



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



**Université Aboubekr-BELKAÏD-Tlemcen**

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

**Département de Biologie**

*Laboratoire :*

*Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique*

**Mémoire**

Présenté par

**M<sup>lle</sup> Boukhari Fatima**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

**Filière :** Sciences biologiques

**Spécialité :** Biochimie

**Thème :**

**Contribution à l'étude d'une collection de souches cliniques de levures *Candida-non albicans***

Soutenu le 18 juillet , devant le jury composé de

Dr. Mezouar Dounia

Présidente

Université de Tlemcen

Dr. Kazi Tani-Baba Ahmed Zahira Zakia

Encadreur

Université de Tlemcen

Dr. Aissaoui Mohammed

Examineur

Université de Tamarasset

**Année universitaire 2023/2024**

## *Dédicace*

*Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.*

*C'est avec une fierté et une gratitude infinie que je dédie mon travail :*

*À mes précieux parents qui m'ont soutenue et qui ont été mes piliers toute au long de mon existence.*

*Mes parents, merci infiniment, c'est grâce à vous que je suis là aujourd'hui !  
grâce à vous j'ai appris le sens de travail et la responsabilité, je vous aime du fond du cœur*

*À mes chers frères et chères sœurs*

*À l'âme pure de ma sœur « Hafida », que Dieu lui fasse miséricorde*

*À mes amis Abdelkader et Soumia, je les remercie pour le courage qu'ils m'ont donné et tous les moments qu'on a passés ensemble*

***Fatima***

## ***Remerciements***

Ce travail a été effectué au Laboratoire « Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques » de l'université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

Je remercie sincèrement et très chaleureusement mon encadreur, **M<sup>me</sup> BABA AHMED-KAZI TANI Zahira Zakia**, Maître de conférences de classe A au Département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté la charge de m'encadrer, pour son soutien permanent, son aide, ses conseils fructueux. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier vivement **M<sup>lle</sup> MEZOUAR Dounia**, Maître de conférences de classe A au Département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury malgré ses multiples occupations. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.

J'adresse aussi mes vifs remerciements à **Mr AISSAOUI Mohammed**, Maître de conférences de classe B au Département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tamanrasset pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à **M<sup>lle</sup> BENATIA Fatima Zahra**, doctorante en biochimie, pour son aide, ses conseils et encouragements. À l'ensemble du personnel du laboratoire "Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, synthèse et activité biologique (LapSab)".

À tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

## المخلص

الف من هذا العمل هو أوائل تحديد مجموعة من سلالات المبيضات غير البكتيرية التي تنتمي إلى مخبر "المساب" شركت إنطربت، بضلات إنطربت: الفجاءة إنطربتية و إنطربتية والشيط لوبولوجي"، وتلما دراسة ونرنا على تكوّن أغشية حيوية أليفة لزوع ومخنطة وكذلك خصائصها المضلة إنطربت. تم إنعرف على تلك سلالات

من *Candida tropicalis*، *Candida glabrata* و *Candida famata*. وكشفت دراسة ملامح المبدأ عن

أن جميع السلالات كانت حساسة للموتريسين B والكربوفونين. أظهر التحديد الكمي للفترة الحيوية لأغشية الحيوية

المثوية نبي المخر أن سلالاتي *Candida tropicalis* و *Candida famata* كانت أهم فترة حياية على تكوّن

الأغشية الحيوية ومن ناحية أخرى، سلالة *Candida glabrata* على أنماض عينة التكويّن لأغشية الحيوية

لرؤية. فإن لدى المميز الذي خضعت للدراسة لفترة على تكوّن أغشية حيوية رؤية مختلفة. تلبت صحة العنفة

الحيوية لرؤية المبدأ وتا أو لسالة ولويت.

الكلمات المفتاحية: تحديد إنم، المبيضات غير البكتيرية، إغشاء الحيوي الرقيق

## Résumé

L'objectif de ce travail était d'identifier dans un premier temps une collection de souches de *Candida non-albicans* appartenant au laboratoire « Antifongiques, Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique LapSab » et étudier dans un second temps, leurs capacités à former des biofilms mono-espèce et mixtes ainsi que leurs profils de résistance aux antifongiques. L'identification a permis de mettre en évidence trois souches de levures *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* et *Candida famata*. L'étude des profils de résistance a révélé que toutes les souches étaient sensibles à l'amphotéricine B et à la caspofungine. La quantification des biomasses des biofilms formés *in vitro* a montré que les deux souches *Candida tropicalis* et *Candida famata* avaient une forte capacité à former des biofilms. La souche *Candida glabrata* était à l'inverse catégorisée faiblement formatrice de biofilms. Les levures étudiées avaient le pouvoir de former des biofilms mixtes entre eux. La quantité des biofilms produite variait en fonction des souches et du temps.

**Mots clés :** cavité buccale, *Candida non-albicans*, biofilm

## Summary

The aim of this work was firstly to identify a collection of *Candida non-albicans* strains belonging to the “Antifongiques, Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique LapSab” laboratory, and secondly to study their ability to form mono-species and mixed biofilms, as well as their antifungal resistance profiles. Three yeast strains were identified: *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* and *Candida famata*. Resistance profiles revealed that all strains were sensitive to amphotericin B and caspofungin. Quantification of the biomass of biofilms formed in vitro showed that both *Candida tropicalis* and *Candida famata* strains had a strong capacity to form biofilms. *Candida glabrata*, on the other hand, was classified as a weak biofilm-former. The yeasts studied had the ability to form mixed biofilms. The amount of biofilm produced varied according to strain and time.

Keywords: oral cavity, *Candida non-albicans*, biofilm

## Listes des tableaux

**Tableau N°1.** Aspect des *Candida* spp sur CHROM-Agar™ (Sigma)

**Tableau N°2.** Niveau formation de biofilms selon la valeur de l'absorbance

**Tableau N°3.** Identification des souches de *Candida non-albicans* étudiées

## Listes des Figures

**Figure N°1.** Photographie de biofilms mixte *Candida glabrata* (vert) *Candida albicans* (rouge)

**Figure N°2.** Les étapes de formation de biofilm fongique

**Figure N°3.** Concentrations Minimales Inhibitrices de l'amphotéricine B et de la caspofungine vis-à-vis des souches de *Candida non-albicans* étudiées

**Figure N°4.** Biomasses des biofilms mono-espèces formés *in vitro* par les souches de *Candida non-albicans* étudiées

**Figure N°5.** Biomasses des biofilms mixtes formés *in vitro par* les souches de *Candida non-albicans* étudiées



# Table des matières

<b>Première partie : Synthèse bibliographique .....</b>	<b>1</b>
<b>Deuxième partie : Matériel et méthodes .....</b>	<b>8</b>
1. Souches étudiées.....	9
2. Identification des souches .....	9
3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des cellules planctoniques.....	10
4. Evaluation de la capacité des souches à former des biofilms.....	11
<b>Troisième partie : Résultats et discussion .....</b>	<b>12</b>
1. Identification des souches .....	13
2. Concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B et de la Caspofungine vis-à-vis des souches de <i>Candida non-albicans</i> étudiées.....	14
3. Biomasses des biofilms mono-espèce formés <i>in vitro</i> par les souches de <i>Candida non-albicans</i> étudiées.....	16
4. Biomasses des biofilms mixte formés <i>in vitro</i> par les souches de <i>Candida non-albicans</i> étudiées.....	17
<b>Quatrième partie : Conclusion .....</b>	<b>18</b>
<b>Cinquième partie : Références bibliographiques .....</b>	<b>20</b>

Partie 1.

Synthèse bibliographique

Le microbiote buccal est le deuxième plus complexe du corps humain, après le microbiote associé à l'intestin **(Caselli et coll., 2020)**.

Sa croissance dépend de plusieurs paramètres intrinsèques, notamment l'humidité, la température, le pH, le potentiel redox, la disponibilité en nutriments, les surfaces à coloniser, le flux salivaire, ainsi que des paramètres extrinsèques tel que l'hygiène bucco-dentaire et l'alimentation **(Marsh et Zaura, 2017)**.

La composition du microbiote buccal varie en fonction de l'âge, du site de prélèvement et ses composants cohabitent dans un équilibre physicochimique **(Kilian et coll., 2016)**.

Le microbiote buccal commensal joue un rôle important dans le maintien de la santé bucco-dentaire. Son équilibre délicat peut être facilement altéré, provoquant des pathologies buccales telles que les maladies endodontiques des caries, les maladies parodontales, l'ostéite et l'amygdalite et peut être associé au développement de plusieurs maladies systémiques **(Kerr, 2015) ;(Fan et coll., 2018)**.

Le microbiote fongique buccal est un composant important du microbiote buccal. Le genre *Candida* est présent chez environ 25 à 75 % des individus sains en tant qu'organisme commensal **(Barros et coll., 2016)**.

La majorité des infections fongiques buccales résultent de conditions opportunistes. L'affaiblissement de la résistance de l'hôte permet l'initiation et la progression de conditions pathogènes par le biais d'une colonisation locale de la cavité buccale **(Arvind et coll., 2021)**.

La candidose buccale est une maladie fongique fréquente causée par *Candida spp* avec l'apparition de lésions blanches affectant généralement la muqueuse buccale ou oropharyngée **(Wang et coll., 2016)**. Les formes cliniques de candidose buccale comprennent : érythémateuse, pseudomembraneuse et hypertrophique **(Černáková et coll., 2022)**.

La candidose buccale peut être influencée par divers facteurs prédisposants, notamment des affections systémiques telles qu'une altération des mécanismes de défense, diabète, maladies congénitales et utilisation d'antibiotiques à large spectre, ainsi qu'à des facteurs locaux tels qu'une mauvaise hygiène bucco-dentaire et une production réduite de salive **(Rautemaa et Ramage, 2011)**.

*Candida albicans* est l'agent causal le plus courant et le plus important de la candidose buccale (**Kessler et coll., 2022**). Cependant, ces dernières années, d'autres espèces de *Candida non-albicans* ont été de plus en plus fréquemment rapportées dans des cas de candidose buccale, en particulier *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* et *Candida famata*, ce qui pose certains défis en ce qui concerne l'administration d'antifongiques et l'efficacité du traitement (**Radithia et coll., 2020**).

*Candida tropicalis* est le plus virulent des espèces *Candida non-albicans*. Il se présente phénotypiquement comme un tube germinatif négatif, ne produit pas de chlamydospores, de forme ovoïde ou sphérique, mesurant généralement entre 4 à 8 µm de diamètre, formant des colonies apparaissent sur Chrom Agar *Candida* généralement de couleur bleu à bleu-gris, avec parfois des reflets métallique (**Leite-Jr et coll., 2023**). Sa paroi cellulaire est composée principalement de glucanes, de chitine et de mannanes. Les β-glucanes constituent environ 60% de la paroi cellulaire et sont essentiels pour la rigidité et l'intégrité structurelle de la cellule. La couche externe est riche en mannanes qui jouent un rôle majeur dans l'adhésion aux surfaces et dans la virulence (**Gow et coll., 2017**). *Candida tropicalis* a la capacité de fermenter et d'assimiler le saccharose et le maltose (**Sónia Silva et coll., 2012**). De plus, elle est généralement résistante aux antifongiques azolés et aux échinocandines (**Sanguinetti et coll., 2015**).

*Candida glabrata* (*Nakoseomyces glabratus*), se présente sous forme de levure haploïde, ovoïde ou sphérique de 1 à 4µm. Elle se multiplie par bourgeonnement et est caractérisée par l'absence de filaments mycéliens. Elle forme des colonies de couleur rose à violette sur milieu Chrom Agar (**Rodrigues et coll., 2014**). Elle fermente et assimile uniquement le glucose et le tréhalose comme source de carbone (**Duggan et Usher, 2023**). De plus, elle a une capacité à développer rapidement une résistance au fluconazole. Les infections à *Candida glabrata* sont difficiles à traiter et sont associées à des infections systémiques ayant un taux de mortalité élevé. Elle présente une capacité d'adhérence aux kératinocytes buccaux inférieure à celle de *Candida albicans* (**Meurmen et coll., 2007**).

Les levures *Candida famata* sont de forme haploïde, ovale à allongée de 2 à 5 µm avec production de bourgeonnement par gemmation multilatérale. Elles sont capables de former des pseudo-hyphes et des hyphes vrais, mais de façon moins abondante que d'autres espèces de *Candida* pathogènes (**Breuer et Harms, 2006**). Elles forment des colonies de couleur blanche à crème sur Chrom Agar *Candida*, lisse et brillante. Elles synthétisent des riboflavines de façon naturelle grâce à un ensemble de gènes impliqués dans la voie de biosynthèse de cette vitamine (**Gordon et coll., 2018**). De plus, *Candida famata* est généralement sensible aux antifongiques de la classe des azolés et à l'amphotéricine B (**Abbas et Sibirny, 2011**).

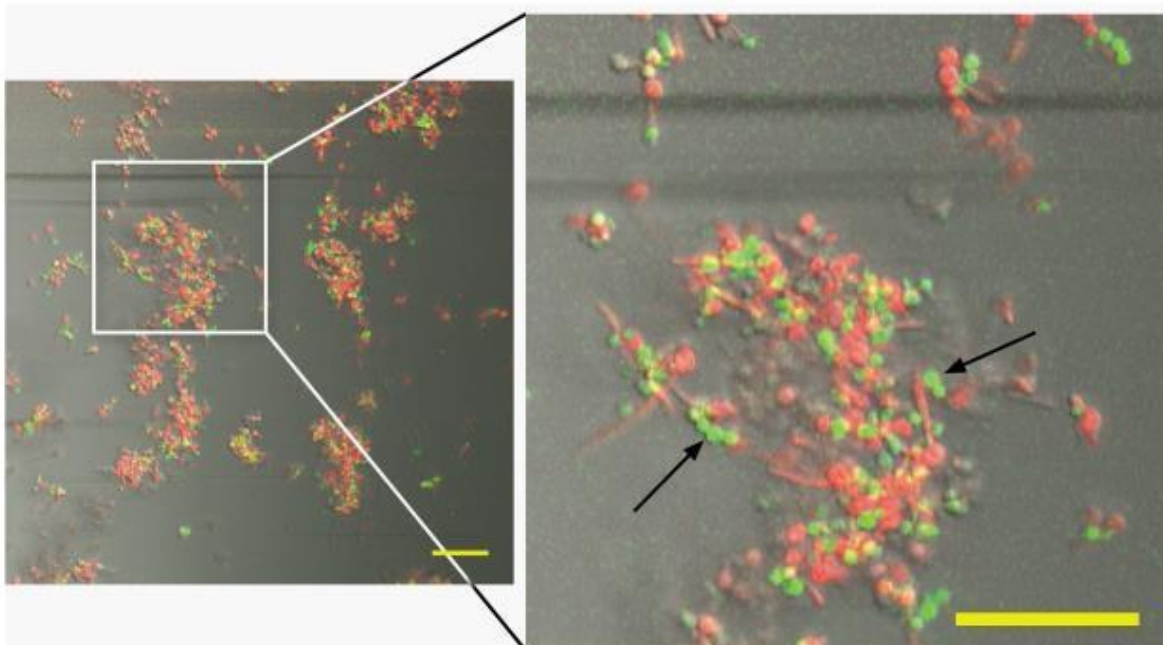
La transition de *Candida non-albicans* d'un commensal inoffensif à un organisme pathogène est complexe et est liée à des changements environnementaux subtils qui conduisent à l'expression d'une série de facteurs de virulence tels que le dimorphisme, la commutation phénotypique (**Silva et coll., 2012**), la production d'enzymes extracellulaires, les propriétés adhésives et la formation de biofilms (**Sousa et coll., 2016**). Elle contribue à la colonisation et à la persistance de *Candida non-albicans* dans la cavité buccale (**Kang et coll., 2016**).

La plupart des espèces de *Candida non-albicans* forment *in vivo* des structures hyphales qui aident la levure à pénétrer dans l'épithélium buccal et à adhérer à la surface de la muqueuse où se forme un biofilm (**Davis et coll., 2007**). Ce dernier est un film presque invisible de cellules fongiques reliées entre elles et intégrées dans une matrice polysaccharidique extracellulaire qui s'accumule sur les surfaces dentaires et gingivales (**Reese et Guggenheim, 2007**). Il est très hétérogène et varie en fonction des zones de la cavité buccale ainsi que des individus et de la qualité de leur hygiène buccale (**Marsh, 2006**).

La formation du biofilm buccal est un processus en plusieurs étapes. La première, et la plus importante, est celle du saprophytisme où les levures se nourrissent des débris alimentaires et des cellules épithéliales desquamées présentes dans la surface (**Pamoukdjian et coll., 2016**). Ensuite, les cellules fongiques vont s'agglutiner, se multiplier et former des microcolonies. Lors de l'étape de maturation du biofilm, les levures synthétisent un exopolysaccharide et d'autres constituants de la matrice polymérique (**Branco et coll., 2023**).

Le biofilm mature représente une structure complexe et les levures de diverses régions du biofilm pourront exprimer des gènes différents. L'étape finale de la formation d'un biofilm est le détachement et la dispersion de cellules fongiques, qui jouent un rôle important dans la propagation de l'infection bucco-dentaire (**Branco et coll., 2023**).

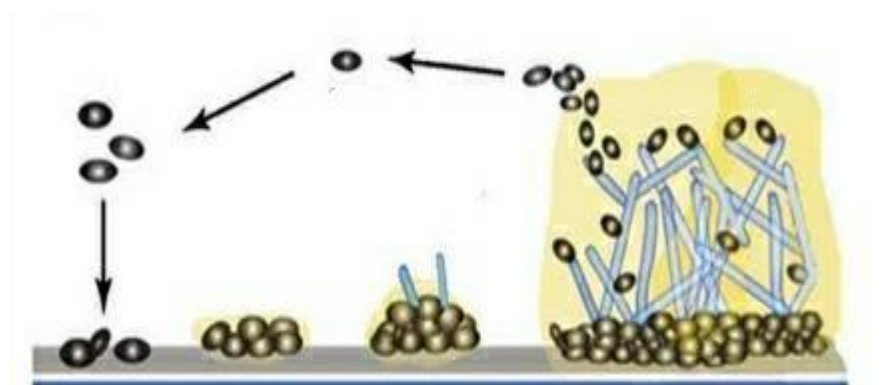
Les *Candida non-albicans* peuvent coexister et former des biofilms mixtes avec d'autres espèces de *Candida* ou avec d'autres micro-organismes comme des bactéries (**Rodrigues et coll., 2020**). Les microorganismes au sein du biofilm communiquent entre eux par des mécanismes de "Quorum sensing", ce qui permet une coordination de leurs activités métaboliques et de leur comportement. Ces biofilms mixtes ont généralement une architecture plus complexe et une matrice extracellulaire plus robuste que les mono-espèces, ce qui les rend plus résistants aux agents antimicrobiens (**Mazari et coll., 2017**). L'étude de **Tati et coll., (2016)** a mis en évidence la formation de biofilms mixtes entre *Candida albicans* et *Candida glabrata* dans le contexte de la candidose oropharyngée. Les chercheurs qui ont montré que la biomasse du biofilm jeune formé par *Candida albicans* et *Candida glabrata* est plus importante que celle du biofilm formé par ces espèces séparées (**Figure 1**).



**Figure 1. Photographie de biofilms mixtes *Candida glabrata* (vert) *Candida albicans* (rouge) (Tati et coll., 2016)**

Divers agents topiques et systémiques sont disponibles pour le traitement de la candidose buccale. Les agents antifongiques systémiques, y compris les triazoles, la caspofungine, le fluconazole et l'itraconazole, conviennent aux patients qui ne répondent pas ou sont intolérants au traitement topique et à ceux qui présentent un risque élevé de développer des infections systémiques (**Akpan et Morgan, 2002**). Cependant, de nombreuses interactions médicamenteuses et une sensibilité réduite des espèces *Candida non-albicans* aux azolés limitent l'application d'agents antifongiques systémique. Les agents antifongiques topiques, tels que la nystatine, l'amphotéricine B, le miconazole et le clotrimazole, sont généralement recommandés comme traitement de première intention pour les cas non compliqués de candidose buccale (**Lyu et coll., 2016**)

Les espèces de *Candida non-albicans* peuvent développer divers mécanismes de résistance aux antifongiques, ce qui peut compliquer le traitement des infections bucco-dentaires. Cette résistance est favorisée par l'utilisation fréquente d'antifongiques parfois de manière inappropriée (**Salerno et coll., 2011**). Elle est due à des mutations génétiques spontanées dans les gènes cibles des médicaments, dans les gènes liés à leur transport (efflux) ou à la formation de biofilms (**Guillot et Dannaoui, 2015**) (**figure 2**). En effet, plusieurs études ont rapporté que les cellules sessiles de *Candida non-albicans* sont plus résistantes aux antifongiques que leurs homologues planctoniques **Seddiki et coll., (2015)** ; **Fernandes et coll., (2016)** ; **Hatwig et coll., (2019)** ;



**Figure 2. Les étapes de formation d'un biofilm fongique (Harding et coll., 2009)**

Dans le cadre d'un projet de recherche sur les altérations buccodentaires chez les enfants immunodéprimés, le présent travail a été entrepris dans le but d'identifier dans un premier temps une collection de souches de *Candida non-albicans* isolées de la cavité buccale d'enfants immunodéprimés et appartenant au laboratoire LapSab, et dans un second temps d'étudier leur capacité à former *in vitro* des biofilms mono-espèces et mixte ainsi que leur profils de résistance aux antifongiques.



Partie 2.

Matériel et méthodes

Ce travail est réalisé au laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique LapSab » de l'université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen

## 1. Souches étudiées

Nous avons utilisé une collection souches de *Candida non-albicans* isolées de cavité buccale d'enfants immunodéprimés. Ces souches sont entretenues par repiquage régulier et conservées à 4°C au laboratoire LapSab.

## 2. Identification des souches

L'identification des souches est réalisée par croissance sur CHROM-Agar™ *Candida*, par test de Blastèse ou test de filamentation des levures dans le sérum humain, la recherche de chlamydozoaires sur milieu RAT (Rice Agar Tween) et Galerie API *Candida*.

### 2.1. Croissance sur CHROM-Agar™ *Candida*

Le CHROM-Agar™ *Candida* est un milieu sélectif et différentiel permettant d'isoler rapidement *Candida albicans*, *Candida Krusei*, *Candida Tropicalis* et *Candida glabrata* à partir de cultures mixtes, en se basant sur la coloration et la morphologie des colonies (**Tableau N°1**). Des boîtes de Pétri contenant du CHROM-Agar™ *Candida* sontensemencées par des stries puis placées dans une étuve à 35°C pendant 48 heures.

**Tableau N° 1 : Aspect des *Candida* spp sur CHROM-Agar™ (Sigma)**

Levures	Couleurs des colonies
<i>Candida albicans</i>	Vert clair
<i>Candida tropicalis</i>	Bleu à violet
<i>Candida glabrata</i>	Pourpre, flou
<i>Candida krusei</i>	Blanc crème

### 2.2. Test de blastèse (test de germination)

La souche à tester estensemencée dans 1mL de sérum humain provenant d'un donneur sain, puis incubée à 35°C pendant 3-4 heures. Pour observer les résultats,

une goutte de cette suspension est prélevée et placée entre lame et lamelle, puis observée au microscope optique (Grossissement $\times 40$ ). Cette observation microscopique est réalisée pour mettre en évidence la présence de tubes germinatifs (**Chabasse et coll., 2010**).

### **2.3. Test de RAT**

Une colonie provenant d'une préculture de 24 heures de la souche à analyser est ensemencée par stries sur gélose Rice Agar Tween (RAT) incliné en tube, avec une pique centrale profonde. Après incubation pendant 48 heures à une température de 28°C, une observation microscopique révélant la présence de la forme levure, avec des pseudo-mycélium, des blastopores et des chlamydospores.

### **2.4. Galerie API *Candida***

A partir d'une culture jeune de levure (18 à 24 heures), l'inoculum est ajusté à une concentration cellulaire de  $10^6$  cellules/ml, est reparti dans chacune des cupules de la galerie. Pour créer l'anaérobiose, l'huile de paraffine est ajoutée dans les 5 premières cupules plus la dernière. La galerie ainsi préparée est placée dans une étuve à 35°C pendant 18 à 24 heures. Les virages de couleur dans les cupules se traduisent par l'établissement d'un code à 4 chiffres pour chaque souche. L'identification se fait à l'aide du tableau d'identification fourni avec les galeries.

## **3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des cellules planctoniques**

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont déterminées par la technique de microdilution selon les recommandations du *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2008)*. Le milieu utilisé est le Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640) tamponné à pH 7 par l'acide morpholinepropanesulfonic (MOPS) (sigma).

A partir d'une culture de 24 heures sur gélose sabouraud, une suspension levurienne de  $3 \times 10^6$  cellules/mL est préparée dans l'eau physiologique stérile à 8,5 ‰ par un dénombrement cellulaire sur cellule de Thoma. Des dilutions au 1/50 puis au 1/20 dans le milieu RPMI sont réalisées pour obtenir une concentration cellulaire de départ égale à  $1,5 \times 10^3$  cellules/ mL. Cent  $\mu$ L de l'inoculum sont ajoutés dans chaque puits. Les solutions mères d'antifongiques sont préparées en solubilisant l'amphotéricine B dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) et la caspofungine dans l'eau distillée stérile. Les concentrations finales en antifongiques dans chaque puits sont comprises entre 0,06 et 16  $\mu$ g/mL pour l'amphotéricine B et 0,03 à 8  $\mu$ g/mL pour la

caspofungine. Les microplaques sont scellées et placées dans une étuve à 35°C pendant 24 heures. Les CMI sont déterminées à l'œil nu pour l'amphotéricine B et par dénombrement des cellules viables sur cellule de Thoma pour caspofungine.

#### **4. Evaluation de la capacité des souches à former des biofilms (Christensen et coll., 1985)**

A partir de souches conservées à 4°C sur gélose sabouraud, une préculture est réalisée dans des eppendorfs contenant 1mL du milieu sabouraud liquide. Après incubation à 35°C pendant 24 heures, la suspension est centrifugée à 3000 g pendant 5 minutes à 4°C. Le culot est lavé trois fois avec du tampon phosphate salé (PBS) (10 mM pH 7,4) puis suspendu dans le RPMI 1640 tamponné a pH 7,4.

La concentration cellulaire de départ est fixée à 10<sup>6</sup> cellules/ ml par dénombrement des levures sur cellule de Thoma. 100 µL de cette suspension levurienne sont déposés dans chaque puits d'une microplaque 96 puits. La plaque est ensuite scellée puis placée dans une étuve à 35 °C pendant 24 heures.

Après la formation du biofilm, le milieu est aspiré et les puits sont lavés avec du PBS stérile (10 mM pH 7,4) pour éliminer les cellules planctoniques et /ou les cellules non adhérentes.

Pour la fixation du biofilm, 100 µL de méthanol (99%) sont ajoutés. Après une incubation de 15 minutes à température ambiante, les puits sont lavés et remplis par 100 µL d'une solution de Crystal violet (2,5%). Les plaques sont incubées pendant 20 minutes à température ambiante. Le Crystal violet lié au biofilms est libéré par addition de 150 µL d'acide acétique (33%). La densité optique est ensuite lue à 570 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Biotek, ELx800).

L'interprétation des résultats se fait à l'aide de tableau suivant :

**Tableau N°2. Niveau formation de biofilms selon la valeur de l'absorbance (Marcos-zambrano et coll., 2014).**

<b>Absorbance</b>	<b>Formation biofilm</b>
<b>&lt; 0,44</b>	<b>Faible</b>

<b>0,44 à 1,17</b>	<b>Modéré</b>
<b>&gt; 1,17</b>	<b>Haute</b>

Partie 3.

Résultats et discussion

### 1. Identification des souches

Le présent travail a porté sur une collection de 3 souches de levures *Candida*-non *albicans* isolées de la cavité buccale d'enfants immunodéprimés et conservées au laboratoire LapSab.

La revivification des souches suivie d'une identification par croissance sur milieu Chrom-Agar<sup>™</sup> *Candida*, test de blastèse, test de RAT et galerie API *Candida* a permis d'assigner une souche au genre espèce *Candida tropicalis*, une souche à *Candida glabrata* et une souche à *Candida famata*.

Les résultats des tests d'identification sont regroupés dans le Tableau N°3.

**Tableau N°3. Identification des souches de *Candida non-albicans* étudiées**

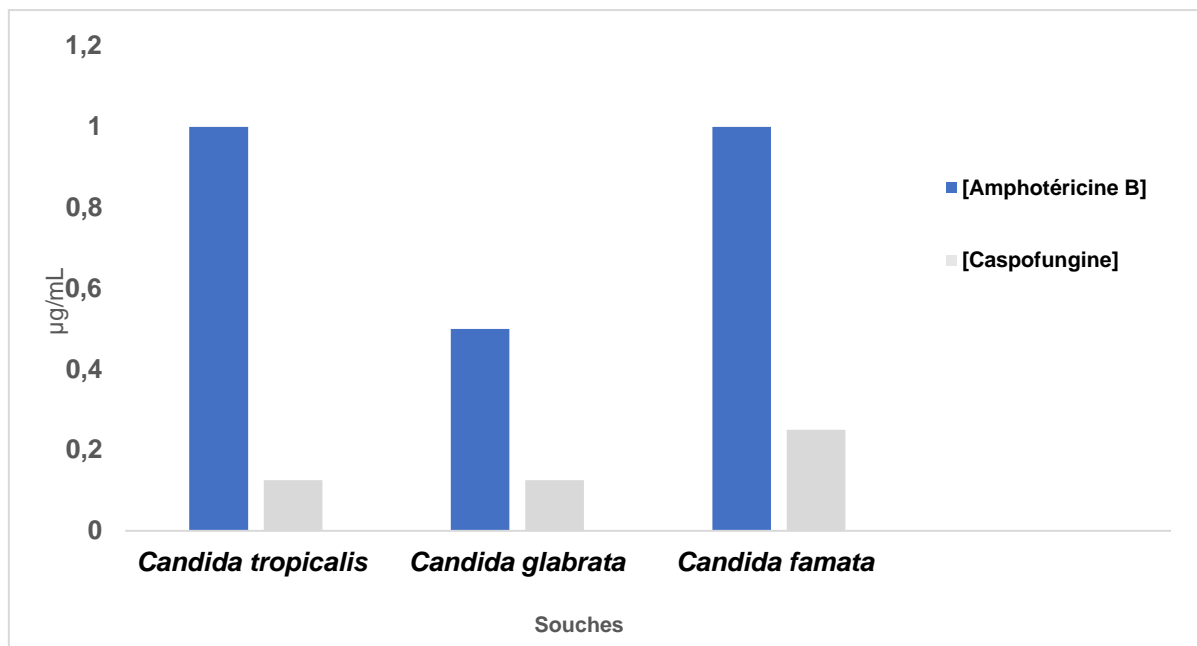
Tests	C11	C4	C7
CHROM-Agar <sup>™</sup> <i>Candida</i>	Bleu	Blanc	Mauve
Blastèse	Négatif	Négatif	Négatif
RAT	Positif	Positif	Négatif
Biotype	7110	1100	5000
Identification	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida famata</i>

Selon **Pincus et ses collaborateurs (2007)**, l'identification par galerie API *Candida* présente une excellente spécificité allant de 68 % à 97,4 %. Cependant, bien que la morphologie initiale ne soit pas nécessaire pour l'identification, cette caractéristique phénotypique peut être utile pour éviter certaines erreurs d'identification.

Les levures *Candida non-albicans* font partie de la flore commensale buccale. Elles sont considérées comme des agents pathogènes émergents importants dans la cavité buccale chez les enfants immunodéprimés (**Muadcheingka et Tantivitayakul, 2015**).

## 2. Concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B et de la Caspofungine vis-à-vis des souches de *Candida non-albicans* étudiées

Les résultats relatifs aux concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B et de la caspofungine vis-à-vis des souches de *Candida non-albicans* étudiées après 24 heures d'incubations à 35°C sont représentés sur la **figure N°3**.



**Figure N°3 : Concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B et de la caspofungine vis-à-vis des souches de *Candida non-albicans* étudiées**

Nous constatons que les concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B et de la caspofungine vis-à-vis des souches de *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* et *Candida famata* après 24h d'incubation étaient de 0,5 µg/mL à 1 µg/mL et de 0,125 µg/mL à 0,25 µg/mL respectivement.

Selon les critères du **Clinical Laboratory Standard Institute (2008)**, ces souches sont catégorisées sensibles à ces antifongiques.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Sanitá et ses collaborateurs (2013)** qui ont montré l'efficacité de ces deux molécules antifongiques vis-à-vis des souches de *Candida non albicans*. Cependant en **2023**, **Erfaninejad et ses collaborateurs** ont montré que 14.29% des souches de *Candida famata* isolées de la cavité buccale étaient résistantes à amphotéricine B avec des CMI  $\geq 2\mu\text{g/mL}$ . Selon ces mêmes auteurs, 19.2% des souches de *Candida tropicalis* isolées et 25% de *Candida glabrata* possédaient des CMI estimées à 2 µg/mL pour la caspofungine.

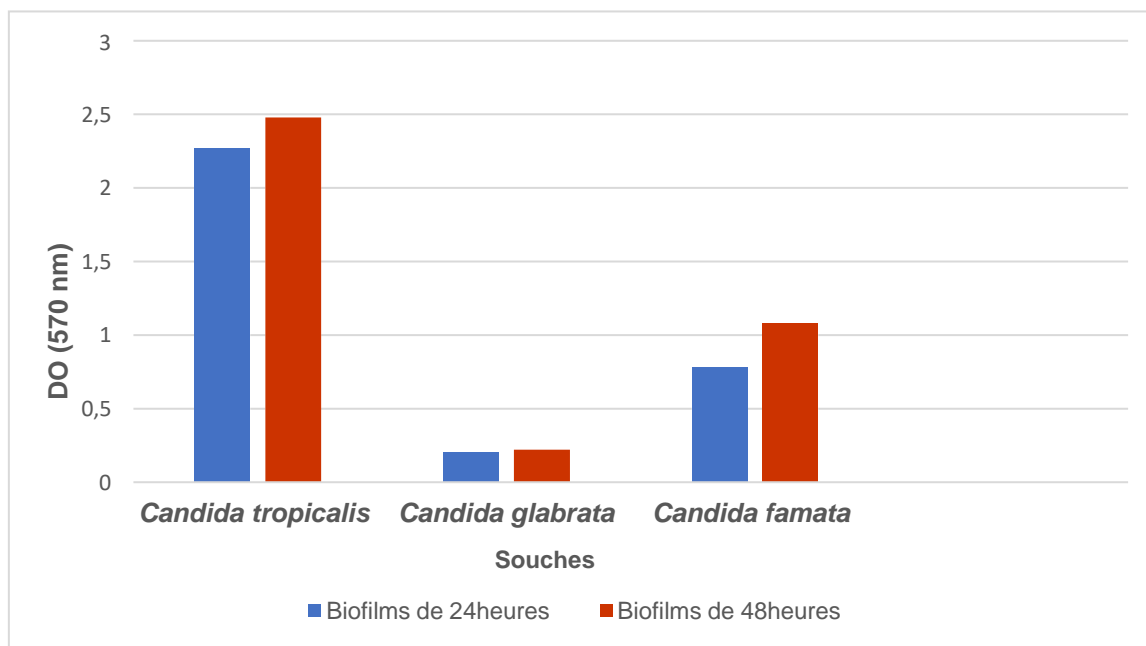


La résistance à l'amphotéricine B chez *Candida spp* est encore rare et inhabituelle. Elle pourrait être liée soit à une diminution des niveaux d'ergostérol dans la membrane cellulaire soit à une modification de la cible membranaire de ce médicament. Quelle que soit la modification, elle entraîne la baisse de la concentration intracellulaire de l'amphotéricine B, diminuant ainsi son efficacité antifongique (Ksiezopolska et coll., 2018).

Les études précédentes indiquent que *Candida famata* développe la résistance à caspofungine rarement, notamment lorsqu'il est présent dans la cavité buccale de patients du systéme immunitaire affaibli (Alçi et coll., 2022). Il faut rappeler que la caspofungine est un antifongique qui inhibe la synthèse de  $\beta(1-3)$  glucane, un composant essentiel de la paroi cellulaire de nombreux champignons (Patil et Majumdar, 2017).

### 3. Biomasses des biofilms mono-espèce formés *in vitro* par les souches de *Candida non-albicans* étudiées

Les résultats relatifs à la quantification des biomasses des biofilms mono-espèce formés *in vitro* par les levures de *Candida non-albicans* étudiées après 24 et 48 heures d'incubations à 35°C sont présentés sur la **Figure N°4**.



**Figure N°4 : Biomasses des biofilms mono-espèce formés *in vitro* par les souches de *Candida non-albicans* étudiées**

Selon les intervalles fixés par **Marcos-zambrano et ses collaborateurs (2014)**, nous remarquons que la souche de *Candida tropicalis* est fortement formatrice de biofilms avec des densités optiques de 2,27 et 2,48 après 24 heures et 48h d'incubation respectivement.

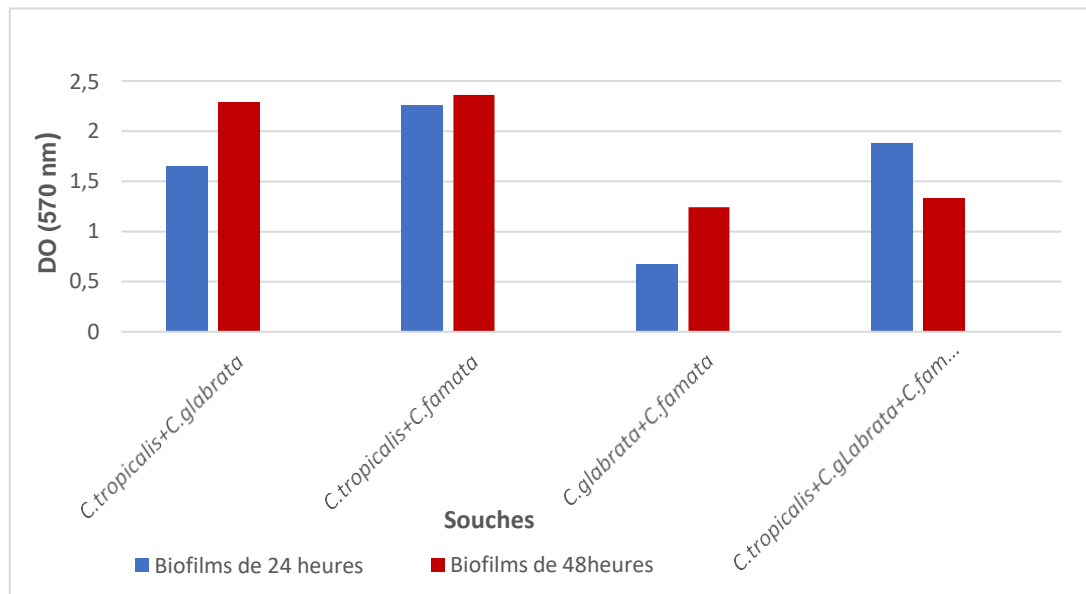
La souche *Candida famata* est modérément formatrice de biofilms avec une densité optique de 0,78 après 24 h d'incubation et une de 1,08 après 48h d'incubation. Pour la souche *Candida glabrata*, elle est catégorisée faiblement formatrice de biofilms quelque soit le temps d'incubation (0,20 ; 0,22).

Ce résultat est en accord avec ceux de **Leerahakan et ses collaborateurs (2022)** qui ont rapportés que les souches de *Candida tropicalis* avaient une plus grande capacité de formation de biofilm buccal que les autres souches de *Candida spp* isolées de la cavité buccale de patients immunodéprimés.

En effet, les biomasses des biofilms restaient relativement stable au fil du temps une fois que le biofilm avait atteint sa maturité. Cette stabilité peut s'expliquer soit par un équilibre dynamique entre la croissance cellulaire et le détachement du biofilm, soit à des mécanismes de régulation intrinsèques qui soutiennent la cohésion et l'adaptabilité du biofilm face aux conditions environnementales changeante (**Silva et coll., 2010**).

#### **4. Biomasses des biofilms mixte formés *in vitro* par les souches de *Candida non-albicans* étudiées**

Les résultats relatifs à la quantification de la biomasse des biofilms mixte formés *in vitro* par les levures de *Candida non-albicans* étudiées après 24 et 48 heures d'incubations à 35°C sont présentés sur la **Figure N°5**.



**Figure N°5: Biomasses des biofilms mixte formés *in vitro* par les souches de *Candida non-albicans* étudiées**

Pour les biofilms mixtes *Candida tropicalis* / *Candida glabrata* ; *Candida tropicalis* / *Candida famata* ; *Candida glabrata* / *Candida famata*, nous remarquons que la quantité de biomasses dépend de l'âge du biofilm, elle atteint un maximum pour les biofilms matures c'est-à-dire après 48 heures d'incubation à 35°C.

En ce qui concerne le biofilms mixte *Candida tropicalis* / *Candida glabrata* / *Candida famata*, nous remarquons une forte capacité à former des biofilms avec une densité optique de 1,88 après 24 heures d'incubation. Au bout 48 heures d'incubation, la densité optique est diminuée à 1,33. Cela peut être expliquer par la dispersion du biofilm ou le détachement des cellules au cours de sa formation (**Silva-Dias et coll., 2015**).

La biomasse des biofilms buccaux mixtes de *Candida non-albicans* est influencée par l'espèce spécifique de *Candida*. Ces souches peuvent coopérer ou entrer en compétition entre elles, modifiant non seulement la quantité de biomasse formée, mais aussi la structure tridimensionnelle du biofilm et sa capacité à provoquer des infections persistantes (**Pathirana et coll., 2019**).

Partie 4.

Conclusion

Ce travail avait pour objectif d'identifier dans un premier temps une collection de souches de *Candida non-albicans* isolées de la cavité buccale d'enfants immunodéprimés, et dans un second temps, d'étudier leurs capacités à former *in vitro* des biofilms ainsi que leurs profils de résistance aux antifongiques.

Les résultats obtenus, nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- L'identification a permis de mettre en évidence une souche de *Candida tropicalis*, une souche de *Candida glabrata* et une souche de *Candida famata*.
- Les concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B et de la caspofungine obtenus ont montré que les trois souches étaient sensibles à ces molécules.
- Les deux souches *Candida tropicalis* et *Candida famata* avaient un fort potentiel à former les biofilms. En revanche, la souche de *Candida glabrata* était catégorisé faiblement formatrice de biofilms.
- Les souches de *Candida non-albicans* étudiées avaient le pouvoir de former des biofilms mixtes entre eux. Les quantités des biofilms produites étaient différentes en fonction des souches et du temps.

En perspective, il serait intéressant de

- Elargir le panel des souches à étudier
- Evaluer l'efficacité des associations d'antifongiques vis-à-vis des souches planctoniques et sessiles.
- Etudier les interactions qui régissent la formation des biofilms mixtes, notamment le quorum sensing.

Partie 5.

Références bibliographiques

1. **A Akpan, R Morgan, 2002.** Oral candidiasis, *Postgraduate Medical Journal*, Volume 78, Issue 922, Pages 455–459
2. **Abbas, C. A., & Sibirny, A. A. (2011).** Genetic control of biosynthesis and transport of riboflavin and flavin nucleotides and construction of robust biotechnological producers. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75(2), 321-360.
3. **Alçi, G., Keçeli, S. A., & Sarıtaş, B. M. (2022).** Distribution of *Candida* Species Isolated from Different Clinical Specimens and Their Antifungal Susceptibility Profile: A 5 Year Retrospective Analysis. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(1), 92-98.
4. **Arvind Babu Rajendra Santosh Keerthi Muddana Shobha Rani Bakki. 2021.** Fungal Infections of Oral Cavity: Diagnosis, Management, and Association with COVID-19. *SN Comprehensive Clinical Medicine*, 3 :1373–1384
5. **Barros, P.P.; Ribeiro, F.C.; Rossoni, R.D. 2016.** Influence of *Candida krusei* and *Candida glabrata* on *Candida albicans* gene expression *In Vitro* biofilms. *Arch. Oral Biol*, 64, 92–101
6. **Branco, J.; Miranda, I.M.; Rodrigues, A.G. 2023.** *Candida parapsilosis* Virulence and Antifungal Resistance Mechanisms: A Comprehensive Review of Key Determinants. *J. Fungi*, 9, 80.
7. **C. F. Rodrigues & S. Silva & M. Henriques (2014).** *Candida glabrata* : a review of its features and resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2014) 33:673–688
8. **Caselli, Chiara Fabbri, Maria D'Accolti, Irene Soffritti, Cristian Bassi, Sante Mazzacane and Maurizio Franchi. 2020.** Defining the oral microbiome by whole genome sequencing and resistome analysis: the complexity of the healthy picture. *BMC Microbiology* 20 :120.
9. **Černáková L, Líšková A, Lengyelová L, Rodrigues CF. 2022.** Prevalence and Antifungal Susceptibility Profile of Oral *Candida* spp. Isolates from a Hospital in Slovakia. *Medicina*. 58(5):576
10. **D. H. Pincus, S. Orega, S. 2007.** Chatellier, Identification de la levure - méthodes passées, présentes et futures, *Medical Mycology*, Volume 45, Numéro 2, pages 97-121,

11. **Davis SL, Vazquez JA, McKinnon PS.2007.** Épidémiologie, facteurs de risque et résultats de la candidémie à *Candida albicans* par rapport à la candidémie non albicans chez les patients non neutropéniques. Ann Pharmacother. 2007 ;41(4) :568-573.
12. **Fan X, Alekseyenko AV, Wu J, Peters BA, Jacobs EJ, Gapstur SM, Purdue MP, Abnet CC, Stolzenberg-Solomon R, Miller G, et al.(2018).** Human oral microbiome and prospective risk for pancreatic cancer: a population-based nested casecontrol study. Gut.;67(1):120–7
13. **Frederic PAMOUDJIAN, Philippe CAILLET, , Bruno GOGLY, Narges ANFASI EBADI, Anastasia OBRAZTSOVA, Samir MERBAH, Elena PAILLAUD (2016).** Les candidoses buccales et oropharyngées des personnes âgées Oropharyngeal candidiasis in elderly patients. Rev Geriatr; 41 (8) : 453-9.
14. **Gordon L. Love, Julie A. Ribes.(2018).** Dans l'Atlas des couleurs de la mycologie : *Candida famata*.
15. **Gow NAR.Latge J.Munro CA. 2017.** The Fungal Cell Wall : Structure, Biosynthesis, and Function. Microbiol Spectr 5 :10.1128/ microbiolspec. funk-0035-2016
16. **Harding M.W., Marques L.L., Howard R.J., Olson M.E. (2009)** Can filamentous fungi form biofilms? Trends in microbiology, 17(11), 475-480
17. **J.H.Meurman, E.Siikala, M.Richardson et R.Rautemaa.(2007).** Levures *Candida albicans* de la cavité buccale.
18. **Jacques Guillot et Dannaoui Éric.(2015).** La résistance aux antifongiques : importance en médecine humaine et vétérinaire. In: Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France tome 168 n°4, pp. 314-319;
19. **Kang J, He Y, Hetzl D et al.(2016).** Une évaluation franche du lien entre les biofilms contenant du *Candida* oral et le cancer de la bouche.Progrès en microbiologie. 6(02) :115
20. **Kerr AR. .( 2015);** The oral microbiome and cancer. J Dent Hyg ;89(Suppl 1) :203
21. **Kilian, M., Chapple, I., Hannig, M. et al. (2016).**The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals. Br Dent J 221, 657–666.



- 22. Leerahakan, P., Matangkasombut, O., Tarapan, S., & Lam-ubol, A. (2022).** Formation d'isolats de biofilm de *Candida* chez des patients atteints d'un cancer de la tête et du cou post-radiothérapie xérostomique.
- 23. Leite-Jr DP, Vivi-Oliveira VK, Maia MLS, Macioni MB, Oliboni GM, de Oliveira ID, Garcia JA, Araújo MR, Pereira RS, Pal M, Takahashi JPF, Bonfietti LX, Chang MR and Melhem MSC .(2023) .** The *Candida* Genus Complex: Biology, Evolution, Pathogenicity and Virulence, Beyond the *Candida Albicans* Paradigm. A Comprehensive Review. *Virol Immunol J*, 7(2):
- 24. Margaux Dubois, Morgane Ortis, Alain Doglio, Valérie Bougaul.(2024)** Microbiote oral et santé bucco-dentaire des sportifs : revue narrative Oral microbiota and health in athletes: A comprehensive overview. CND-706; No. of Pages 10.
- 25. Marsh PD, Zaura E.(2017).** Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *J Clin Periodontol*; 44 (Suppl. 18): S12–S22
- 26. Marsh, Philip.D.(2006).** Dental plaque as a biofilm and a microbial community-implication for health and disease. *BMC Oral Health*,6(suppl1), S14
- 27. Maryam Erfaninejad, Ali Zarei Mahmoudabadi , Elham Maraghi, Mohammad Hashemzadeh, Mahnaz Fatahinia (2023).** Low level of antifungal resistance in *Candida* species recovered from Iranian HIV-associated oral infection. *Letters in Applied Microbiology*, 76, 1–7
- 28. Maryam Erfaninejad, Ali Zarei Mahmoudabadi, Elham Maraghi, Mohammad Hashemzadeh, Mahnaz Fatahinia, 2023.** Faible niveau de résistance aux antifongiques chez les espèces de *Candida* récupérées d'une infection buccale iranienne associée au VIH, *Letters in Applied Microbiology*, Volume 76, Numéro 3, ovad029,
- 29. Muadcheingka, T., & Tantivitayakul, P. (2015).** Distribution of *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species in oral candidiasis patients: Correlation between cell surface hydrophobicity and biofilm forming activities. *Archives of oral biology*, 60(6), 894-901.
- 30. Pathirana RU, McCall AD, Norris HL and Edgerton M (2019)** Filamentous *Non-albicans Candida* Species Adhere to *Candida albicans* and Benefit From Dual Biofilm Growth. *Front. Microbiol.* 10:1188

- 31. Pathirana, R. U., McCall, A. D., Norris, H. L. et Edgerton, M. (2019).** Les espèces filamenteuses de *Candida* non *albicans* adhèrent à *Candida albicans* et bénéficient d'une croissance de biofilm double. *Frontières en microbiologie*, 10, 1188
- 32. Patil, A. et Majumdar, S. (2017).** Les échinocandines en pharmacothérapie antifongique. *Journal de pharmacie et de pharmacologie*, 69(12), 1635-1660.
- 33. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ 2006.** In Vitro Susceptibilities of *Candida* spp. to Caspofungin: Four Years of Global Surveillance. *J Clin Microbiol* 44:
- 34. Rautemaa R, Ramage G (2011).** Candidose buccale – défis cliniques d'une maladie à biofilm. *Revue critique en microbiologie*; 37(4) :328-336.
- 35. Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, Guida A, Petrucci M, Serpico R (2011)** *Candida*-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 16 (1): e139-43
- 36. Sanguinetti, M., Posteraro, B. and Lass-Flörl, C. (2015),** Antifungal drug resistance among *Candida* species : mechanisms and clinical impact. *Mycoses*, 58 : 2-13.
- 37. Sarah Quadros Santos Kessler, Pauline Mastella Lang, Tatiane Silva Dal-Pizzol et Francisco Montagner (2022),** Resistance profiles to antifungal agents in *Candida albicans* isolated from human oral cavities: systematic review and meta analysis *Clinical Oral Investigations* 26:6479–6489
- 38. Seddiki SM, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K, Kunkel D.(2015).** [Infectiosités fongiques des cathéters implantés dues à la formation et à la résistance de biofilms de *Candida* sp.]. *Journal de Mycologie Médicale*. 25(2):130-13
- 39. Silva, S. ; Negri, M. ; Henriques, M. ; Oliveira, R. ; Williams, D.W. ; Azeredo, J. (2012).** *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis* : biologie, épidémiologie, pathogénicité et résistance aux antifongiques. 36, 288–305
- 40. Silva-Dias, A., Miranda, I. M., Branco, J., Monteiro-Soares, M., Pina-Vaz, C. et Rodrigues, A. G. (2015).** Adhésion, formation de biofilm, hydrophobicité de la surface cellulaire et susceptibilité planctonique antifongique : relation entre *Candida* spp. *Frontiers in microbiology*, 6, 205.

- 41. Sousa L, Santos VL, de Souza Monteiro A et al.(2016)** Isolement et identification des espèces de *Candida* chez les patients atteints d'un cancer orogastrique : sensibilité aux médicaments antifongiques, attributs de virulence in vitro et phénotype de réponse immunitaire. *BMC Infect Dis.*; 16:86. doi:10.1186/s12879-016-1431-4
- 42. Subramani, R., Jayaprakashvel, M. (2019).** Bacterial Quorum Sensing : Biofilm Formation, Survival Behaviour and Antibiotic Resistance. In : Bramhachari, P. (eds) Implication of Quorum Sensing and Biofilm Formation in Medicine, Agriculture and Food Industry . Springer, Singapore
- 43. Taínia Fernandes, Soínia Silva, Mariana Henriques (2016).** Effect of Voriconazole on *Candida tropicalis* Biofilms: Relation with ERG Genes Expression. *Mycopathologia*. 181:643–651
- 44. Tati S, Davidow P, McCall A, Hwang-Wong E, Rojas IG, Cormack B, et al. (2016)** *Candida glabrata* Binding to *Candida albicans* Hyphae Enables Its Development in Oropharyngeal Candidiasis. *PLoS Pathog* 12(3) : e1005522
- 45. Uta Breuer and Hauke Harms, 2006.** *Debaryomyces hansenii* — an extremophilic yeast with biotechnological potential, 23 : 415–437
- 46. W. Mazari , I. A. El Hacı and Z. Boucherit Otmani. 2017.** Control of fungal biofilm formation in dental environment.
- 47. Xin Lyu, Chen Zhao, Zhi-min Yan & Hong Hua (2016).** Efficacy of nystatin for the treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis, *Drug Design, Développement and Thérapie*, , 1161-1171

لهدف من هذا العمل هو أو التحديد مجموعة من سلالات البويضات غير البقريّة التي تنتمي إلى جنس الساب "بضالت البقريات" بضالت البقريات:

الذي هو لتبويضه والتكاثر البيولوجي، وتأثيره دراسة أخرى لتكوين الأغشية الحيوية المكونة من خلاصة بروتين البقريات

البقريات. تم التعرف على ثلاث سلالات من *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, و *Candida famata*. ولشملت دراسة ملابح البقريات عن

أن مجموعة السلالات ثابتة حساسة الأمفوتريسين B والازيترونولجين. أظهر التحليل الجزيئي للحمض النووي للأغشية الحيوية البقريّة في البرجس أن سلالات

*Candida famata* و *Candida tropicalis* كانت لها قدرة عالية على تكوين الأغشية الحيوية ومن ناحية أخرى، صرّحت سلالة *Candida glabrata*

على أنها ضعيفة التكوين للأغشية الحيوية الرقيقة. كان لدى الإحبار التي خضعت للدراسة القدرة على تكوين الأغشية الحيوية الرقيقة ومخاطبة. تبليت كمية الأغشية

الحيوية الرقيقة المتجة وقد أُلحقت بالدراسة ولولدت.

الخلاصة: إننا نعرف هذه البويضات غير البقريّة أنّها حيوية الرقيق

### Résumé

L'objectif de ce travail était d'identifier dans un premier temps une collection de souches de *Candida non-albicans* appartenant au laboratoire « Antifongiques, Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique LapSab » et étudier dans un second temps, leurs capacités à former des biofilms mono-espèce et mixtes ainsi que leurs profils de résistance aux antifongiques. L'identification a permis de mettre en évidence trois souches de levures *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* et *Candida famata*. L'étude des profils de résistance a révélé que toutes les souches étaient sensibles à l'amphotéricine B et à la caspofungine. La quantification des biomasses des biofilms formés *in vitro* a montré que les deux souches *Candida tropicalis* et *Candida famata* avaient une forte capacité à former des biofilms. La souche *Candida glabrata* était à l'inverse catégorisée faiblement formatrice de biofilms. Les levures étudiées avaient le pouvoir de former des biofilms mixtes entre eux. La quantité des biofilms produite variait en fonction des souches et du temps.

**Mots clés :** cavité buccale, *Candida non-albicans*, biofilm

### Summary

The aim of this work was firstly to identify a collection of *Candida non-albicans* strains belonging to the "Antifongiques, Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique LapSab" laboratory, and secondly to study their ability to form mono-species and mixed biofilms, as well as their antifungal resistance profiles. Three yeast strains were identified: *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* and *Candida famata*. Resistance profiles revealed that all strains were sensitive to amphotericin B and caspofungin. Quantification of the biomass of biofilms formed *in vitro* showed that both *Candida tropicalis* and *Candida famata* strains had a strong capacity to form biofilms. *Candida glabrata*, on the other hand, was classified as a weak biofilm-former. The yeasts studied had the ability to form mixed biofilms. The amount of biofilm produced varied according to strain and time.

Keywords: oral cavity, *Candida non-albicans*, biofilm