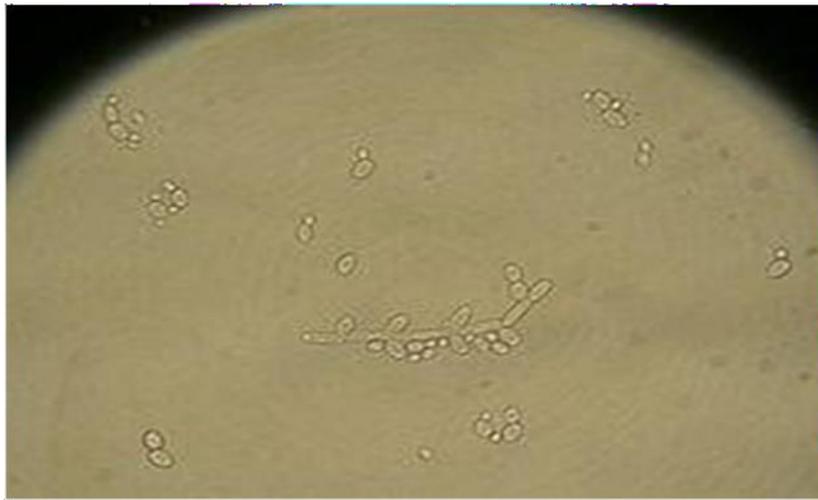


Figure 6: Aspect typique de *Candida albicans* (Kaouch, 2003).

Tableau 2: Classification selon la reproduction asexuée de *Candida albicans* (Browser, 2007).

Classification	
Règne	Fungi
Phylum	Deuteromycotina
Classe	Blastomycetes
Ordre	Cryptococcales
Famille	Cryptococcaceae
Genre	Candida

2. Morphologie

C. albicans est un microorganisme capable de croître sous plusieurs formes morphologiques en fonction des conditions environnementales et nutritives (Bouguerra et Nedjaoum, 2012). Il peut se trouver sous forme de levures ovoïdes bourgeonnantes, de pseudohyphes (cellules allongées jointes les unes aux autres avec une division synchronisée), et d'hyphes (cellules à bords parallèles attachées les unes aux autres en croissance apicale ou en ramifications latérales) qui jouent un rôle important dans sa virulence, et même il a la capacité de former des chlamydospores (Noblin et Bassilana, 2020).

Plusieurs facteurs peuvent influencer la morphogénèse tel que: la température, le pH, la source de carbone, la source de l'azote, la présence d'un senseur de quorum (quorum sensing), le contact physique avec une surface, le stade de croissance, la composition du milieu de culture, la taille de l'inoculum, la lumière visible et certains produits chimiques (Emami, 2005).

3. Habitat

Candida albicans vit à l'état saprophyte dans le tube digestif de l'homme, des mammifères et des oiseaux, il peut être endo-ou exogène. Cette levure est une opportuniste qui devient pathogène sous l'effet de facteurs favorisant généraux ou locaux (Hamri et Brinis, 2018), et cause des maladies dans le cas d'une immunité faible. Il n'est normalement jamais retrouvé dans l'environnement à moins d'une contamination par l'homme ou l'animal et la transmission se fait par contact maternel (Rouaiguia, 2014).

4. Facteurs de virulence de *candida albicans*

➤ Adhésine de surface

L'adhérence aux cellules épithéliales constitue la 1^{ère} étape de la pathogénèse des infections à *Candida*. Les adhésines de surface, jouent un rôle majeur dans cette étape, sont des mannoprotéines de différent type : Pr Als, Intégrine, lectine, protéine spécifique de la paroi des filaments ou hyphalwallprotein (HWp1P). Ces molécules sont capables de se fixer sur les protéines de la matrice extracellulaire de l'hôte: collagène, fibronectine, laminine, certaines jouent le rôle de ligands pour les cellules épithéliales de l'hôte ou pour la fraction C3 du complément (Khelfaoui et Djaballah, 2017).

➤ Le dimorphisme

Le dimorphisme est la capacité du champignon à changer la morphologie de la forme levure (blastospore ou blastoconidie) à la forme hyphe, et vice versa selon les conditions environnementales (Emami, 2005). Cette capacité des souches de *Candida* à modifier leurs phénotypes en fonction de l'environnement est un facteur de virulence (Benmoula et Ali, 2012).

➤ Variabilité phénotypique ou « switching »

Le switching est une seconde forme de transformation cellulaire de *C. albicans*, qui aboutit à une grande variabilité du phénotype exprimé. Il permet la régulation coordonnée de nombreux gènes. Ce processus permet une sélection rapide du phénotype le mieux adapté au site de l'infection et à la réponse de l'hôte [(Millon et *al.*, 2002); (Sadat et Hamchache, 2021)].

➤ Les enzymes

La sécrétion d'enzymes hydrolytiques au cours de l'infection favorise la virulence en dégradant les surfaces des muqueuses de l'hôte ainsi que ses défenses immunitaires. Ces enzymes sont des aspartyl protéinases (Saps), des phospholipases et des lipases (Lagane, 2007).

5. Infections dues à *candida albicans*

Les candidoses représentent les infections fongiques les plus courantes en pathologie humaine, elles sont dues à des levures opportunistes, essentiellement du genre *Candida*, le plus souvent de l'espèce *candida albicans* (Pihet et Marot, 2013).

Au niveau clinique, les atteintes candidosiques peuvent être classées en deux groupes: superficielles ou profondes touchant la peau, les muqueuses ou les organes internes, et leur pathogénicité ne s'exprime que lors de la présence des facteurs de risque (Manguelti, 2021).

5.1. Facteurs de risque

Ce sont des facteurs responsables du passage de l'état saprophytique à l'état pathogène. Il existe deux types de facteurs. Les facteurs intrinsèques, liés à l'hôte et exprimés par des facteurs physiologiques tels que l'âge et la grossesse, des facteurs locaux comme la macération et l'humidité, des altérations de l'organisme (endocrinopathies), Immunodépression (Manguelti, 2021).

Les facteurs extrinsèques présentés par les traitements médicamenteux notamment l'antibiothérapie prolongée à large spectre, les immunosuppresseurs, la chimiothérapie, les agressions chirurgicales, la transplantation d'organes, ainsi que les chirurgies digestives et

cardiaques (Lagane, 2007).

5.2. Les types de candidoses

5.2.1. Candidoses superficielles

Les candidoses superficielles sont les manifestations les plus communes et sont très variées. Elles peuvent atteindre les surfaces épidermiques et les muqueuses telles que la cavité buccale, le Pharynx, l'œsophage, les intestins, le système urinaire et la muqueuse vaginale (Lagane, 2007).

5.2.1.1. Candidose vaginale

Candidose vulvo-vaginale (CVV) est une infection mycosique très répandue en consultation gynécologique, elle affecte une large proportion de femmes en âge de procréation [(Amouri et *al.*, 2010); (Bloch, 2018)] Elle s'agit d'une mycose génitale symptomatique due généralement par *C. Albicans*. L'atteinte de cette infection est d'abord vaginale, puis secondairement vulvaire (Rouaiguia, 2014).

5.2.1.2. Candidose cutanée

Les candidoses cutanées sont très répandues chez l'homme. Elles sont favorisées par l'humidité et la macération, ce qui est expliqué par l'atteinte préférentielle des plis (plis des aisselles, plis mammaires, etc.), des plaques rouges parfois croûteuses. Elles peuvent résulter de l'extension d'une candidose digestive ou génitale où l'on retrouve des facteurs favorisants tels que le diabète, le très jeune âge, la prise d'antibiotiques et de corticoïdes (Khelfaoui et Djabllah, 2017).

5.2.1.3. Candidoses des ongles

L'onychomycose (« onycho » signifie ongle et « mycose » champignon) est une infection fongique de l'ongle et/ou du lit de l'ongle causée par le *candida albicans*. Cette pathologie apparaît généralement par la déformation des ongles, coloration anormale blanche ou jaune (Adigun et *al.*, 2021).

5.2.1.4. Candidose digestive

Ce sont des infections opportunistes qui désignent la prolifération de champignon *candida albicans* au niveau de l'intestin (Gorzowski, 2023). Ceci entraîne des troubles digestifs qui peuvent devenir chroniques (Hamoud et Fillali, 2018). La présence d'une candidose digestive chronique entraîne des carences multiples car ce champignon microscopique est avide de vitamine D et B12 qu'il surconsomme. Cela se traduit par un état de fatigue, une sensibilité

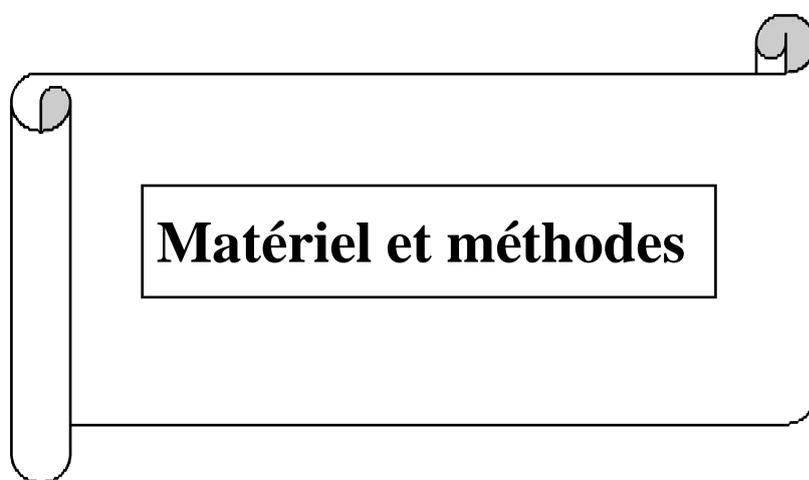
aux infections. Il est conseillé de compléter notamment en vitamines B12 et vitamine D les personnes atteintes de candidose chronique dont l'état général est affaibli (personnes âgées, diabétiques...) (Lereca, 2020).

5.2.1.5. Les candidoses buccales

La candidose buccale est une infection opportuniste de la cavité orale, ayant la plus forte prévalence chez l'humain et due à la croissance accélérée des champignons unicellulaires du genre *Candida* (Benmoula et Ali, 2011). Récemment une étude effectuée par Loup-leuciuc et al (2011), sur 13 cas a montré une relation entre les infections fongiques buccales et la carence en vitamine B12.

5.2.2. Les candidoses profondes (systémique)

Les candidoses profondes, encore appelées systémiques, ou invasives se situent au quatrième rang des infections nosocomiales. Ces appellations recouvrent les septicémies à *Candida*, dont le point de départ est le plus souvent une dissémination par voie hématogène (Anane et al., 2007). Cette pathologie survient principalement chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli et chez les personnes hospitalisées (Lagane, 2007).



Matériel et méthodes

1. Le lieu d'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université de Tlemcen, durant une période d'environ 1 mois du (05-02-2024 au 03-03-2024).

2. Les vitamines utilisées

Les vitamines utilisées sont des substances organiques d'origine pharmaceutique, sous forme de solution injectable, il s'agit de la Vit B12 sous forme cyanocobalamine avec une concentration de 1000 μ g/2ml, et la Vit D3 sous forme d'huile avec une concentration de 200 000UI l'équivalent de 5000 μ g/ml, incorporée dans une ampoule d'un volume de 1ml (Figure 07).



Figure 7: Les formes génériques de la Vit B12 et de la Vit D

3. Les souches de référence utilisées

Les champignons utilisés sont des souches de référence acquises à partir de l'American Type Culture Collection (ATCC), fournies par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université de Tlemcen. Trois souches de *candida albicans* ont été testées pour leur sensibilité vis-à-vis de la Vit B12 et de la Vit D3 (Tableau 03).

Tableau 3: Les souches de référence utilisées dans l'étude

La souche fongique	ATTC	La source
<i>Candida albicans</i>	1010 ATTC	Université de Tlemcen
	10231 ATTC	Université de Tlemcen
	26426 ATTC	Université de Tlemcen

4. Revivification des souches

La revivification des souches a pour objectif d'obtenir une culture jeune et pure (Djadi et al., 2014). Elle consiste à ensemencer par épuisement quelques colonies de souches conservées de *candida albicans* à la surface de la gélose nutritive (GN) préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de pétri, puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

5. Conservation des souches

Cette technique a été utilisée pour conserver les cultures de différentes espèces microbiennes isolées et purifiées pour une longue ou une courte durée. Son but est de maintenir la souche à conserver viable, disponible et à l'identique (Perrin, 2020).

Les souches ont été conservées par :

- Une conservation de longue durée dans du glycérol, un cryoprotecteur qui pénètre dans les cellules pour réduire la formation de glace. Cette technique consiste à ajouter 500 µl de glycérol à 60 % à 500 µl de suspension fongique préalablement enrichie dans 5 ml de BHIB, dans un tube à eppendorf, puis à conserver à -20°C pendant une durée allant de quelques mois à quelques années.

6. L'évaluation de l'effet antifongique

6.1. Néo-Sensitabs

L'étude de la sensibilité des souches vis à vis de la Vit D et Vit B12 a été menée selon la méthode Néo-Sensitabs qui est une méthode de diffusion sur gélose (Bourouda, 2010).

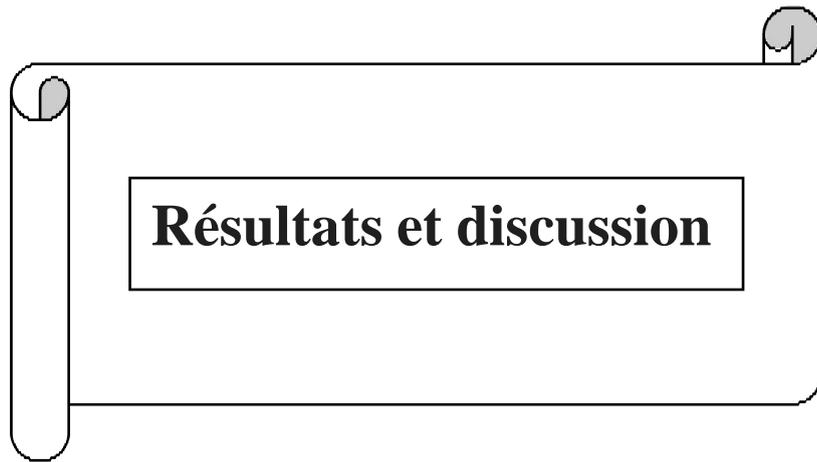
Une pré-culture a été préalablement préparée dans des tubes contenant du BHIB stérile et incubée à 37°C pendant 24 heures, celle-ci a été ajustée à une densité optique (DO) 625nm comprise entre 0.12 et 0,15 ce qui correspond à une charge antifongique de 10^8 UFC/mL. L'ensemencement des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton additionnée de 2% de glucose a été réalisé par écouvillonnage.

Concernant l'étude de l'activité antifongique de la Vit D et la Vit B12, celle-ci a été réalisée à l'état pure en imprégnant deux disques de papier Whatman N°40, ou 04 d'un diamètre de 6 mm avec 10 µl de Vit B12 et 10 µl de la Vit D, ces disques ont été préalablement stérilisés à l'autoclave et rangés à température ambiante. De plus, nous avons effectué une association de la Nystatine avec ces vitamines, quatre disques de la Nystatine ont été déposés sur la surface de la gélose. Le premier disque a été utilisé comme témoin positif, tandis que le deuxième disque a été imprégné de 10µl de la Vit B12, le troisième disque de 10µl de la Vit D et le dernier disque a été imprégné à la fois de 5 µl de la Vit B12 et de 5µl de la

Vit D (Tableau 04). L'ensemble a été incubé à 37°C pendant 24 heures

Tableau 4: Concentration des vitamines utilisées

Disques	Concentration des vitamines
Nystatine	/
Nystatine + Vit B12	5 µl
Nystatine + Vit D	5 µl
Nystatine + Vit B12+ Vit D	10 µl (5 µl de la Vit B12 +5 µl de la Vit D)
Vitamine B12	10 µl
Vitamine D	10 µl



Résultats et discussion

1. L'aspect macroscopique des souches utilisées

Après 24h d'incubation, les souches utilisées apparaissent macroscopiquement sous forme de colonies blanches à crèmeuses de 1 à 3 mm, leur texture est lisse et brillante, mais certaines colonies plus rugueuses (Figure 08).

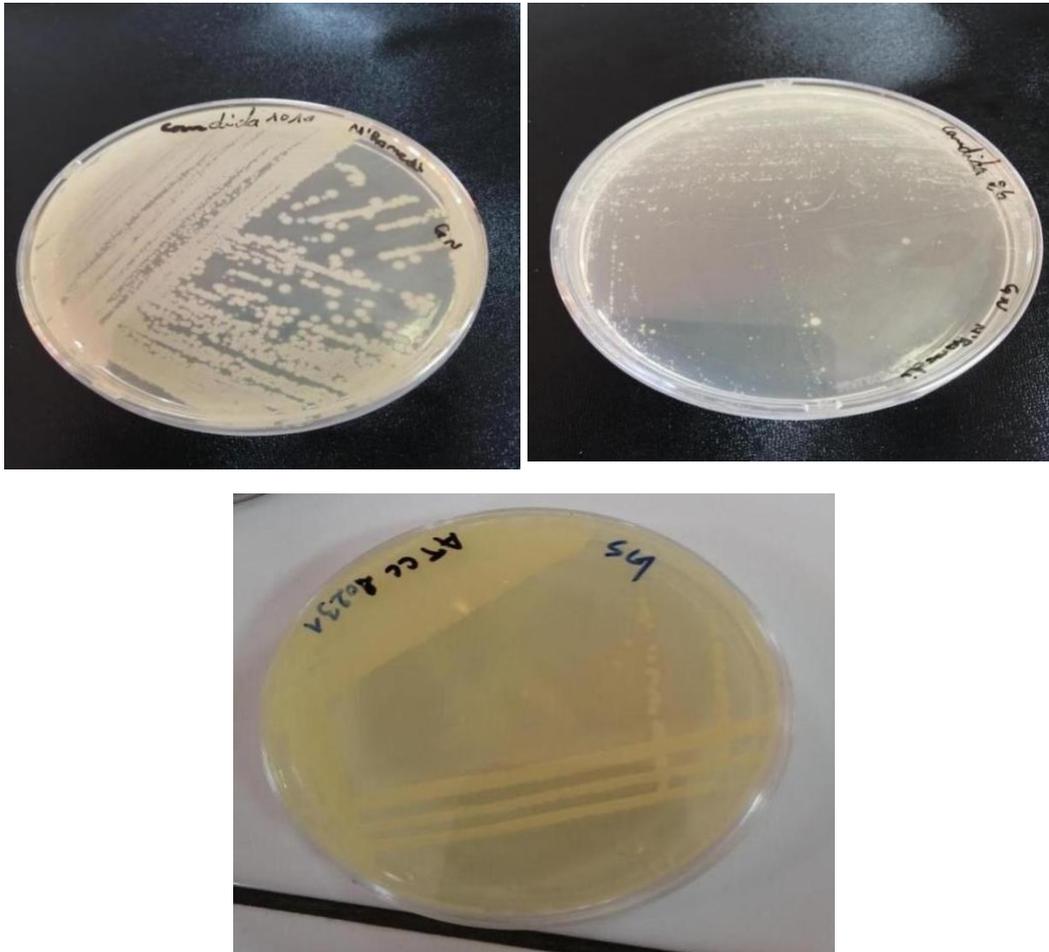


Figure 8: L'aspect macroscopique des colonies de *Candida albicans*

2. Résultats de diffusion sur gélose

Les résultats de l'activité antifongique (Tableau05) montrent que l'ensemble des souches utilisées étaient sensibles à la Nystatine avec une zone d'inhibition de 1.8 mm pour *Candida albicans* ATCC 1010 et 1.6 mm pour les souches ATCC 10231 et ATCC 26426. Les résultats obtenus montrent que les souches utilisées marquant une résistance vis à vis la Vit B12 et la Vit D. Cependant l'utilisation de ces vitamines en association avec la Nystatine ne montre aucun changement dans le diamètre d'inhibition en comparaison avec le diamètre d'inhibition

de la Nys seule.

En effet, le diamètre d'inhibition pour *Candida albicans* ATCC 26426 était de 1.6 mm vis-à-vis l'association de la Nys/ Vit B12, mais aucun diamètre n'a été observé pour l'association Nys/ Vit D et la Nys/ Vit B12/Vit D, pour *Candida albicans* ATCC 10231 le diamètre d'inhibition était de 1.6 mm pour toutes les associations testées, par contre *Candida albicans* ATCC 1010 on a observé l'apparition de zones d'inhibition avec un diamètre de 1.8 mm pour la Nys/ Vit B12, 1.5 mm pour Nys/ Vit D et une résistance vis-à-vis l'association Nys/ vit B12/ vit D suivie d'une recroissance de la souche à cause de la mutation de celle-ci (Figure 09).

Selon l'étude de Bouzid et al (2016), il a été cité qu'une concentration de 100 mg/ml de la vitamine D3 avait un effet inhibiteur sur la croissance de *C. Albicans*, avec une zone d'inhibition de 12,5 mm, les valeurs de concentration minimale fongicide (CMFC) et la concentration minimale fongistatique (CMF) étaient de 1,58 - 0,0764 mg/ml. Ces valeurs suggèrent que la vitamine D3 avait une bonne activité antifongique.

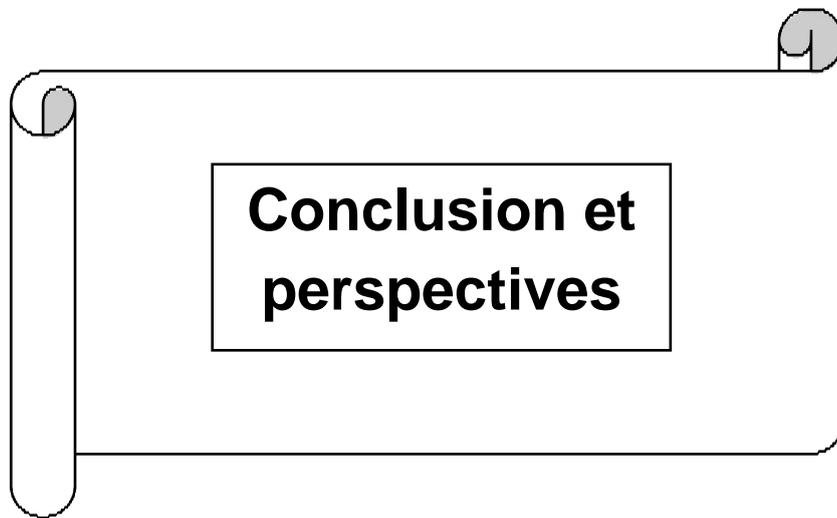
La différence des résultats obtenue par rapport à l'étude précédente peut être due à plusieurs facteurs notamment, à une concentration plus élevée de la vitamine D3 utilisée qui peuvent influencer la croissance de la souche fongique. De plus les conditions expérimentales, les méthodologies utilisées, ainsi que les souches testées en comparaison avec l'étude de Lie et al (2022). Ils ont démontré dans cette étude que la vit VD3 avait entraîné une activité significative anti-*Candida* importante dans quatre souches standards (*C. Albicans* ATCCMYA-2876, *C. Albicans* ATCC 90028, *C. Parapsilosis* ATCC 22019, *C. Krusei* ATCC 6258) et dans cinq isolats cliniques (deux *C. Parapsilosis*, deux *C. Tropicalis* et *C. Glabrata*). Cette activité inhibe 90 % de la croissance des cellules fongiques avec une concentration de 0,4 mg/mL. Ses résultats ont été obtenus grâce à la technique de microdilution en bouillon. Par ailleurs, aucune étude n'a été réalisée sur l'effet de *C.albicans* envers la Vit B12 et les travaux publiés se concentrent principalement sur l'effet antibactérien de la Vit B12, comme l'étude de Shakeel Shahzad (2018). Selon ses résultats, la vitamine B1, B2 et B12 ont démontré une excellente synergie avec le linézolide pour lutter contre le SARM.

Tableau 5: Résultats d'activité antifongique des souches testées

/	Diamètre d'inhibition (mm)					
	Nys	Nys/B12	Nys/D	Nys/B12/D	B12	D
<i>C.Albicans</i> 1010ATCC	1.8	1.8	1.5	R	R	R
<i>C.Albicans</i> 10231ATCC	1.6	1.6	1.6	1.6	R	R
<i>C.Albicans</i> 26426 ATCC	1.6	1.6	R	R	R	R



Figure 9: Résultats d'activité antifongique



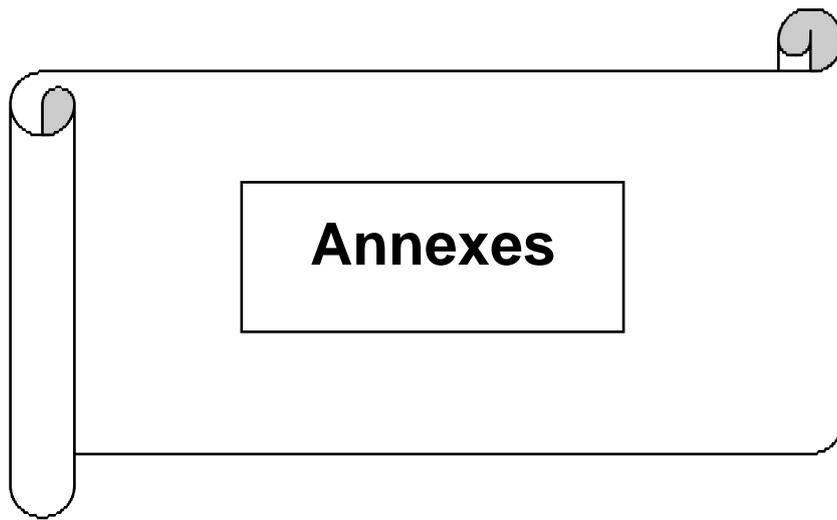
**Conclusion et
perspectives**

Conclusion et perspectives

La vitamine D et la vitamine B 12 jouent un rôle crucial dans le maintien d'une bonne santé car elles sont impliquées dans de nombreuses fonctions biologiques, et peuvent également avoir un potentiel thérapeutique dans la lutte contre plusieurs pathologies.

L'émergence et la propagation de la résistance deviennent un problème d'actualité qui augmentant le risque d'échec thérapeutique. Dans cette optique notre objectif, il s'agit d'évaluer l'activité antifongique de la Vit B12 et de la Vit D vis-à-vis de *Candida albicans*. À cet effet, l'activité antifongique vis-à-vis de trois souches de référence a été réalisée par diffusion sur milieu gélose, mais les résultats de notre étude n'ont montré aucune activité significative. Cette constatation souligne la nécessité de poursuivre la recherche pour comprendre les mécanismes d'action sous-jacents des substances testées.

En perspective, il est nécessaire d'approfondir les recherches afin d'explorer de nouvelles techniques thérapeutiques pour faire face à la résistance croissante aux antifongiques. De plus, l'évaluation de différentes concentrations de vitamines pourrait permettre de déterminer les dosages optimaux pour maximiser leur efficacité antifongique. Il est également crucial de comprendre comment les vitamines interagissent avec *Candida albicans* au niveau moléculaire afin d'évaluer leur activité de manière plus précise. Enfin, l'utilisation de souches hospitalières de *Candida* dans les études est essentielle, car elles reflètent souvent une résistance accrue aux antifongiques et sont plus représentatives des infections rencontrées en milieu clinique. Ces approches de recherche pourraient ouvrir la voie à de nouveaux traitements plus efficaces contre les infections fongiques, offrant ainsi de meilleures options thérapeutiques pour les patients.



Annexes

Annexes 1: Composition des milieux de culture (pour 1L d'eau distillée en g/l)

Gélose Nutritive

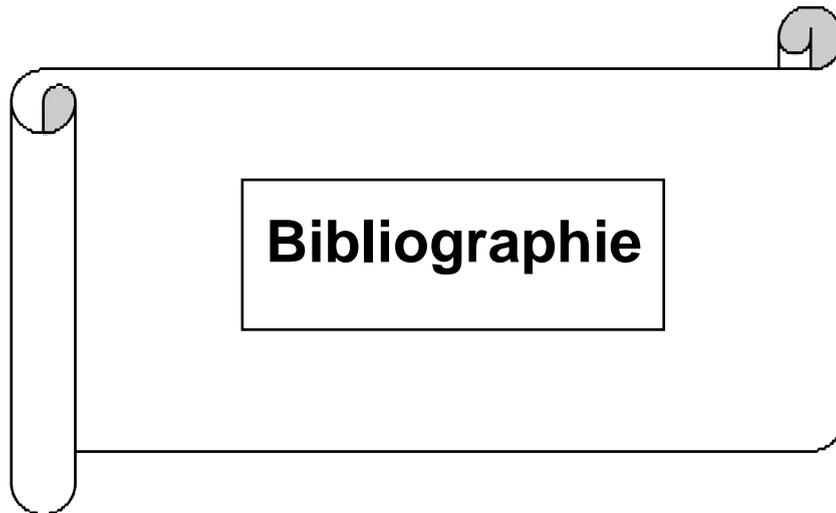
Extrait de viande de bœuf	5g
Peptone.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	20g

Gélose Mueller Hinton

Eau distillée.....	1000ml
Infusion de viande de bœuf.....	2,0g
Hydrolysate de Caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar.....	17g

Bouillon Cœur-Cerveille

Extrait cœur-cerveille.....	17,5g
Peptone pancréatique de gélatine	10,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Phosphate disodique.....	2,5 g
Glucose	2,0g



- Adigun, Chris G., Dermatology, MD et laser centre of chapel hill. (2021). Onychomycose. Repéré à: <https://www.msmanuals.com/fr/professional/troubles-dermatologiques/pathologie-ungu%C3%A9ale/onychomycose>.
- Agostoni.C, Berni Canani.R, Fairweather-Tait.S, Heinonen.M, Korhonen.H, La Vieille.S..... Verhagen,H. (2015). Scientific opinion on dietary reference values for cobalamin (vitamin B12). EFSA journal, 13(7),4150. doi:10.2903/j.efsa.2015.415010.2903/j.efsa.2015.4150.
- Al-gharar,S.M. (2019). Hypervitaminosis.Vol 1(1). Repéré à: https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=http://www.ajrsp.com/en/Archive/issue1/Hypervitaminosis.pdf&ved=2ahUKEwjx7Lr91YuGAXVs_rslH_SnMANyQFnoECCIQAQ&usg=AOvVaw1UgjVdJ2FtfGdms4vDGBU1.
- Alshammari, E. (2021). Vitamin B12 deficiency in COVID-19 recovered patients. International journal of pharmaceutical research (09752366) ; 13(1):482-485. Repéré à: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://pesquisa.bvsalud.org/global-literature-on-novel-coronavirus-2019ncov/resource/pt/covidwho-934728&ved=2ahUKEwj0xtT4yZCGAxW98LsIHXyNAYAQFnoECBIQAQ&usg=AOvVaw361iEBhUKS8F2KeSHshvIZ>.
- Alwan, A. (2018). Vitamine D totale, vitamine D libre et paramètres osseux chez des jeunes adultes Libanais (Thèse de doctorat. Université de France). P 28.
- Amouri, I., Abbes, S., Sellami, H., Makni, F., Sellami, A., & Ayadi, A. (2010). La candidose vulvovaginale: revue. Journal de mycologie médicale, 20(2), 108–115. Doi:10.1016/j.mycmed.2010.01.005.
- Anane, S., & Khalfallah, F. (2007). Diagnostic biologique des candidoses systémiques: difficultés et perspectives. Pathologie biologique, 55(5), 262–272. doi:10.1016/j.patbio.2006.03.003. Repéré à: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0369811406000599>.
- Andrès, E., Affenberger, S., Vinzio, S., Noel, E., Kaltenbach, G., & Schlienger, J.-L. (2005). Carences en vitamine B12 chez l'adulte : étiologies, manifestations cliniques et traitement. La revue de médecine interne, 26(12), 938–946.
- Andres, E., & Serraj. (2012). Optimal management of pernicious anemia. Journal of blood medicine, 97. doi:10.2147/jbm.s25620.
- Andres, E., Serraj, K., Zhu, J., & Vermorken, A. J. M. (2013). The pathophysiology of elevated vitamin B12 in clinical practice. QJM, an

international journal of medicine, 106(6), 505–515. doi:10.1093/qjmed/hct051.

- Ankar, A., Kumar, A., (2022). Vitamin B12 deficiency. Repéré à: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28722952/>.
- Armande Ake, A. J. (2019). Statut en vitamine D et polymorphisme du gène de son récepteur chez des personnes vivant avec le virus de l'immunodéficience humains en Côte d'ivoire (Thèse de doctorat. Laboratoire de pharmacodynamie- biochimique).
- Aubry, M. (2004). Étude de la prescription de vitamine D chez les enfants et adolescents de 10 à 18 ans par les médecins généralistes de poitou-charentes (Thèse de docteur en médecine. Université de Poitiers).
- Aziz, M.H. et Tebani, A. (2011). Les vitamines dans l'alimentation (Sources et rôles) (Mémoire de Master. Université de Msila). P 02_21.
- Bellis, M. (2018). The history of vitamins: special factors in food. Repéré à: <https://www.thoughtco.com/history-of-the-vitamins-4072556>.
- Benattallah, A. (2021). Les vitamines.
- Ben Moula, M et Ali, A. (2012). Etude des propriétés biochimiques et adhésives des souches de Candida spp. isolées de la station de traitement des lixiviats de Djebel Chakir (Mémoire de fin d'étude. Université de carthage).
- Bloch, M. (2018). Les candidoses chez l'immunodéprimé d'ordre secondaire (Thèse de doctorat. Université de Lorraine.p56. Repéré à: <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733557>.
- Bohbot, J.-M., & Lepargneur, J.-P. (2012). La vaginose en 2011 : encore beaucoup d'interrogations. Gynécologie obstétrique et fertilité, 40(1), 31–36.doi:10.1016/j.gyobfe.2011.10.013. Repéré à : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1297958911004073>.
- Bouabdallah, H. R. (2019). Détermination de la teneur en vitamine B12 sérique chez le dromadaire Tergui de la région de Tamanrasset (Mémoire de docteur vétérinaire. Université Saad Dahlab-Blida). P 22.
- Bouguerra, S et Nedjaoum, A. (2013). Contribution à l'étude de quelques facteurs immuno- déficients dans l'apparition des vaginites mycosiques chez la femme (Mémoire de Master. Université d'Oum El Bouaghi). P 11

- Bouquet, S. et Grossetête, P. (2021). Quelle est la prévalence de la carence en vitamine B12 chez les patients végétaliens ? Une revue de la littérature (Thèse pour le doctorat en médecine. Université Grenoble Alpes).
- Bourouda, N. (2010). Place de l'antifongogramme dans la prise en charge des infections fongiques. (Thèse pour le doctorat en Pharmacie. Université Mohammed -Rabat-). p115.
- Bouzid, D., Merouki, S., Bachiri, M., Ailane, S. E., & Zerroug, M. M. (2016). Vitamine D 3 a new drug against *Candida albicans* vitamine D 3 un nouveau médicament contre *Candidaalbicans*. Journal de mycologie médicale. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.10.003>.
- Costa-de-Oliveira ; Rodrigues, (2020). *Candida albicans* antifungal resistance and tolerance in bloodstream infections: the triad yeast-host-antifungal. Microorganisms, 8(2), p154. doi:10.3390/microorganisms8020154. Repéré à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7074842/>.
- Das, RR, Singh, M., & Naik, SS, (2015). Vitamine D en complément des antibiotiques pour le traitement de la pneumonie aiguë de l'enfant. Base de données Cochrane des revues systématiques. doi:10.1002/14651858.cd011597.
- Djadi, A. Ait-Amar, H. Bouzid, M. (2014). Étude de la reactivité microbiologique et de l'effet toxique sur *Carassius Auratus* du Glutaraldéhyde. European Scientific Journal July 2014 edition vol.10, No.21 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857-7431.
- Dombret, M.-C. (2004). Tuberculose pulmonaire de l'adulte. EMC - médecine, 1(5), 406–416. doi:10.1016/j.emcmed.2004.03. Repéré à: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1762419304000931>.
- Dreistadt, A. (2019). Carence en vitamine B12 et santé orale (Thèse de docteur en chirurgie dentaire. Université de Lorraine). P 16-21.
- Duchadeau, C. (2001). Vitaminothérapie chez les volailles (Thèse d'exercice. Université de Toulouse, école nationale vétérinaire de Toulouse). p166.
- Erfani, Z., Alizadeh, N., Faraji, N., and Teymouri, A. (2023). Vitamin B12 effectiveness in the management of hospitalized COVID-19 and its clinical outcomes and complications: A randomized clinical trial. V 6(9): e1509. doi: 10.1002/hsr2.1509. Repéré à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10500256/>.
- Emami, E. (2005). Relation entre la commutation phénotypique de *Candida albicans* et la stomatite prothétique (Mémoire de fin d'étude. Université de Montréal). P 30.

- Esterle, L., Rothenbuhler, A., & Linglart, A. (2014). Rôle de la vitamine D et risque de maladies auto-immunes/cancers. OCL, 21(3), D309. doi:10.1051/ocl/2013056. Repéré à: https://www.ocl-journal.org/articles/ocl/full_html/2014/03/ocl130037/ocl130037.html.
- Fabri, M.; Stenger, S.; Shin, D.-M.; Yuk, J.-M.; Liu, P. T.; Realegeno, S Modlin, R. L. (2011). Vitamin D is required for IFN- mediated antimicrobial activity of human macrophages. Science translational medicine, 3(104), 104ra102–104ra102. doi:10.1126/scitranslmed.3003045.
- Fariba, L., Akbarzadeh-khiavi, M. et Behzad, B. (2023). Micronutrient therapy and effective immune response: a promising approach for management of COVID- 19. Volume 49, pages 1133–1147.
- Flot, C. (2019). Rachitisme carenciel de l'enfant en France : une étude épidémiologique multicentrique, aspects diagnostiques et thérapeutiques (Thèse de docteur en médecine. Université Grenoble Alpes).
- Ghannouchi, N., Abid, M., Ach, T., Bouker, A., Atig, A., & Bahri, F. (2016). Association anémie hémolytique auto-immune et anémie de Biermer. À propos de 3 cas. La revue de médecine interne, 37, A132. doi:10.1016/j.revmed.2016.04.091.
- Ghemrawi, R. I. (2013). La carence en vitamine B12 induit un stress du réticulum endoplasmique dû à une diminution de la déacétylase SIRT1 et une augmentation de l'acétylation de HSF1 (Thèse de doctorat. Université de Lorraine).
- Gorzkowski, M. (2023). Candidose digestive symptômes et traitements. Repéré à: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.pharma-gdd.com/fr/candidose>.
- Gibney, M.J ., Lanham-New, S. A., Cassidy, A. et Vorster, H. H. (2009). Introduction to human nutrition. The nutrition society textbook series, (2 éd), (1-386).
- Guéant, J. L., Covi, G. (2007). Les vitamines. (38 éd). Page 163_174. Repéré à: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://lesbiologistesmedicaux.fr/images/cahiers/2007-Bioforma-38->

[Les%2520Vitamines.pdf&ved=2ahUKEwjui_bh842GAxXZR_EDHWabDVAQFnoECBkQAQ&usg=AOvVaw1WvleEtilShGrUisHpgKAO.](#)

- Guillerme, J. (2019). Intérêt et évaluation, au CHU de Rouen, du dosage de la vitamine B12 active, comparaison avec la vitamine B12 totale (Thèse de doctorat en médecine).
- Hamoud, S. et Fillali, I. (2018). Les candidoses invasives en réanimation (Mémoire de Master. Université de Constantine). P 08.
- Hannibal, L. et Jacobsen, D. W. (2022). Intracellular processing of vitamin B12 by MMACHC (CblC). Repéré à: DOI: 10.1016/bs.vh.2022.02.00.
- Hamri, A., Briris, A. (2018). Effets antimicrobiens des extraits de *Thymus Vulgaris* chez *Candida albicans* responsable des infections uro-génitales (Mémoire de fin d'étude. Université de Mostaganem) P 12-13-14.
- Héraud, C. (2016). La vitamine D vue à travers le prisme du marmandais (Thèse de docteur en pharmacie. Université de Bordeaux).
- Hiolle, M. (2019). Impact de la structure des aliments sur la biodisponibilité des micronutriments, (Thèse de doctorat. Université Bretagne Loire). p75. Repéré à: <https://theses.hal.science/tel-02877614/>.
- Ignacio Uriel Macias-Paz a, Salvador Pérez-Hernández a, Alejandra Tavera-Tapia a, Juan Pedro Luna-Arias b, José Eugenio Guerra-Cárdenas a, Elizabeth Reyna-Beltrán. (2023). *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans *Candida albicans* el principal hongo patógeno oportunista en humanos. volume 55, Issue 2. Pages 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.08.003>. Repéré à: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754122000840>
- Jardy, C. (2000). Vitamine B12 et croissance tumorale a propose d'un cas. (Thèse de doctorat en médecine. Université de Limoges). P30-32. Repéré à: <https://aurore.unilim.fr/theses/nxfile/default/c9a602c7-2cae-4cce-a8c4856de50c08f5/blobholder:0/2022LIMO0038.pdf>.
- Jeffrey W.; Hogan, Patrick G.; Hunstad, David A.; Fritz, Stephanie A. (2015). Vitamin D Sufficiency and *Staphylococcus Aureus* infection in children. The pediatric infectious disease journal, 34(5), 544-545. doi:10.1097/inf.0000000000000667. Repéré à : https://journals.lww.com/pidj/fulltext/2015/05000/vitamin_d_sufficiency_and_staphyloco

[ccus_aureus.25.aspx.](#)

- Jiang, W., Wu, D.-B., Xiao, G.-B., Ding, B., & Chen, E.-Q. (2020). An epidemiology survey of vitamin D deficiency and its influencing factors. *medicina clínica (English edition)*, 154(1), 7–12. doi:10.1016/j.medcle.2019.
- Johnson, Larry E. (2022). MD, PhD, University of Arkansas for medical sciences. Carence en vitamine B12 (Anémie pernicieuse). Repéré à: <https://www.msmanuals.com/fr/accueil/troubles-de-la-nutrition/vitamines/carence-en-vitamine-b12>.
- Kabir, M. Anaul; Hussain, Mohammad Asif; Ahmad, Zulfiqar. (2012). *Candida albicans*: a model organism for studying fungal pathogens. *ISRN microbiology*, 1–15. doi:10.5402/2012/538694. Repéré à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3671685/>.
- Kaouech, E. (2003). Diagnostic biologique des parasitoses et mycoses opportunistes. Laboratoire de parasitologie-mycologie CHU la rabta, Tunisie. P8.
- Khelfaoui, L. et Djaballah, N. (2017). Les candidoses invasives en milieu de réanimation (Mémoire de mester, Université de Constantine). P 09-22.
- Kent, M. (2006). Oxford dictionary of sports science et medicine (3 ed).
- Kumar Gupta, A., Jamwal, V., Sakul, Malhotra, P. (2014). Hypervitaminosis D and systemic manifestations. Department of medicine, pharmacology and therapeutics, Acharya Shri Chander college of medical sciences,
- Sidhra, Jammu, JK, India. Vol 27 No. 4. Repéré à: <https://www.researchgate.net/profile/Arvind-Singh21/post/What-are-damage-using-vitamin-d-for-a-long-time/attachment/5cc53c7acfe4a7df4aec7463/AS%3A752535891615746%401556429946744/download/1.pdf>.
- Lagune, C. (2007). Rôle de L'IL-13 et des ligands de PPAR- γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages acrophage murins et des monocytes humaine vis-à-vis de *Candida albicans*. Implication de PPAR- γ (Thèse de doctorat. Université de Toulouse). P 21.
- Landrier, J.-F. (2014). Vitamine D: sources, métabolisme et mécanismes d'action. *OCL*, 21(3), D302.p05 doi:10.1051/ocl/2014000. Repéré à: https://www.ocljournal.org/articles/ocl/full_html/2014/03/ocl140001/ocl140001.html.

- Le Bail, D. (2015). Vitamine D & vaginose bactérienne. Revue Rebelle – Santé n° 180 . Repérer à : <https://www.rebelle-sante.com/vitamine-d-vaginose-bacterienne>
- Lei, J., Xiao, W., Zhang, J., Liu, F., Xin, C., Zhou, B., Chen, W., & Song, Z. (2022). Antifungal activity of vitamin D3 against *Candida albicans* in vitro and in vivo. *Microbiological research*, 265. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127200>.
- LERICA. (2020). Candidose chronique carences en vitamines et oligo éléments: <https://www.lereca.com/blog/candidose-chronique-carences-en-vitamines-et-oligo-éléments>.
- Loup-Leuciuc, A., Loup, P.-J., Lombardi, T., et Samson, J. (2011). Carence en vitamine B12 (2ème partie): présentation de 13 cas découverts sur des manifestations buccales, 17(3), p310. doi:10.1051/mbcb/2011143.
- Loup-Leuciuc, A., Loup, P.-J., Lombardi, T., & Samson, J. (2011). Carence en vitamine B12 (1re partie): mise au point. *Médecine Buccale Chirurgie Buccale*, 17(3), 211– 224. doi:10.1051/mbcb/2011127.
- Lopez, A.-G., Kerlan, V., & Desailoud, R. (2020). Effets non classiques de la vitamine D: la vitamine D en dehors de l'os. *Annales d'Endocrinologie*. doi:10.1016/j.ando.2020.12.002.
- Mach, F., Marchandin, H., & Bichon, F. (2020). La mycose vaginale, traiter et éviter la récurrence. *Actualités pharmaceutiques*, 59(595-596), 43–46. doi:10.1016/j.actpha.2020.03.013 Repéré à: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0515370020300665>.
- Macias-Paz IU, Pérez-Hernández S, Tavera-Tapia A, Luna-Arias JP, Guerra- Cárdenas JE, Reyna-Beltrán E. *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. *Rev Argent Microbiol*. 2023 Apr-Jun;55(2):189- 198. doi: 10.1016/j.ram.2022.08.003. Epub 2022 Nov 18. PMID: 36411138.
- Mallet, E. (2014). Vitamine D. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 27(1), 29-38. doi:10.1016/j.jpp.2013.10.007.
- Menguelti, Y. (2021). Aspect clinique des mycoses superficielles diagnostiquées au service de dermatologie de l'hôpital Nedir à Tizi-Ouzou (Mémoire de Master. Université de Tizi-Ouzou).
- Mjid, M., Cherif, J., Ben Salah, N., Toujani, S., Ouahchi, Y., Zakhama, H., ... Beji, M. (2015). Épidémiologie de la tuberculose. *Revue de pneumologie*

- Clinique, 71(2-3), 67–72. doi:10.1016/j.pneumo.2014.04.002. Repéré à: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S076184171400073X>.
- Millon, L., Piarroux, R., Monod, M., & Meillet, D. (2002). Physiopathologie de la candidose oropharyngée au cours de l'infection par le VIH. *Médecine et maladies infectieuses*, 32(12), 696–703. doi:10.1016/s0399-077x(02)00458-4.
 - Nef, C. (2019). Métabolisme et interactions bactériennes en lien avec la vitamine B12 chez la microalgue haptophyte *Tisochrysis lutea* (Thèse de doctorat. Université de Nantes). p 26.
 - Nesty, k. (2016). Statut en vitamine D : étude observationnelle en court séjour de gériatrie (Thèse de doctorat. Université des Antilles et de la Guyane).
 - Noblin, X., Bassila, M. (2020). Biophysique de la croissance filamenteuse fongique et mécanique de perforation dans des élastomères (Thèse de doctorat. Université de France).P04
 - O'Leary, F., et Samman, S. (2010). Vitamin B12 in Health and Disease. *Nutrients*, 2(3), 299–316. doi:10.3390/nu2030299.
 - Oliel Msihid, M. (2017). Vitamine B12 et douleurs orofaciales : influence et intérêt thérapeutique (Thèse de docteur en chirurgie dentaire. Université Paris Diderot – Paris 7). Repérer à: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01713379>.
 - Pereira, R., Santos Fontenelle, R. O., Brito, E. H. S., & Morais, S. M. (2020). Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *Journal of applied microbiology*, 131(1), 11–22. doi:10.1111/jam.14949.
 - Perrin, J.f. (2020). Conservation des souches biblio, sitographie. Repérer à http://www.perrin33.com/genie_ferment/conservation_souches_bibliographie.php.
 - Pihet, M., et Marot, A. (2013). Diagnostic biologique des candidoses. *Revue francophone des laboratoires*, 2013(450), 47–61. doi:10.1016/s1773-035x(13)71946-4.
 - Piraux. A. (2021). Interest of vitamin D in COVID-19. Repéré à: https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33612960/&ved=2ahUKEwiwmfPFy5CGAxX7_rsIHXmHD3AQFnoECBcQAQ&usq=AOvVaw0A4RALPyP9seyIgFa2srNW.
 - Pirotte. B.F., Rassenfosse.M, Collin, Devoeght,A, Moutschen.M,Cavalier.E (4).(2013).Rôle de la vitamine D dans l'infection par le VIH: revue des

connaissances actuelles.68(1). P 25-31. Repéré à:

[https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/160248/1/R%C3%94LE%20DE%20LA%20VITA MINE%20DANS%20L%E2%80%99INFECTION.pdf](https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/160248/1/R%C3%94LE%20DE%20LA%20VITA%20MINE%20DANS%20L%E2%80%99INFECTION.pdf).

- Preynat, A. (2009). Interactions acide folique- vitamine B 12 méthionine : effet sur le métabolisme hépatique et la productivité des vaches laitière (Thèse de doctorat. Université Laval). P 55-57. Repéré à: <http://hdl.handle.net/20.500.11794/20717>.
- Podzolkov VI, Dragomiretskaya NA, Dambaeva OT, Auvinen ST, Medvedev ID. Hypervitaminosis B12 - a new marker and predictor of prognostically unfavorable diseases. Vol 91, No 8. (2019). P160-167. DOI: <https://doi.org/10.26442/00403660.2019.08.000378>. Repéré à: <https://ter-arkhiv.ru/0040-3660/article/view/33694>.
- Lee, R. Dowell, Mc. (2013). Vitamin history, the early years. chapter 1-in the beginning, history of vitamins. Repéré à: https://books.google.dz/books?id=bb9xPf6JqLgC&pg=PT73&hl=fr&source=gbs_selected_pages&cad=1#v=onepage&q&f=false.
- Richard, V. (2016). Vitamine D et nouvelles perspectives thérapeutiques (Thèse de docteur en pharmacie. Université de Picardie). P 11.
- Robertson. R et al. Arch Neurol. (1993). Vitamin B12 deficiency and nervous system disease in HIV infection. Repéré à: https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8352665/&ved=2ahUKEwi49K_tZCGAxWrS_EDHcNBCGAQFnoECBEQAQ&usg=AOvVaw2EI82GEEVobxMESYDvP29M.
- Rosenfeld, L. (1997). Vitamine—vitamin. The early years of discovery. Clinical chemistry, 43(4), 680–685. doi:10.1093/clinchem/43.4.680.
- Rosse, A. (2023). A quoi sert la vitamine B12. Repéré à: <https://www.pierre-jerome.com/blog/post/94-tout-savoir-vitamine-b12>.
- Rouaiguia, A. (2014). Contribution à l'étude des candidoses vulvo-vaginales chez la femme dans la région de Guelma (Mémoire de Master. Université de Guelma). P 06.
- Saadi, O. (2015). Les vitamines. Université d'Oran. Repéré à: https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://facm.edunivoran.dz/ressources/fichiers_produits/fichier_produit_1962.pdf&ved=2ahUKEwijklHZ1Y_uGAXUm_7sIHVP9BsIQFnoECCMQAQ&usg=AOvVaw1mI-

[FQYy31fUA1qPA8ekD1.](#)

- Sadat, N et Hamchache, C. (2021). Aspects moléculaires de la régulation de pathogénicités des espèces (Mémoire de Master. Université de Bijaia).p 17
- Schlienger, J.-L et Monnier, L. (2011). L'épopée de la découverte des vitamines. Médecine des maladies métaboliques, 5(6), 593–597. doi:10.1016/s1957- 2557(11)70324-8. Repéré à:<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1957255711703248>.
- Shadouh, C. (2021). Évaluations l'efficacité des questionnaires prédictifs du statut vitaminique D (Mémoire de Master. Université de liège). Repéré à: <http://hdl.handle.net/2268.2/11913>.
- Shahzad, S., Ashraf, M. A., Sajid, M., Shahzad, A., Rafique, A., et Mahmood, M. S. (2018). Evaluation of synergistic antimicrobial effect of vitamins (A, B1, B2, B6, B12, C, D, E and K) with antibiotics against resistant bacterial strains. Journal of global antimicrobial resistance, 13, 231–236. Doi:10.1016/j.jgar.2018.01.005.
- Semba, R. D. (2012). The discovery of the vitamins. International journal for vitamin and nutrition research, 82(5), 310–315. Doi:10.1024/0300- 9831/a000124.
- Serraj, K., Mecili, M., Housni, I., & Andrès, E. (2011). Hypervitaminémie B12 : physiopathologie et intérêt en pratique clinique. La presse médicale, 40(12), 1120–1121. doi:10.1016/j.lpm.2011.08.010.
- Souberbielle, J.-C. (2013). Actualités sur la vitamine D. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 48(2), 63–74. doi:10.1016/j.cnd.2013.01.001.
- Souberbielle, J. C. (2023). Métabolisme de la vitamine D ; focus sur ses effets phosphocalciques et osseux. Doi : 10.1016/j.cnd.2023.12.001.
- Srinidhi Rai., Sindhu ., Prajna., Shamantha Rai.et Rithesh. P. (2021). The Potential Role of Vitamin B12 in the Prevention of COVID-19 Complications: A Narrative Review.15(4). DOI: 10.22207/JPAM.15.4.04.
- Taqarort, N., & Chadli, S. (2020). Vitamine D et risque des infections respiratoires aiguës: grippe et COVID-19. Nutrition clinique et métabolisme. Doi:10.1016/j.nupar.2020.05.003. Repéré à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7377790/>.
- Tissandié, E., Guéguen, Y., A.Lobaccaro, J.-M., Aigueperse, J., & Souidi,

M. (2006). Vitamine D : Métabolisme, régulation et maladies associées. *Médecine/sciences*, 22(12), 1095–1100. Doi:10.1051/medsci/200622121095.

- Vatan, A. (2011). *La vitamine D: Ses Propriétés et son utilisation en médecine humaine* (Thèse de docteur en pharmacie. Université de Limoges).
- Vivien, M. (2013). *Le diabète de type 2 et le déficit en vitamine D* (Thèse de docteur en pharmacie. Université Angers). P 17
- Yaming, L. (2023). Micronutrients and immune function: the link between nutrition and disease resistance. Vol 7 (2).
- Zubiria, L. (2008). La vitamine B12 ou cobalamine. Repéré à https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/PalmaresNutriments/Fiche.aspx?doc= vitamine-b12_nu.