



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé

Effets des probiotiques sur *Candida albicans*

Présenté par : BOUAISSI soulaimen

HOUFFAF Kaddour

Soutenu le : // 2020

Devant le jury :

Président : Mr MERIBAI Abdelmalek MCB (Université de BBA)

Encadrant : M^{me} BOUGUERRA Asma MAA (Université de BBA)

Examineur : Mme IRATNI Nadjet MAA (Université de BBA)

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donner la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous remercions notre promotrice Mme BOUGUERRA Asma, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience durant la réalisation de ce mémoire

Nos remerciements les plus chaleureux et fraternels aux membres de jury Mr MERIBAI Abdelmalek et Mme IRATNI Nadjat d'avoir acceptés de juger notre travail.

Je ne saurai terminer sans remercier toutes ces personnes qui sont dans l'ombre et dont la contribution à mon travail est non négligeable notamment tout le personnel de laboratoire, de la bibliothèque, de l'administration

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, en premier lieu à mes chers parents pour toutes ces années de sacrifices,

*A mon père, qui m'a toujours fait confiance et ma poussée à donner le meilleur de moi-même,
A ma mère, qui a toujours cru en moi et m'a offert la meilleure des éducations,*

A mon frère et à sa petite famille,

A mes sœurs la source de tendresse et de courage,

A tous mes oncles, cousins, cousines et tous les membres de ma famille

A mes très chères amies

A tous mes professeurs dans tous les cycles de ma scolarité qui m'ont éclairé la voie du savoir.

A toute ma promotion de master –Microbiologie appliquée

Kaddour

Dédicaces

Je dédie ce travail, au premier lieu aux deux bougies qui ont éclairé ma vie.

A mes parents qui m'a toujours encouragé dans toutes les années scolaires

Je dédie ainsi ce travail à :

A tous mes chères sœurs

A toute ma famille

A tous mes amies

A tous mes professeurs dans tous les cycles de ma scolarité

A tous mes collègues qui j'ai passé le meilleur moment avec eux.

Résumé

Candida albicans est une levure opportuniste pathogène pour l'homme, ces microorganismes peuvent s'organiser en biofilms, échapper à la défense immunitaire et provoquer des inflammations. *Candida albicans* est responsable de plus de 75/100 mycoses invasives ou systémiques. Notre étude consiste à tester l'antagonisme pour certaines souches probiotiques, (*Leuconostoc*, *Saccharomyces boulardii*, cultures mixtes) vis-à-vis la levure de *Candida albicans* et évaluer l'activité antifongique, et déterminer la souche la plus efficace pour l'inhibition du microorganisme pathogène, aussi on a testé la capacité de ces souches pour détruire et la dégradation de biofilm de *Candida albicans*.

Dans ce contexte plusieurs recherches ont été réalisées pour le but de tester l'activité antifongique de plusieurs souches des probiotiques, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Saccharomyces boulardii*, *Bifidobacterium*, et, et les résultats de ces études ont démontré qu'ils sont très actifs contre *Candida albicans*.

Les mots clés:

Candida albicans, probiotique, biofilm, l'activité antifongique, l'antagonisme.

Abstract

Candida albicans is opportunistic yeast pathogenic for humans, these microorganisms can organize themselves in biofilms, escape the immune defense and cause inflammation. *C.albicans* is responsible for more than 75/100 invasive or systemic mycoses.

Note study consists of testing the antagonism for certain probiotics strain, (*leuconostoc*, *saccharomyces boulardii*, mixed culture) against *Candida albicans* yeast and evaluated the antifungal activity, and determine the most effective strain for the inhibition of pathogenic microorganism,also the capacity of these strains to destroy and degrade *Candida albicans* biofilms is being tested.

In this context, several researches have been carried out in order to test the antifungal activity of several probiotic strains, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Saccharomyces boulardii*, *Bifidobacterium*, and the results of its studies show that are very active against *Candida albicans*.

Keywords:

Candida albicans, probiotics, antifungal activity, biofilms, antagonism.

الملخص

C.albicans هي خميرة انتهازية ممرضة للإنسان, يمكن لهذه الكائنات الحية الدقيقة أن تنظم خلاياها في شكل أغشية حيوية و تتهرب من الجهاز المناعي و تقاومه و تسبب التهابات مختلفة. تعتبر *C.albicans* المسؤولة عن أكثر من 100/75 من الالتهابات الفطرية.

دراستنا تتمحور حول اختبار تضاد عدة سلالات من البكتيريا النفعية (البروبيوتيك) *leuconostoc, S.boulardii* و أيضا مزيج مختلط من هذه البكتيريا في مقابل السلالة الفطرية الممرضة *C.albicans* وتقييم النشاط المضاد للفطريات ، وتحديد السلالة الأكثر فعالية لتنشيط الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض ، وكذلك اختبار قدرة سلالاتها على تدميرها وتحليل الغشاء الحيوي الخاص بها.

في هذا السياق ، أجريت العديد من الدراسات بهدف اختبار النشاط المضاد للفطريات للعديد من سلالات البروبيوتيك

Lactobacillus, streptococcus, Saccharomyces boulardii, Bifidobacterium

بينت النتائج المتحصل عليها قدرة هذه السلالات على تثبيط نمو و تكوين الأغشية الحيوية الخاصة ب *C.albicans*

الكلمات المفتاح:

Calbicans ، البروبيوتيك ، النشاط المضاد للفطريات ، الأغشية الحيوية ، اختبار التضاد

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
I. PROBIOTIQUES	2
I.1. HISTORIQUE ET DEFINITION.....	2
I.2. PRINCIPALES ESPECES MICROBIENNES A POTENTIEL PROBIOTIQUE.....	2
I.3. CRITERES DE SELECTION DES SOUCHES PROBIOTIQUE.....	3
I.3.1. Critères de sécurités	3
I.3.2. Critères fonctionnelles	4
I.3.3. Critères technologiques	4
I.4. MECANISMES D’ACTION DES PROBIOTIQUES	5
I.4.1.Effets antimicrobiens	5
I.4.2.Amélioration de l’intégrité de la barrière épithéliale.....	5
I.4.3.Renforcement du statut immunitaire au niveau des intestins	5
I.4.4.Compétition spécifique et non-spécifique pour l’adhésion.....	6
I.5. EFFETS BENEFIQUES DES PROBIOTIQUES	7
I.5.1. Effets intestinaux	7
I.5.2. Effets sur le système immunitaire.....	7
I.6. EFFETS DES PROBIOTIQUES CONTRE CANDIDA ALBICANS	8
I.6.1.Inhibition de germination	9
I.6.2. réduction de l'expression des gènes	9
I.6.3. La réduction de la masse cellulaire	10
I.6.4.Inhibition de l'adhérence	10
II.CANDIDA ALBICANS	11
II.1.GENERALITES	11
II.2. HABITAT.....	11
II.3. CLASSIFICATION	11
II.4.MORPHOLOGIE.....	12
II.5. CARACTERES BIOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES DE CANDIDA ALBICANS	12
II.6. PATHOGENICITE ET FACTEURS DE VIRULENCE	13
II.6.1. Facteurs de virulence	13
II.1. BIOFILMS DE CANDIDA ALBICANS.....	14
II.1.1. Définition	14
II.2. Etapes de formation des biofilms	14
II.2.1. Adhérence	14
II.2.2. Initiation	14
II.2.3. Maturation	14
II.2.4. Dispersion	14
II.4. MECANISMES DE RESISTANCE DES BIOFILMS.....	15
II.4.1. Matrice extracellulaire	15
II.4.2. Résistance à la pompe.....	15
II.4.3. Densité cellulaire	15
II.4.4. Persistance.....	16
III. L’ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES PROBIOTIQUES.....	17

III.1.LES METHODES UTILISES POUR LES TESTES ANTIFONGIQUES.....	17
III.1.1.Méthode des stries	17
III.1.2.METHODE DES SPOTS.....	17
III.2.TEST DE CO-AGREGATION	17
III.3.ANALYSE DE BIOMASSE DE BIOFILM PAR QUANTIFICATION	18
III.4.LES RESULTATS OBTENUS PAR LES CHERCHEURS.....	19
CONCLUSION	26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	27

Liste des tableaux

Tableau N°1 : des microorganismes probiotiques (Barrau. 2016).....3

Tableau N°2 : Principaux effets cellulaires des probiotiques (Barraud et *al.* 2016).....6

Liste des figures et des photos

Figure N°1 : Caractéristiques des souches probiotiques (Butel, 2014).....	5
Figure N°2 : Principaux effets bénéfiques des probiotiques (Alyssa, 2018).....	8
Figure N°3 : Différentes morphologies de <i>C. albicans</i> (Odds, 1979).....	12
Figure N°3 : Etapes du développement du biofilm de <i>C. albicans</i> (Christina et al. 2016).....	15

Abréviations

OMS	Organisation mondiale de la sante
FAO	Food and agriculture organisation
WHO	Organisation mondiale de la santé
AFSSA	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
ONU	Organisation des Nations Unies
Ras1-Camp	Voie de signalisation intracellulaire
MAPk	Protéine kinase activée par le mitogène
MEC	Matrice extracellulaire
QS	Quorum sensing
µm	Micromètre
ph	Potentiel hydrogène
CV	Cristal de violet
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
CVV	Candidose vulvo-vaginale

Introduction

Les probiotiques sont définis comme des microorganismes vivants qui lorsque administrés ou consommés en quantités suffisantes favorisent des avantages pour la santé de l'hôte, particulièrement sont des utiles pour combattre les pathologies du tractus gastro-intestinal, comme le soulagement de la diarrhée, l'intolérance au lactose, les maladies inflammatoires de l'intestin et les infections fongiques, principalement par la réglementation des microbiotes résidents (AFSSA, 2005).

La présence des microorganismes probiotiques dans la muqueuse humaine ou bien dans le tractus-intestinale peuvent empêcher la colonisation des agents pathogènes par plusieurs méthodes direct au indirect (Ezzariga, 2015).

L'utilisation de bactéries probiotiques contre les infections microbiennes est apparue comme une technique thérapeutique alternative pour les infections à *Candida albicans*, compte tenu les limites de l'antimicrobiens (Chang-Ho, 2018).

C. albicans est le champignon pathogène opportuniste le plus courant isolée du corps humain, provoquant des maladies et des inflammations superficielles et systémiques (Branett et al. 2000).

Les infections se développent souvent après un traitement antibiotique, les plus graves étant celles qui concernent les patients immunodéprimés (Schaller et al. 2005).

Le principal facteur de virulence de *C. albicans* est la capacité de passer entre l'étape d'une levure vers l'étape pseudohyphes et les hyphes, importantes à la fois pour l'adhésion et l'invasion des tissus et la formation des biofilms sur de nombreuses surfaces, comme les implants médicaux, les implants intravasculaires, les cathéters, ou les tissus de l'hôte (Cambi et al. 2003).

Dans ce contexte, ce travail a été fait dont le but :

D'étudier l'activité antifongique de divers probiotiques contre *C. albicans* et les effets inhibiteurs des probiotiques sur le biofilms de *C.albicans*.

L'exhibition de la souche probiotique le plus efficace pour l'inhibition de et la diminution de *C.albicans*.

I. Probiotiques

I.1. Historique et définition

Le terme probiotique est composé des deux mots grecs « *pro* » et « *bios* » signifiant littéralement « pour la vie » (Paulina et *al.* 2017).

La notion de probiotiques a été développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff en 1893 qui a suggéré que l'ingestion des bactéries lactiques vivantes accroît la longévité des paysans bulgares en réduisant dans le tube digestif la population des bactéries putréfiantes ou produisant des toxines. Une des premières définitions des probiotiques comme « facteurs promoteurs de croissance produits par des microorganismes » a été proposée par Lilly et Stillwell en 1965. Depuis ce temps, la définition du terme probiotique a été modifiée à plusieurs reprises (Saulnier et *al.* 2013). Fuller (1989) redéfinit les probiotiques comme étant : des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additif alimentaire et qui ont une action bénéfique sur l'animal hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale (Gournier et *al.* 1994).

Enfin, selon la définition adoptée par le groupe de travail mixte formé par l'Organisation des Nations Unies (ONU) pour l'agriculture et l'alimentation et l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS) (Report of FAO/WHO, 2002), les probiotiques sont « des microorganismes vivants (bactéries et levures) administrés en quantités adéquates et procure des effets bénéfiques pour la santé de l'hôte » (AFSSA, 2005).

I.2. Principales espèces microbiennes à potentiel probiotique

Les principaux microorganismes probiotiques appartiennent principalement aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. D'autres espèces des genres *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus* et *Saccharomyces* sont aussi employés comme probiotiques (Tab.1) (Senok et *al.* 2005).

Tableau N°1. Des microorganismes probiotiques (Barrau. 2016)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Autres Lactobacilles</i>	<i>Non LAB</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. Adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. Animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	
<i>L. crispatus</i>	<i>B. Bifidum</i>		<i>E. coli (Nissle)</i>
<i>L. delbruecki</i>	<i>B. Breve</i>		
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. Infantis</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Propioni freudenreichi</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. Lactis</i>	<i>Leuconostoc</i>	
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. Longum</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>B. Thermophilus</i>		<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. plantarum</i>		<i>Strepto thermophilus</i>	
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			
<i>L. salivarius</i>			
<i>L. fermentarium</i>			
<i>L. curvatus</i>			
<i>L. brevis</i>			

I.3. Critères de sélection des souches probiotique

Selon les suggestions de l'OMS, de la FAO et de l'AFSA (l'Autorité européenne de sécurité des aliments), dans leur processus de sélection, les souches probiotiques doivent répondre à des critères de sécurité et de fonctionnalité, ainsi qu'à des critères liés à leur utilité technologique (Paulina et *al.* 2017).

I.3.1. Critères de sécurités

- Origine humaine ou animale.
- Isolé du tractus gastro-intestinal des personnes en bonne santé.
- Antécédents d'utilisation sûre.
- Identification précise (traits phénotypiques et génotypiques).
- Absence de données concernant une association avec une maladie infectieuse.

- Absence d'effets indésirables.
- Absence de gènes responsables de la résistance aux antibiotiques localisés dans des éléments non stables.

I.3.2. Critères fonctionnelles

- Capacité à survivre, à maintenir l'activité métabolique et développer dans le site cible.
- Résistance aux sels biliaires et aux enzymes.
- Résistance à un pH faible dans l'estomac.
- Compétitivité par rapport aux espèces microbiennes qui abritent l'écosystème intestinal (y compris les espèces étroitement apparentées).
- Activité antagoniste à l'égard des agents pathogènes (par exemple, *H. pylori*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium difficile*, *Candida albicans*).
- Résistance aux bactériocines et aux acides produits par le microbiote intestinal endogène.
- Adhérence et capacité à coloniser certains sites particuliers au sein de l'organisme hôte, et taux de survie approprié dans le système gastro-intestinal.

I.3.3. Critères technologiques

- Production de grandes quantités de biomasse.
- Viabilité et stabilité des propriétés souhaitées des bactéries probiotiques pendant le processus de fixation (congélation, lyophilisation), la préparation et la distribution des produits probiotiques.
- Taux élevé de survie au stockage des produits finis (dans des conditions aérobies et micro-aérophiles).
- Garantie des propriétés sensorielles souhaitées des produits finis (dans le cas de l'industrie alimentaire).
- Stabilité génétique.
- Résistance aux bactériophages.

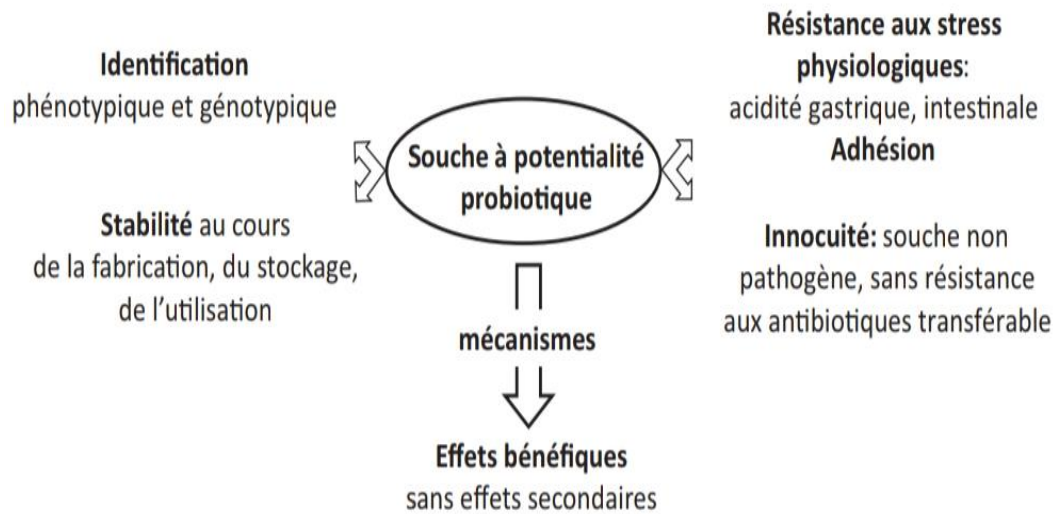


Figure N° 1 : Caractéristiques des souches probiotiques (Butel, 2014).

I.4. Mécanismes d'action des probiotiques

Les probiotiques présentent des effets protecteurs digestifs mais également extradiigestifs, immunologiques et non immunologiques. Les principaux effets expérimentaux des probiotiques sont démontrés dans le Tableau II.

Les probiotiques peuvent exercer leurs effets bénéfiques généralement selon quatre mécanismes principaux (Barraud et *al.* 2016) :

I.4.1.Effets antimicrobiens : par synthèse de molécules antimicrobiennes (bactériocines), compétition et inhibition de l'adhésion des bactéries pathogènes ainsi que leur invasion de l'épithélium, compétition pour les substances nutritives et inhibition des facteurs de virulence (Barraud et *al.* 2016).

I.4.2.Amélioration de l'intégrité de la barrière épithéliale : par renforcement des jonctions serrées, augmentation du renouvellement entérocytaire, stimulation de la synthèse de mucus, sécrétion des peptides antimicrobiens comme les β -défensines et synthèse des vitamines (Barraud et *al.* 2016).

I.4.3.Renforcement du statut immunitaire au niveau des intestins : par le contrôle de l'équilibre des cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Il est démontré que les probiotiques favorisent les mécanismes de défense de l'hôte endogène. En plus de leurs effets

sur la défense intestinale non immunologique, des études ont démontré l'impact bénéfique des bactéries probiotiques sur les réponses immunitaires humorales, sur la résistance aux agents pathogènes microbiens et finalement, leur contribution à l'immunisation et aux réponses immunitaires de l'hôte aux antigènes dangereux (Barraud et al. 2016).

I.4.4. Compétition spécifique et non-spécifique pour l'adhésion : Elle est assurée par des bactéries dotées de la capacité de formation de biofilms positifs comme les espèces des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* et certaines espèces d'*Enterococcus*. Ces espèces contribuent au blocage de l'accès des pathogènes aux sites d'adhésion et exercent un effet barrière (Rastall et al. 2005).

Tableau N°2. Principaux effets cellulaires des probiotiques (Barraud et al. 2016).

Effets non immunologiques	Effets immunologiques
Stimulation de la production de NO.	Stimulation de la production d'IgA.
Stimulation de la production d'antioxydants	Inhibition de la production d'IgE.
Stimulation de la production acide (AGCC).	Modulation de la réponse cytokinique (Th1/Th2). Stimulation de la production de peptides antimicrobiens et de défensines
Exclusion compétitive des pathogènes	Stimulation de l'activité des macrophages.
Réduction de l'adhésion épithéliale des pathogènes.	Stimulation de l'activité des cellules NK.
Renforcement des jonctions serrées et de l'intégrité de la barrière épithéliale.	Modulation de l'activité des cellules dendritiques.
Réduction de la production d'endotoxines.	Modulation de la différenciation des lymphocytes T.
Stimulation de la sécrétion de mucus et de la production de nutriments.	

I.5. Effets bénéfiques des probiotiques

Les probiotiques possèdent des attributs fonctionnels importants qui pourraient répondre à la plupart de nos besoins nutritionnels et cliniques de base en matière de suppléments. Ces microorganismes ont montré des réponses aux traitements cliniques contre plusieurs maladies et infections (Rout et *al.* 2017).

I.5.1. Effets intestinaux

Les probiotiques permettent le contrôle des troubles suivants (Butel, 2014) :

- Mauvaise digestion du lactose,
- diarrhée due aux rotavirus et les diarrhées associées aux antibiotiques,
- syndrome du côlon irritable –constipation,
- infection par *Helicobacter pylori*,
- prolifération bactérienne dans l'intestin grêle et
- maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et prévention de l'entérocolite nécrosante du nouveau-né.

I.5.2. Effets sur le système immunitaire

- Modulation immunitaire,
- répression des réactions allergiques par réduction de l'inflammation et
- réduction des risques d'infection par des agents pathogènes courants (*Salmonella*, *Shigella*)

I.5.3. Autres effets

- Efficacité contre certains cancers (colorectal, vessie, col utérin, sein).
- infections des voies urinaires.
- infection des voies respiratoires et infections connexes.
- réduction du taux de cholestérol sérique et de la pression artérielle.

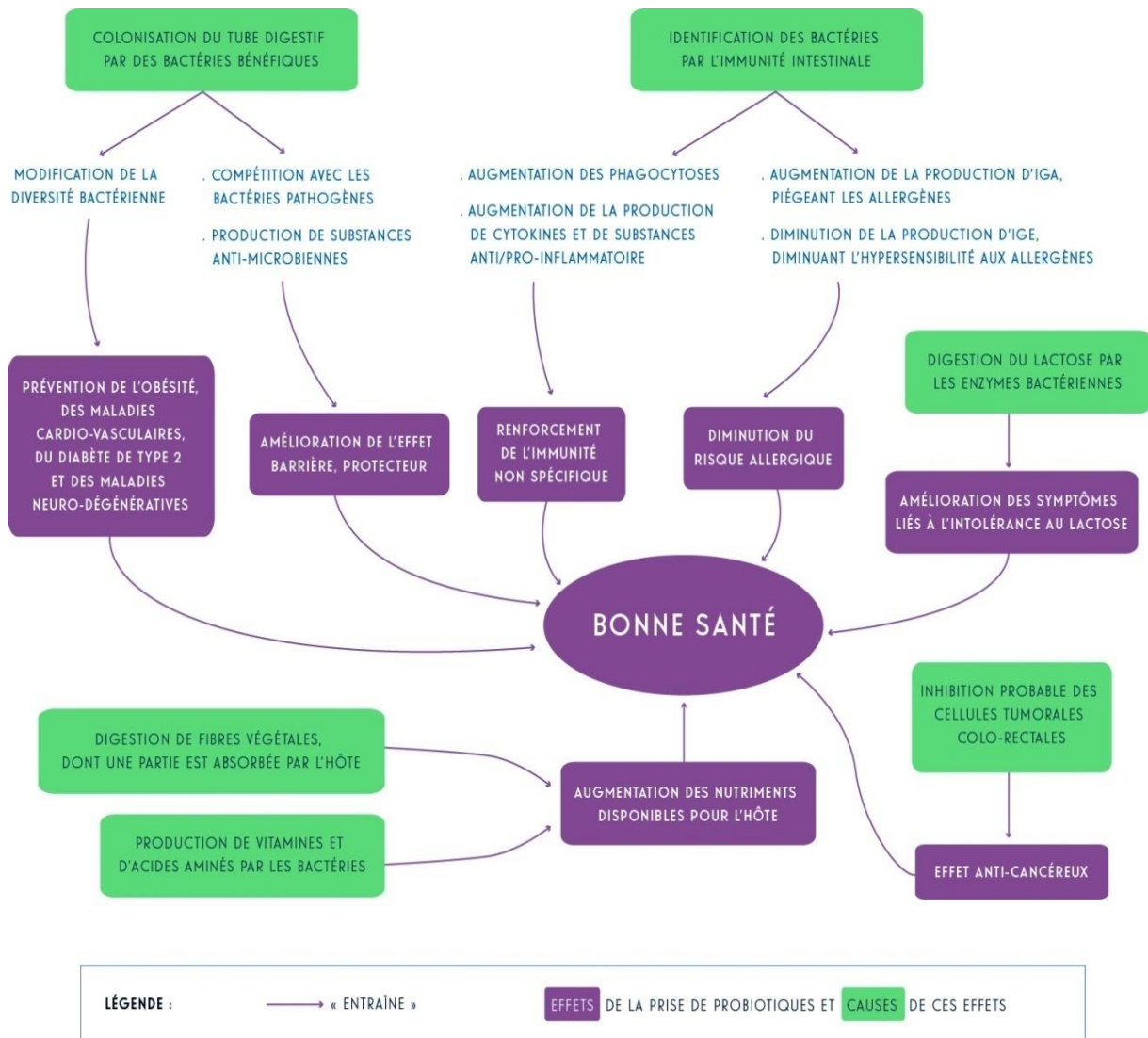


Figure N° 2. Principaux effets bénéfiques des probiotiques (Alyssa, 2018).

I.6. Effets des probiotiques contre *Candida albicans*

Il n'existe pas beaucoup d'antibiotiques et antifongiques efficaces en raison de la rareté des médicaments développés contre les champignons et les levures pathogènes ainsi le développement rapide de la résistance aux médicaments chez ces derniers. De plus, les microorganismes capables de se développer sous forme de biofilms sont très souvent résistants à des antibiotiques actifs contre les cellules planctoniques. A cet effet, l'utilisation des microorganismes à potentiel probiotique est d'intérêt pour traiter des maladies à source fongique (Christopher, 2019).

I.6.1. Inhibition de germination :

La germination est également un processus important dans la formation de biofilm de *C. albicans*, fournissant des éléments hyphaliques denses présents dans les biofilms matures, l'exposition des souches probiotiques ou bien le filtrat (*S. boulardii*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, et *B. breve*) a inhibé la capacité de germination par un ou plusieurs produits de sécrétion (par exemple, un métabolite et/ou une enzyme) Christopher a montré que l'exposition probiotique a inhibé la capacité de germination de *C. albicans*, l'analyse quantitative a montré qu'il y a une réduction significative du pourcentage de formation de tubes germinatifs après exposition au filtrat probiotique par rapport au témoin non traité (Christopher et al. 2019).

L'inhibition pourrait être principalement due par l'acide sec au lieu du pH. Le mécanisme d'inhibition par l'acide butyrique est resté flou et les recherches supposent que l'acide butyrique pourraient interférer avec le cytosquelette et la morphogénèse pourrait alors être bloquée. Des recherches connexes ont considéré que dans le processus de changement morphologique de *C. albicans*, l'acétylation des histones a joué un rôle important, tandis que butyrate un seul des inhibiteurs de l'histone désacétylase la chose qui permette l'inhibition de passage de *C. albicans* du bourgeon au filament (Huan et al. 2010).

I.6.2. réduction de l'expression des gènes :

S. boulardii, *L. rhamnosus*, *L. casei* et *L. acidophilus* sécrète des acides gras et du 2-phényléthanol, y compris de l'acide caprique Ce composé s'est avéré le plus efficace pour inhiber *C. albicans*, et réduit l'expression des gènes de *C. albicans* impliqués dans sa virulence, tels que HWP1 (formation d'hyphes), CSH1 (propriétés d'adhésion), la chose qui permette l'inhibition de la formation des biofilms (Christopher et al. 2019).

L'exposition des probiotiques, soit par contact direct entre cellules, soit par l'intermédiaire de surnageants permet l'inhibition de la transcription des gènes nécessaire pour le développement des biofilms de *C. albicans* par la régulation de la

Voies Ras1-cAMP-Efg1 et MAPK en amont. Les biofilms dépourvus de ce gène sont susceptibles de se détacher du substrat abiotique (Ribeiro et al. 2019).

I.6.3. La réduction de la masse cellulaire

pH sert de signal fort pour la différenciation morphologique de *C. albicans*. pH Alcaline c'est un conditions favorisent la croissance des espèces fongique. La réduction de la viabilité cellulaire était plus importante lorsque *C. albicans* était incubé avec le filtrat de culture de *Lactobacillus*, la production d'acide lactique et d'autres par *Lactobacillus spp* Qui peuvent réduire considérablement le pH, qui jouer un rôle rôle important dans la croissance fongique (Christopher et al. 2019).

les probiotiques génèrent des conditions environnementales défavorables aux agents pathogènes permette a les probiotiques de secrété des agents biosurfactants qui perturbent la structure de la membrane physique ou la conformation des protéines ; entraîne une lyse cellulaire, détruit la formation d'hyphes et interfère avec la l'interaction entre les cellules aussi ses biosurfactants bloqué le système QS les chose qui permette le rupture de communication entre les cellule de *C.albicans* (Barzegari et al. 2020).

I.6.4. Inhibition de l'adhérence

L'adhérence étape nécessaire à la formation d'un biofilm, *C. albicans* traité avec Les cellules de *S. boulardii* et des bactéries probiotiques (*lactobacillus*) dans des conditions aérobies et microaérophiles sont pratiquement incapables de se développer sous forme de Biofilm, Car les souches probiotiques empêchée l'adhérence de *C.albicans* sur la surface biotique et abiotique (Anna et al. 2009).

La co-culture des souches probiotiques avec *C.albicans* dans le même milieu démontré que les effets des probiotique sur les biofilms peut être physicochimique, les exométabolites des probiotiques telle que les l'hydrogène peroxyde, éléments protéiques, reutérine, les acides carboxyliques, les acides gras, les dipeptides cycliques, et nucléosides, ont puet modifier les énergies de surface des blastospores de *C.albicans* et les empêche de s'agglutiner et la formation d'un réseau organisé (Ribeiro et al. 2019).

Les souches probiotiques réduites l'adhérence des cellules de *C. albicans* à la surface biotique et abiotique plastique. Les biosurfactants, réduisent l'hydrophobicité du substrat de surface et interfèrent avec les processus liées à l'adhésion et à la désorption microbienne, ainsi qu'à induisent le détachement des organismes déjà adhérents (Victor et al. 2016).

II.Candida albicans

II.1.Généralités

Candida albicans, est une levure microscopique unicellulaire, capable de former des filaments. Leurs cellules sont ovoïdes à bourgeon unique généralement de plusieurs microns de diamètre. En revanche, les filaments sont des cellules allongées attachées de bout en bout. Elle se trouve normalement dans l'organisme humain en quantité relativement limitée mais peut causer des pathologies graves dont la fréquence reste constante (Pfaller et al. 2007).

II.2. Habitat

C. albicans est commensale dans le tube digestif de l'homme, des mammifères et des oiseaux. Elle n'est normalement jamais retrouvée dans l'environnement à moins d'une contamination par l'homme ou l'animal. Cette levure est opportuniste qui devient pathogène sous l'effet de facteurs favorisants généraux ou locaux (Segal, 2005).

II.3. Classification

Le genre *Candida* comprend environ 200 espèces dont les plus rencontrées en pathologie humaine sont: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* et *C. dubliniensis* (Fitzpatrick et al. 2006). Sur le plan taxonomique, *Candida* spp. Sont classés parmi les Ascomycètes (Krick et al. 2008).

Candida albicans suit l'organisation suivante :

Règne : *Fungi*

Division : *Ascomycota*

Classe : *Saccharomycetes*

Ordre : *Saccharomycetales*

Famille : *Saccharomycetaceae*

Genre : *Candida*

Espèce : *Candida albicans*

II.4. Morphologie

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore), formant ainsi des colonies blanches crémeuses (Chu et *al.* 1993 ; Graser et *al.* 1996).

Ainsi, trois aspects morphologiques peuvent être rencontrés :

- La forme blastospore, ronde ou ovale, mesurant de 2 à 4 μm avec parfois un bourgeon.
- La forme pseudomycélium, mesurant de 500 à 600 μm de longueur et de 3 à 5 μm de largeur, composée d'un assemblage de cellules (Sudbery, 2004).
- La forme mycélium vrai, champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *Candida albicans* (Gow, 2002).

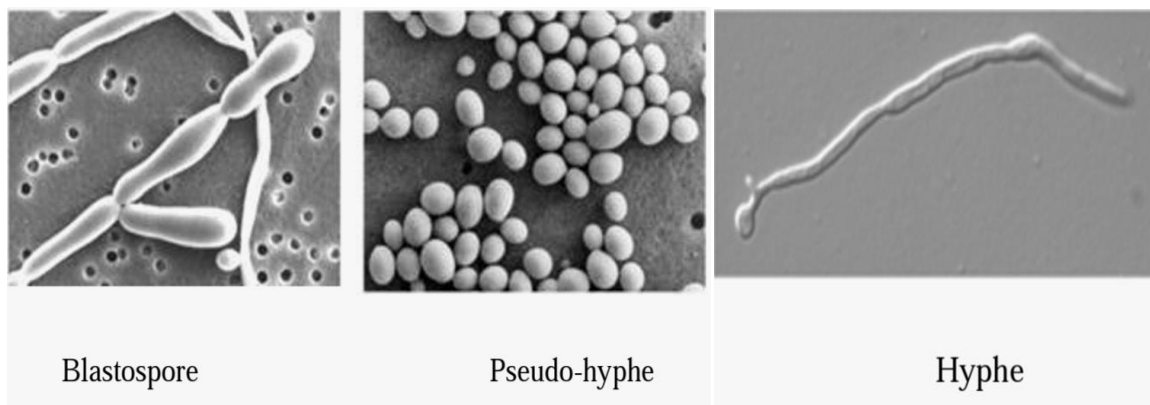


Figure N°3. Différentes morphologies de *C. albicans* (Odds, 1979).

II.5. Caractères biologiques et physiologiques de *Candida albicans*

Toutes les espèces du genre *Candida* sont aérobies. Leur croissance est possible à des pH allant de 3 à 7. La température optimale varie de 20°C et 30° C pour la majorité des levures.

Les différentes espèces de *Candida* se distinguent par leurs caractères nutritionnels et biochimiques. Nous nous intéresserons plus particulièrement à *C. albicans* ; qui est la levure pathogène la plus fréquemment rencontrée (Benmansour, 2012) :

- Cette espèce possède la propriété de fermenter le glucose et le maltose mais pas le lactose, ni le raffinose, ni le saccharose.

- Elle est incapable de réduire les sels de tétrazolium et de le transformer en un composé coloré (la colonie restera blanche).
- *C. albicans* n'est pas inhibé par l'actidione.
- *C. albicans* n'élabore pas l'uréase.

II.6. Pathogénicité et facteurs de virulence

Les infections causées par les espèces *Candida albicans* sont connues sous le nom de candidoses. Mais il existe des noms communs décrivant des pathologies spécifiques telles que le muguet (candidose buccale), par exemple (Branett et *al.* 2000).

L'infection existe sous deux formes :

- Superficielle (cutanée et unguéale, digestive, génito-urinaire).
- Disséminée ou septicémique (candidose profonde ou candidémie).

II.6.1. Facteurs de virulence

De nombreux facteurs sont responsables de la virulence de *C. albicans* :

- **Le dimorphisme** : elle est capable de changer son aspect des blastopores de levure aux hyphes.
- **L'adhérence à l'hôte et formation des biofilms** : elle peut se faire au niveau des muqueuses (adhésines). L'adhérence peut se faire aussi après la formation des biofilms (Cambi et *al.* 2003).
- **Sécrétion d'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 (Schaller et *al.* 2005).

II.1. Biofilms de *Candida albicans*

II.1.1. Définition

Le biofilm, dans sa définition la plus simple, est une communauté microbienne qui vit attachée à une surface biotique ou abiotique (O'Toole et *al.* 2000).

Un biofilm mature est une communauté de micro-organismes irréversiblement fixée à une surface, contenant une matrice exopolymère et présentant des propriétés phénotypiques distinctives (Carol 2002).

II.2. Etapes de formation des biofilms

La formation des biofilms fongiques se déroule en quatre étapes (Christina et *al.* 2016).

II.2.1. Adhérence

Cette étape consiste en une adhésion de la tête d'une seule cellule de levure fongique au substrat pour former une couche basale de cellules de levure (Christina et *al.* 2016).

II.2.2. Initiation

Dans cette étapes une prolifération cellulaire à la surface avec formation des filaments où les cellules forment des saillies allongées qui continuent à croître dans les phalanges filamenteuses (Christina et *al.* 2016).

II.2.3. Maturation

La production des hyphes est le signe d'initiation de la formation du biofilm, suivie d'une accumulation de la matrice polysaccharidique extracellulaire au fur et à mesure de la maturation du biofilm (Christina et *al.* 2016).

II.2.4. Dispersion

Enfin, dans cette étape, les cellules des levures non adhérentes sont libérées du biofilm dans le milieu où elles peuvent coloniser d'autres surfaces (Christina et *al.* 2016).

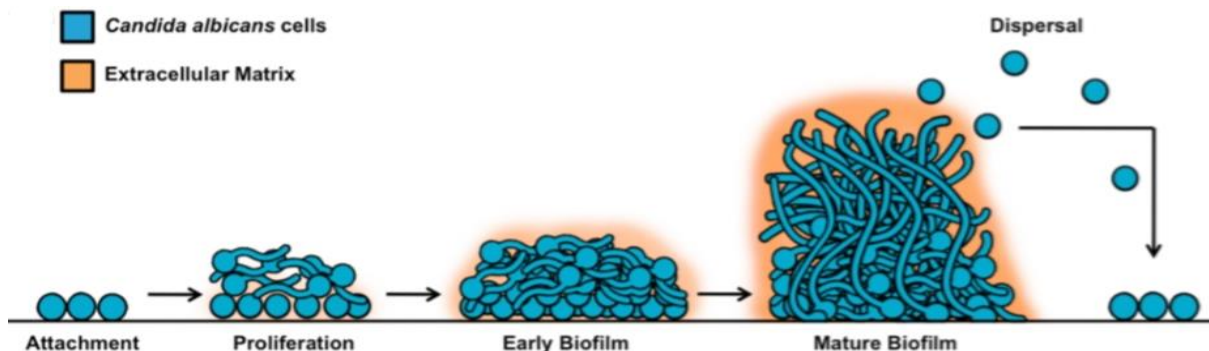


Figure N° 4 : Etapes du développement du biofilm de *C. albicans* (Christina et al. 2016).

II.4. Mécanismes de résistance des biofilms

La résistance du biofilm fongique présente de multiples facettes, impliquant certaines barrières physiques de base et certains processus réglementaires complexes (Ramage et al. 2012).

II.4.1. Matrice extracellulaire

La MEC est une caractéristique du biofilm d'une mycose qui protège les cellules contre les facteurs hostiles tels que l'immunité de l'hôte et les agents antifongiques. La composition des MEC de ces biofilms chez *C. albicans* est complexe. Elles comprennent des protéines, de l'hexosamine, du phosphore, de l'acide uronique et des glucides qui diminuent la pénétration des agents antifongiques (Ramage et al. 2012).

II.4.2. Résistance à la pompe

Durant les phases précoces à intermédiaires de développement du biofilm, les gènes codant pour la pompe à efflux, localisée au niveau des membranes des cellules, sont exprimés. Ce qui permet l'expulsion des agents antifongiques (Ramage et al. 2012).

II.4.3. Densité cellulaire

La densité cellulaire du biofilm mature peut agir comme une barrière physique qui protège la masse cellulaire de biofilms des agressions environnementales (Ramage et al. 2012).

II.4.4. Persistance

Ce sont des cellules qui peuvent varier leurs types phénotypiques plutôt que des cellules mutantes. La présence des cellules persistances également favorise les processus de résistance et la survie des biofilms par leur résistance aux agents antifongiques (Ramage et *al.* 2012).

III. L'activité antifongique des probiotiques :

III.1.les méthodes utilisées pour les tests antifongiques :

Pour tester l'activité antifongique des probiotiques vis-à-vis le microorganisme pathogène *C.albicans*, différentes méthodes soit de manière directe (cellule-cellule) ou indirecte (suragent-cellules) doivent être utilisées, parmi eux :

III.1.1.Méthode des stries :

Les souches testées ont été ensemencées sur des boîtes de pétri gélosées contenant 10 ml MRS /SDA, sous la forme d'une bande de 2 cm de large sur la boîte. Les boîtes ont été incubées en anaérobiose à température 37°C pendant 24 h. Les colonies observées seront ensuite recouvertes par un 10 ml de milieu de SDA agar fondu contenant 0.1ml de suspension de *C. albicans* préincubé à 37°C pendant 24 h dans des conditions aérobies.

Après une croissance adéquate, les zones d'inhibition de *Candida* ont été mesurées à l'aide d'une méthode semi-quantitative échelle sur laquelle : (-) = absence de l'inhibition de croissance, (+ /-) = inhibition minimale de croissance, (+) =inhibition partielle de croissance, (+ +) = totale l'inhibition de croissance (Magdalena et al. 2005).

III.1.2.Méthode des spots :

La souche de *Candida albicans* est propagée sur Sabouraud Dextrose Agar (SDA) à 37°C. Les souches des *Leuconostoc* sont propagées sur le milieu MRS à 37°C pendant 48h et pour la levure *saccharomyces boulardii* est propagée sur le milieu Sabouraud Dextrose Agar (SDA).

Plus précisément, on utilise le milieu gélosé de Mueller-Hinton. La surface de l'agar a été étalée par 1ml de suspension d'espèces de *Candida albicans* ajustée à la turbidité d'un étalon McFarland 0.5. Les boîtes ont été séchées à température ambiante pendant 15 minutes. Après en pose 0.1ml de suspension de chaque souche probiotique sur la surface de gélose au forme des spots. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 48 heures. Les diamètres d'inhibition autour des spots ont été mesurés à l'aide d'une règle numérotée (Sanae et al. 2012).

III.2.Test de co-agrégation :

Les pourcentages de co-agrégation entre les souches probiotiques de *Leuconostoc*, *saccharomyces boulardii* la souche pathogène *candida albicans* ont été déterminés selon la

méthode décrite par Rose Jørgensena et al. (2017) basée sur l'évaluation des densités optiques des souches lactiques seules et en présence du pathogène.

Une culture de *leuconostoc* ou *saccharomyces boulardii* cultivées pendant la nuit a été transféré dans 5 ml de bouillon MRS/SDA respectivement et incubé à 37°C pendant 24 h dans des conditions anaérobies.

- Les souches de *Candida albicans* ont été récoltées de la même manière et incubé en aérobiose dans un bouillon SDA à 37°C pour 24 h.
- Après incubation, les souches probiotiques et les *C.albicans* ont été récoltés par centrifugation à 855 g pendant 10 min à température ambiante
- lavé trois fois dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS)
- La densité optique (A_0) a été ajustée à $\approx 10^8$ UFC/ml ($DO_{600nm} \approx 0.5$).
- On remet les suspensions dans une solution PBS 10 mmol/L (pH 7,0).
- L'absorbance était ajustée à une densité optique (DO) de 0,5 à 600 nm (environ 10^8 UFC/ml de probiotique) en utilisant le spectrophotomètre pour garantir des densités identiques au départ.
- Des volumes égaux (1,0 ml) des souches probiotiques et de *Candida* ont été mélangés et incubés en aérobiose à 37°C pendant 1, 2 et 4 heures mais ils été agités par des tourbillons avant chaque mesure de DO.

La coagrégation a été calculée en utilisant l'équation suivant :

$$[(ACA + APRO)/2 - (ACM) / (ACA + APRO)/2] \times 100$$

ACA: l'absorbance spécifique de *C.albicans*.

APRO: l'absorbance spécifique de souche probiotique.

ACM: l'absorbance spécifique de culture mélangé *C.albicans*-souche probiotique.

III.3.Analyse de biomasse de biofilm par quantification :

Après la formation du biofilm, la biomasse du biofilm a été quantifiée à l'aide d'un test de coloration par cristal de violet décrite par Rodnei et al (2018).

- Pour la fixation des biofilms, 100 μ l de méthanol à 99 % ont été ajoutés aux puits de la microplaquette.
- Après 15 minutes, Les surnageants ont été retirés et les plaques ont été séchées à l'air.

- Ensuite, 100 µl d'une solution de cristal violet (CV) à 1 % ont été ajoutés à tous les puits.
- Après 20 minutes, la solution CV résiduelle a été enlevée par lavage avec du PBS.
- Enfin, le CV lié a été libéré en ajoutant 150 µl d'acide acétique à 33 %.
- L'absorbance a été mesurée à 540 nm.
- Toutes les étapes ont été réalisées à température ambiante.

III.4. Les résultats obtenus par les chercheurs :

L'espèce de *Candida albicans* c'est un agent pathogène opportuniste dans certaines circonstances, provoqué des infections chez l'être humain appelée les candidoses. La résistance antifongique des ces microorganismes est une préoccupation majeure.

De ce fait, les chercheurs son intéresse a connaitre des méthodes de traitement a base biologique par l'utilisation des probiotiques et évalué l'effet de ces dernière sur la croissance de *C.albicans*.

En 2005, Megdalena et ses collaborateur établir une étude pour testé l'activité antifongique de 110 souches *lactobacillus* isolé a partir des vagines des femmes en bonne santé choisies au hasard et sa capacité à moduler la croissance de *Candida albicans* fraîchement isolés a partir des cas cliniques de CV.

D'abord une méthode des plaques (double couche) à été réalise pour évalué l'activité antifongique des ses souches de *lactobacillus* contre *C.albicans*. La méthode de culture affiche le mieux des zones d'inhibition. Après une croissance adéquate, les zones d'inhibition de *C.albicans* ont été mesurées à l'aide d'une méthode semi-quantitative.

Dans nos études, seules quelques-unes Des souches de *Lactobacillus* telle que *L.plantarum* 30B, *L. fermentum* 17B, *L. rhamnosus* 41B *L. acidophilus* G/12A *L..delbrueckii* 117A.

Présentant des propriétés inhibitrices contre le *C.albicans* par la production de l'H₂O₂ en quantités détectables par la méthode des plaques.

En 2012, Sanae. A et son groupe établis une étude pour testé l'effet antifongique de *Streptococcus salivarius* K12 et sa capacité à moduler la croissance de *Candida albicans* in vitro, et son activité thérapeutique dans un modèle expérimental de candidose buccale.

L'inhibition in vitro de la croissance de *C. albicans* a été déterminée par un test sur microplaque de 96 puits en co-culture et par microscopie à fluorescence.

Ajout de *S. salivarius* K12 à la culture modifiée RPMI 1640 a inhibé l'adhérence de *C. albicans* à les bords plastique de la microplaque, la chose qui évalue la capacité inhibitrice pour l'adhérence de *C. albicans*. La croissance mycélienne de *C. albicans* a été quantifiée à l'aide de la méthode de coloration du cristal violet.

Synthèse bibliographique

Pour examiner la possibilité des de bactériocines *Streptococcus salivarius* K12 interfèrent avec la *C. albicans*, la sensibilité de *C. albicans* à *S. salivarius* K12 a été testée par le test d'antagonisme différé.

S. salivarius K12 a inhibé toutes les bactéries qui ont été utilisées comme indicateurs de l'activité inhibitrice de la bactériocine mais aucune influence sur *C. albicans*.

En 2015 une autre étude réalisée par C. Zhao et ses collaborateurs pour évaluer l'activité inhibitrice des probiotiques contre les espèces de *Candida* oraux.

Des produits probiotiques commerciaux ont été examinés, le produit Medilac-Vita qui est composé d'*Enterococcus faecium* et *Bacillus subtilis* R0179, comprimés de Golden qui est composé *Bifidobacterium* vis-à-vis des différents sérotypes de *Candida* (*C. albicans* ATCC 90028C, *C. albicans* SC5314, *C. parapsilosis* ATCC 22019 et *C. krusei* ATCC 6258).

Les interactions probiotiques-*Candida* ont été évaluées à l'aide de tests de diffusion sur disque.

Les résultats ont montré que, Parmi les quatre produits probiotiques, seul Medilac-Vita présentait une zone d'inhibition claire contre *C. albicans*, tandis que les autres n'ont pas montré d'activité d'inhibition dans le test de diffusion du disque lors du dépistage.

Par la suite, les chercheurs ont isolés et testés les composants de la bactérie, *B. subtilis* et *E. faecium*, respectivement, de Medilac-Vita. Il s'est avéré que *B. subtilis* présentait une activité anti-*Candida* assez forte avec des zones d'inhibition claires contre *C. albicans* ATCC 90028, *C. albicans* SC5314 et *C. parapsilosis* ATCC 22019, bien qu'elle n'ait pas fait preuve d'une inhibition notable contre *C. krusei* ATCC 6258.

La zone circulaire d'inhibition de la croissance induite par *B. subtilis* est beaucoup plus claire que celle induite par le fluconazole, ce qui indique que *B. subtilis* peut avoir un effet fongicide direct par rapport au fluconazole, qui a un faible potentiel fongicide.

En 2016, un groupe de biologistes conduit par Victor Haruo a établi une étude pour évaluer l'activité fongique et effets inhibiteurs des espèces de *Lactobacillus* sur les différentes phases de développement de biofilm de *Candida albicans*.

Cette étude a été réalisée en deux phases :

Synthèse bibliographique

Tout d'abord, les chercheurs ont commencé par l'évaluation de l'effet direct des cellules probiotiques *L. rhamnosus*, *L. casei* et *L. acidophilus* sur le développement de biofilms *C. albicans* SC5314 qui est incubé en co-culture.

La deuxième phase a été réalisée pour évaluer les effets des produits bactériens (exométabolites) trouvés dans le surnageant cellulaire sur la formation du biofilm de *C. albicans* SC5314.

Les résultats ont montré que les suspensions de *L. rhamnosus*, *L. casei* et *L. acidophilus* étaient réduites de manière significative les cellules de *C. albicans* SC5314 et aussi suggèrent que la présence de *Lactobacillus* ne pouvait pas seulement inhiber la colonisation initiale des *C. albicans* mais aussi de supprimer le développement d'un biofilm.

Le traitement de *C. albicans* SC5314 par le surnageant a montré aussi une efficacité inhibitrice de *C. albicans* SC5314 et leur biofilm, mais les surnageants collectés à partir de cellules probiotiques plus anciennes (durée d'incubation) présentaient une capacité inhibitrice plus forte que les autres (moins durée) la chose qui permet la modification de l'architecture de biofilm *C. albicans* SC5314.

En 2017, Mette Rose et ses collaborateurs ont établi une étude à l'objectif d'étudier le potentiel antifongique des bactéries probiotiques *Lactobacillus reuteri* (DSM 17938 et ATCC PTA 5289) contre six espèces *C. albicans* CCUG 46390; *C. dubliniensis* CCUG 48722 ; *C. glabrata* CCUG 63819, *C. krusei* CCUG 56126, *C. parapsilosis* CCUG 56136, et *C. tropicalis* CCUG 47037 et aussi pour leur capacité à se coagréger avec ses levures et inhiber leur croissance.

La coagrégation a été déterminée par spectrophotométrie et le test d'antagonisme a été effectué par la méthode de plaque d'agar (double couche).

Mette Rose et ses collaborateurs, ont établi des expériences pour vérifier la capacité des deux *L. reuteri* à produire de l' H_2O_2 par la méthode de diffusion sur gélose (MRS) contenant 0,25 mg/mL de 3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine et 0,01 mg/mL peroxydase et après incubation, les plaques ont été exposées à l'air ambiant, et les colonies présentant un halo bleu. On considère produit de l' H_2O_2 .

Aussi, Pour estimer la production d'acide par *Lactobacillus* et l'effet du pH sur la croissance de *Candida*, était mesurée avec une microélectrode de pH.

Synthèse bibliographique

Les résultats de test de co-agrégation a clairement montré que les souches de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 et *Lactobacillus reuteri* ATCC PTA 5289 capables à se regrouper avec les souches de référence de *Candida* et inhibe leur croissance et empêcher le développement de bofilm candidal.

Aussi dans cette étude les chercheurs montré que les deux souches de *L. reuteri* ont été capables de freiner la croissance de la plupart des souches de *Candida*, à l'exception de *C. krusei* CCUG 56126 et de certaines serotypes de *C. tropicalis*.

L. reuteri DSM 17938 et *L. reuteri* PTA 5289 a montré une réaction positive pour la production de H₂O₂ en afficher des halos bleu clair autour des colonies incubées.

Résultats typiques des mesures du pH dans l'agar recouvrent les cultures de *lactobacilles* et de *Candida* montré que les souches de *candida* résisté à degré pH 4 et pH6.

Une année après, Chang-Ho et son group ils ont étudié le potentiel des souches probiotiques *Lactobacillus fermentum* MG901 et *L. plantarum* MG989 vers le contrôle des *C.albiacns* et la capacité des ses souches pourrait être considérée comme prometteuse dans la prévention et, éventuellement, la guérison des infections à *Candida albicans*

Les tests effectués à la suite par co-culture des *Lactobacillus fermentum* MG901 et

L. plantarum MG989 avec les cellules de *C. albicans* dans des microplaques de 96 puits.

Les résultats montrant que les *Lactobacillus fermentum* MG901 et *L. plantarum* MG989 ont été inhibe fortement plusieurs micro-organismes potentiellement dangereux avec un effet particulièrement évident contre *C. albicans*.

Ses espèces de *Lactobacillus* agissent comme une barrière à l'infection et contribuer au contrôle du microbiote et inhibe l'adhérence de *C.albicans* sur les surfaces biotiques et abiotiques et freinier leur croissance.

Les *Lactobacillus fermentum* MG901 et *L. plantarum* MG989 a donc tendance à être un candidat probiotique efficace pour l'utilisation bénéfique dans la protection des infections microbiennes surtout causée par *G. vaginalis* et *C. albicans*.

Synthèse bibliographique

Dans la même année, Rodnei et son groupe ont réalisé une étude pour tester l'activité antifongique de 30 souches de *Lactobacillus*, et sélectionner les souches plus capables de réduire de *C. albicans* ATCC 18804 et l'inhibition de biofilm *C. albicans* ATCC 18804.

L'activité anti-biofilm des souches de *Lactobacillus* contre la souche référence *C. albicans* ATCC18804 et les souches isolées à partir des cas cliniques *C. albicans* CA60 et *C. albicans* CA230S a été testée par co-agrégation réalisée sur des plaques de microtitration de 96 puits.

Un test de diffusion sur gélose a été réalisé pour évaluer l'activité antifongique de ses souches vis-à-vis de *C. albicans* soit par l'utilisation de filtrat ou bien la culture directement.

Les résultats ont montré que 26 souches (86%) de *Lactobacillus* analysées, ont fourni une activité antibactérienne contre *C. albicans* pourcentages de réduction de croissance variés de entre 82% et 98%.

Lactobacillus avaient un effet inhibiteur sur la croissance de *C. albicans* ATCC 18804 lorsque leur surnageant a été mis en contact avec *C. albicans* ATCC18804, au temps que la présence de cultures de *Lactobacillus* directement réduit totalement les biofilms total formés par *C. albicans* ATCC18804, *C. albicans* CA60 et *C. albicans* CA230S.

Cette étude a aussi permis de sélectionner trois souches de *Lactobacillus* les plus fortes pour l'inhibition de *C. albicans*, représentées par *L. rhamnosus* 5.2, *L. fermentum* 20.4 et *L. paracasei* 28.4.

En 2019, Hager et ses collaborateurs ont établi une étude pour évaluer l'activité anti-biofilm de certaines probiotiques telles que *Saccharomyces boulardii* ATCC MYA-796, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121, *Bifidobacterium breve* ATCC 15701, et *L. rhamnosus* ATCC 39595 vis-à-vis de *Candida albicans* SC5314.

Des tests de l'activité anti-biofilms ont été réalisés en co-culture sur des microplaques de 96 puits à la présence de culture de *Candida albicans* SC5314 avec les souches probiotiques une à la fois ou bien par l'ajout de filtrats des probiotiques.

Les résultats de cette étude ont montré que la souche probiotique possède un pouvoir qui permet de inhiber la croissance de *Candida albicans* SC5314.

Aussi la perturbation de l'architecture de biofilm de *Candida albicans* SC5314 et après l'élimination totale de ses biofilms.

En 2020, Samira et d'autres chercheuses a été établis des études qui consiste à suivi et d'évaluer les propriétés antifongiques de *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus plantarum* sur différents espèces de *Candida* isolées de la cavité buccale de patients atteints du VIH/SIDA.

Dans cette étude, les effets antifongiques des *L. acidophilus* et *L. plantarum* soit par cellule-cellule au bien surnagent-cellule ont été étudiés contre différentes espèces de *Candida* oraux.

C. krusei, *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, par des essais de co-agrégation, d'interférence de recouvrement de gélose respectivement.

Les résultats de la coagrégation montrée que le *L. acidophilus* et *L. plantarum* avaient une capacité de coagrégation et l'inhibition la germination et la formation de biofilm avec différentes espèces de *Candida* oral à des degrés divers.

Le pourcentage de coagrégation et l'élimination augmentait de manière significative avec le temps *L. acidophilus* présentait un pourcentage le plus élevé pour *C. krusei* (78 %), suivi de *C. glabrata* (70%).

Le pourcentage de coagrégation et l'élimination le plus élevé de *L. plantarum* a été observé avec *C. krusei* (72%), suivi de *C. albicans* (63 %) et de *C. glabrata* (60%).

Donc, on conclure que *L. acidophilus* et *L. plantarum* à des concentrations cellulaires de 10¹⁰ à 10² ufc/ml était capable d'inhiber la croissance de la plupart des *Candida* oraux à l'exception de *C. albicans*, et de certains *C. krusei* qui necessite des hautes concentrations pour inhibé.

Conclusion

Candida albicans c'est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue dans le genre de *Candida*, c'est un microorganisme opportuniste pathogène qui peut provoquer des infections fongiques essentiellement au niveau des muqueuses digestives, la cavité buccale appelée la candidose. Ce pathogène capable de former des biofilms qui représente le principal facteur de résistance de plus long temps contre les facteurs hostiles tels que les agents antifongiques les métabolites sécrétés par le système immunitaire de l'hôte, il a la capacité de passer de la forme blastospore à la forme des hyphes invasives.

Notre étude a montré le potentiel antifongique *in vitro* de certaines souches probiotiques vis-à-vis *C.albicans*. Ces microorganismes probiotiques ont la capacité de coagréger avec *C.albicans* et essentiellement la formation d'un biofilm et est une caractéristique souhaitée des probiotiques. Grâce à leur coagrégregation les souches probiotiques telles que *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus fermentum* MG901 et *L. plantarum* MG989, peuvent avoir la capacité de créer un micro-environnement hostile autour de *C.albicans* à forte concentration des substances telles que les acides, H₂O₂, les bactériocines, qui inhibent la croissance et bloquent la formation des biofilms de *candida albicans*.

Références bibliographiques

A

Abolfazl Barzegari, Keyvan Kheyrolahzadeh, Seyed Mahdi Hosseiniyan Khatibi, Simin Sharifi, Mohammad Yousef Memar, Sepideh Zununi Vahed (2020). The Battle of Probiotics and Their Derivatives Against Biofilms, *Infection and Drug Resistance*, vol : 2020:13 659–672.

Alis van der Aa Kühle et Lene Jespersen. (2003). The Taxonomic Position of *Saccharomyces boulardii* as Evaluated by Sequence Analysis of the D1/D2 Domain of 26S rDNA, the ITS1-5.8S rDNA-ITS2 Region and the Mitochondrial Cytochrome- c Oxidase II Gene. *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 26, no 4, 2003, p. 564-571, DOI: 10.1078/072320203770865873.

AFSSA. (2005). Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme.

Alyssa carré-mlouka (2018). Les effets des probiotiques, *Muséum national d'histoire naturelle DIREF*, vol 1.4.

Anna Krasowska, Anna Murzyn, Agnieszka Dyjankiewicz, Marcin Łukaszewicz et Dorota Dziadkowiec, (2009). The antagonistic effect of *Saccharomyces boulardii* on *Candida albicans* filamentation, adhesion and biofilm formation, *FEMS Yeast Res* 9 (2009) 1312–1321vol : 1312–1321. DOI:10.1111/j.1567-1364.2009.00559.x.

B

Benmansour.M.(2012). Les Candidoses vulvo-vaginales à *Candida albicans*: Facteurs de risques, diagnostic mycologique et prévalence spécifique, pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, *UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID FAULTE DE MEDECINE, Tlemcen*.

Barnett J A., Payne RW and Yarrow D. (2000). "Yeasts: Characteristics and Identification." *Cambridge University Press 3rd edition*.

Brigida Gallone, Jan Steensels, Troels Prahl, Leah Soriaga, Veerle Saels. (8 September 2016). Domestication and Divergence of *Saccharomyces cerevisiae* Beer Yeasts, *Cell* 166, 1397–1410, doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.020.

C

Christina Tsui1, Eric F. Kong and Mary Ann Jabra-Rizk. (2016). Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathogens and Disease* . 74, 2016, ftw018, doi:10.1093/femspd/ftw018.

Carol A Kumamoto (2002). *Candida* biofilms, *Current Opinion in Microbiology*. 5:608–611 30 October 2002.

Chu W. S., Magee B. B. and Magee P.T, (1993). Construction of an SfiI macrorestriction map of the *Candida albicans* genome. *J Bacteriol* , 175: 6637-6651,DOI :10.1128/jb.175.20.6637-6637-6651.1993.

Chang-Ho Kang, YongGyeong Kim, Seul Hwa Han, Jin-Seong Kim, Nam-Soo Paek, Jae-Seong So (2018). In vitro probiotic properties of vaginal *Lactobacillus fermentum* MG901 and *Lactobacillus plantarum* MG989 against *Candida albicans*, *Accepted Manuscript*, doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.07.005.

Cambi, A., Gijzen, K., de Vries, J. M., Torensma, FR., Joosten, B., Adema, G. J., Netea, M. G., Kullberg, B. J., Romani, L. and Figdor C G. The C-type lectin DC-SIGN (CD209) is an antigen-uptake

Références bibliographiques

receptor for *Candida albicans* on dendritic cells. *Eur J Immunol* 2003. 33: 532538, DOI: 10.1002/200310029.

Christine West, Andrew M Stanisz, Annette Wong, Wolfgang A Kunze, (28 December 2016). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* or *bouardii* yeasts on acute stress induced intestinal dysmotility Basic Study, *World J Gastroenterol*, 22(48), DOI:10.3748/wjg.v22.i48.10532.

Christopher L. Hager,a Nancy Isham,a Kory P. Schrom,b Jyotsna Chandra,a Thomas McCormick,a Masaru Miyagi,c Mahmoud A. Ghannouma,(2019). Effects of a Novel Probiotic Combination on Pathogenic Bacterial-Fungal Polymicrobial Biofilms, *American society for microbiology, Mbio*, Volume 10 Issue 2 e00338-19, doi.org/10.1128/mBio.00338-19.

D

D. Barraud · S. Gibot, (2016). Probiotiques en réanimation Probiotics in the Intensive, *SRLF et Lavoisier SAS*.vol : 25:328-339, DOI 10.1007/s13546-016-1196-1.

Dorna Davani-Davari, Manica Negahdaripour, Iman Karimzadeh, Mostafa Seifan. (2019). Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications, *Foods*, 8, 92; doi:10.3390/foods8030092.

DeVos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whiteman WB. (2009). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: *The firmicutes*. Springer Dordrecht Heidelberg London. New York.1450p.

Dellaglio F., de Roissard H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D. (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : *Bactéries lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.)*. Lorica, Uriage. p : 25-116.

D. CZERUCKA T. PICHE P. RAMPAL (July 2007). yeast as probiotics –*Saccharomyces bouardii*, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 26, 767–778, doi:10.1111/j.1365-2036.2007.03442.x.

E

Ezzariga N. (2015). Probiotique, applications thérapeutiques et effets secondaires. *Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Mohammed V de Rabat*, 158p.

F

F.C. Ribeiro, R.D. Rossoni, P.P. de Barros , J.D. Santos , L.R.O. Fugisaki , M.P.V. Leao and J.C. Junqueira (2019). Action mechanisms of probiotics on *Candida* spp. And candidiasis prevention: an update, *Journal of Applied Microbiology*, doi:10.1111/jam.14511.

G

Gordon Ramage, RanjithRajendran, LeighannSherry, and CraigWilliams (2012). Fungal Biofilm Resistance. *International Journal of Microbiology* Volume 2012, Article ID 528521, 14 pages doi:10.1155/2012/528521.

Graser, Y., Volovsek, M., Arrington, J., Schonian, G., Presber, W., Mitchell, T. G. and Vilgalys, R,(1996). Molecular markers reveal that population structure of the human pathogen *Candida albicans* exhibits both clonality and recombination. *Proc Natl AcadSci U S A*. 93: 12473-12477, DOI: 10.1073/pnas.93.22.12473.

Gow N A, (2002) *Candida albicans* switches mates. *Mol Cell* 2002. 10: 217-218 , DOI : 10.1016/s1097-2765(02)0068-1.

Gournier-château N, Larpent J P, Castillanos M I, et Larpent J L. (1994). Les probiotiques en alimentation animale et humaine. *Édition Technologie et documentation Lavoisier* pp. 1-192, Paris, France.

H

Références bibliographiques

Ho, T.N.T., Tuan, N., Deschamps, A. et Caubet, R. (2007). Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology*. 134-142.

Holzappel, W. H., P. Haberer, et al. (2001). "Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition." *The American journal of clinical nutrition*. 73(2): 365s-373s.

J

Janaina Araújo de Alvarenga, Felipe de Camargo Ribeiro, Marisol dos Santos Velloso, Beth Burgwyn Fuchs, Eleftherios Mylonakis, Antonio Olavo Cardoso Jorge & Juliana Campos Junqueira. Biofouling (2018). Antifungal activity of clinical Lactobacillus strains against Candida albicans biofilms: identification of potential probiotic candidates to prevent oral candidiasis, Vol : 34, No. 2, 212–225 doi.org :10.1080/08927014.2018.1425402.

K

Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W and Stalpers J.A. (2008). Ainsorth and bisby's Dictionary of the Fungi. (10th edn). *CABI, Wallingford*.

König H., Uden, G. et Frohlich, J., (2009). Biology of Microorganisms on Grapes, *in Must and in Wine*, p3 © Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Khalid, N.M. et Marth, E.H. (1990). Lactobacilli, their enzymes and role. *In: Ripening and spoilage of cheese. Rev. Dairy Sci*, 73 : 158-167.

L

LUDO A. H. MULLER and JOHN H. MC CUSKER, (2009). Microsatellite analysis of genetic diversity among clinical and nonclinical Saccharomyces cerevisiae isolates suggests heterozygote advantage in clinical environments, *Molecular Ecology* 18, 2779–2786, doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04234.x.

Laura Edwards-Ingram, Paul Gitsham, Nicola Burton, Geoff Warhurst, Ian Clarke, (2007). Genotypic and Physiological Characterization of Saccharomyces boulardii, the Probiotic Strain of Saccharomyces cerevisiae, *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, p. 2458–2467 Vol. 73, doi:10.1128/AEM.02201-06.

M

Mette Rose Jørgensena , Camilla Kragelunda , Peter Østrup Jensenb , Mette Kirstine Kellera and Svante Twetmana (2017). Probiotic Lactobacillus reuteri has antifungal effects on oral Candida species in vitro, *JOURNAL OF ORAL MICROBIOLOGY*, 2017 VOL. 9, NO. 1, 1274582, doi.org/10.1080/20002297.2016.1274582.

MAGDALENA STRUS, AGNIESZKA KUCHARSKA, GRAZ YNA KUKLA, MONIKA BRZYCHCZY-WŁOCH, KATARZYNA MARESZ, et PIOTR B. HECZKO (2005). The in vitro activity of vaginal Lactobacillus with probiotic properties against Candida, *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology* , vol : 13(2): 69–75, DOI: 10.1080/10647440400028136.

O

O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R (2000). Biofilm formation as microbial développements. *AnnuRevMicrobiol* 54: 49-79.

Odds FC. (1979), candidosis of the Genitalia , *In :FC(ed) Candida and Candidosis, Leicester University Presse*. London,pp101-112.

Ogier, J.C., Casalta E., Farrokh C., et Saihi A. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The Leuconostoc genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126 : 286-290.

P

Références bibliographiques

Pinchuk I. V., Bressollier P., Verneuil B., Fenet B., Sorokulova I. B., Mégraud F. et Urdaci M. C. (2001). "In vitro anti-Helicobacter pylori activity of the probiotic strain Bacillus subtilis 3 is due to secretion of antibiotics." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 45(11): 3156-3161.

Paulina Markowiak and Katarzyna 'Sli'zewska, (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health, *Nutrients*, 9, 1021; doi:10.3390/nu9091021.

Pilet, M.F., Magras C., Federigh M. (2005). Bactéries lactiques. In : *bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris.* 219-240.

Paul M. Magwenel , Ömür Kayıkçı, Joshua A. Granek, Jennifer M. Reininga, Zackary Scholl, and Debra Murray,(2010).Outcrossing, mitotic recombination, and life-history trade-offs shape genome evolution in Saccharomyces cerevisiae, *PNAS*, vol. 108, no. 5, doi.org/10.1073/pnas.1012544108.

Pfaller M.A. et Diekema D.J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev.* 20: 133-163 , DOI:10.1128/CMR.00029-06.

R

Rout George Kerry, Jayanta Kumar Patra, Sushanto Gouda, Yooheon Park, (2017). Benefaction of probiotics for human health, *Journal of Food and Drug Analysis*, vol : 1-13,doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002.

S

Sanae A. Ishijima, a Kazumi Hayama, a Jeremy P. Burton, b Gregor Reid, d Masashi Okada, a Yuji Matsushita, c and Shigeru Abea (2012). Effect of Streptococcus salivarius K12 on the In Vitro Growth of Candida albicans and Its Protective Effect in an Oral Candidiasis Model, 0099-2240/*Applied and Environmental Microbiology* , p. 2190 –2199, doi:10.1128/AEM.07055-11.

Segal, E. (2005).Candida, sill number one--what do we know and where are wegoingfromthere? *Mycoses* 48 Suppl, 3-11.

Sudbery P E, (2001) .The germ tube of Candida albicanshyphae and pseudohyphae show different patterns of septin ring localization. *Mol Microbiol* 2001. 41: 19-31, DOI : 10.1046/j.1365-2958.2001.02459.x.

Sudbery, P., Gow, N. and Berman J. (2004). The distinct morphogenic states of Candida albicans .*Trends Microbiol* 2004. 12: 317-324 , DOI : 10.1016/j.tim.2004.05.008.

Schaller M., Borelli C., Korting, H. C. and Hube, B (2005). Hydrolytic enzymes as virulence factors of Candida albicans. *Mycoses* 2005. 48: 365-377, DOI : 10.1111/j.1439-0507.2005.01165.x.

Saulnier, D. M., Ringel, Y., Heyman, M. B., Foster, J. A., Bercik, P., Shulman, R. J., Versalovic, J., Verdu, E. F., Dinan, T. G., & Hecht, G. (2013). The intestinal microbiome, probiotics and prebiotics in neurogastroenterology. *Gut microbes*, 4(1), 17-27.

Senok A C, Ismaeel A Y, Botta G A. (2005). Probiotics: Facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection.* Vol: 11(12): 958-966.

Samira Salari, Pooya Ghasemi, Nejad Almani (2020). Antifungal effects of Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus plantarum against different oral Candida species isolated from HIV/ AIDS patients: an in vitro study, *JOURNAL OF ORAL MICROBIOLOGY*, VOL: 12, 1769386, doi.org/10.1080/20002297.2020.1769386.

V

Victor Haruo Matsubara, Yi Wang, H. M. H. N. Bandara, Marcia Pinto Alves Mayer, Lakshman P. Samaranyake (2016). Probiotic lactobacilli inhibit early stages of Candida albicans biofilm development by reducing their growth, cell adhesion, and filamentation, DOI 10.1007/s00253-016-7527-3.

Références bibliographiques

Z

Z. Salvado, F. N. Arroyo-López, J. M. Guillamo'n, G. Salazar, A. Querol, and E. Barrio Apr. 2011, Temperature Adaptation Markedly Determines Evolution within the Genus *Saccharomyces*, *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, p. 2292–2302, doi:10.1128/AEM.01861-10.

Zhao1. C, X. Lv , J. Fu , C. He, H. Hua and Z. Yan. (2015). In vitro inhibitory activity of probiotic products against oral *Candida* species, *Journal of Applied Microbiology ISSN* vol : 1364-5072, doi:10.1111/jam.13138.

