

## Les mécanismes d'adhérence des champignons responsables de mycoses superficielles

BALDO A., MATHY A., VERMOUT S. \*, TABART J., LOSSON B., MIGNON B.

Service de Parasitologie et Pathologie des Maladies Parasitaires

Faculté de Médecine Vétérinaire – Université de Liège - Boulevard de Colonster, 20 (B43) – B-4000 Liège (Sart Tilman)

\* Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Santé Unité Vétérinaire - Place Victor Horta 40 - B-1060 Bruxelles

Correspondance : Dr. Mignon B, e-mail : bmignon@ulg.ac.be

**RESUME :** Les champignons responsables de mycoses superficielles sont principalement des champignons pathogènes opportunistes appartenant aux genres *Candida* et *Malassezia* et les dermatophytes, qui sont des champignons parasites obligatoires. L'adhérence des champignons aux tissus de l'hôte est un phénomène complexe qui fait intervenir des adhésines et des protéases. Les interactions hydrophobes favorisent également l'adhérence aux cellules épithéliales, mais cette contribution semble mineure. Les travaux effectués sur l'adhérence des champignons responsables de mycoses superficielles pourraient déboucher à terme sur la mise au point de nouveaux outils thérapeutiques ou prophylactiques contre ces infections.

### INTRODUCTION

L'adhérence aux tissus de l'hôte représente une étape cruciale dans l'établissement d'une infection fongique. Elle permet aux champignons de résister aux forces physiques qui peuvent les éliminer et elle précède la germination et l'invasion tissulaire.

Le principal mécanisme d'adhérence des champignons repose sur la reconnaissance spécifique entre des adhésines fongiques et des récepteurs de l'hôte. Une adhésine est un composant de la surface cellulaire d'un micro-organisme qui lui permet d'adhérer aux cellules de l'hôte en se liant à des molécules présentes à leur surface. Les adhésines identifiées chez les champignons pathogènes sont principalement des protéines et des mannoprotéines. Elles sont classées, en fonction des ligands auxquelles elles se lient, en lectines (adhésines qui se lient à des hydrates de carbone) et en adhésines fibrillaires qui, chez *Candida albicans*, sont des mannoprotéines qui se

lient à un récepteur lipidique (Tosh et Douglas, 1992 ; Cormack *et al.*, 1999 ; Yu *et al.*, 1994a). Chez *C. albicans*, des adhésines ont été caractérisées au niveau moléculaire, mais leur classification reste en suspens car la nature de leur ligand hôte demeure inconnue. Des adhésines qui se lient aux produits de dégradation du complément, principalement l'iC3b, ont également été identifiées chez cette levure et interviendraient dans l'adhérence aux cellules épithéliales (Heidenreich et Dierich, 1985 ; Bendel *et al.*, 1995).

Les protéases peuvent également être impliquées dans les mécanismes d'adhérence fongique. Leur rôle a été particulièrement étudié chez *C. albicans* (Ollert *et al.*, 1993 ; Watts *et al.*, 1998 ; Bektic *et al.*, 2001).

Les interactions hydrophobes, non spécifiques, constituent des mécanismes d'adhérence mineurs qui seront seulement évoqués dans cet article.

L'adhérence est donc un processus complexe et multifactoriel faisant

intervenir une multitude d'interactions de type « ligand-récepteur », des protéases et certaines propriétés biophysiques générales de la cellule hôte. Cet article décrit les mécanismes d'adhérence des champignons responsables de mycoses superficielles : *Candida albicans*, *Malassezia* spp. et les dermatophytes.

### CANDIDA ALBICANS

Les recherches fondamentales sur l'adhérence des champignons responsables de mycoses superficielles ont été principalement réalisées chez *C. albicans*. Cette levure commensale des muqueuses est un champignon pathogène opportuniste responsable d'infections superficielles et systémiques. C'est le principal agent responsable des infections fongiques disséminées chez les individus immunodéprimés, les diabétiques, les nouveaux-nés et les patients ayant subi une chirurgie.

Cette levure peut être responsable de mycoses superficielles chez des individus par ailleurs en bonne santé. En effet, 75 % des femmes ont déjà eu une infection vaginale à *C. albicans* et 5 % d'entre elles souffrent d'infections chroniques (Fidel et Sobel, 1996). La colonisation peut survenir au niveau des muqueuses buccale et vaginale et au niveau de la peau (cornéocytes). Quand ces barrières épithéliales sont altérées, par exemple suite à l'utilisation d'un cathéter, après une chirurgie ou encore à cause d'une brûlure, le champignon peut envahir les tissus de l'hôte. L'adhérence de *C. albicans* aux muqueuses et à la peau représente la première étape du processus infectieux.

### Les adhésines spécifiques jouant un rôle majeur dans l'adhérence de *C. albicans*

Les adhésines de *C. albicans* sont multiples et très diverses. La suppression d'une seule adhésine n'induit généralement qu'une réduction partielle de l'adhérence par rapport à la souche sauvage. Cela est probablement dû au fait que plusieurs adhésines interviennent dans l'adhérence. Zhao et collaborateurs (2005) ont découvert que des souches mutées au niveau d'un gène codant pour une adhésine augmentaient l'expression d'une autre adhésine. Ce phénomène de compensation rend difficile la détermination de la contribution d'une seule adhésine dans l'adhérence.

Bien qu'elle détermine la classification des adhésines fongiques, la nature des ligands hôtes demeure peu connue. De nombreuses adhésines ont été caractérisées, mais leur classification reste en suspens car la nature de leur ligand hôte demeure inconnue.

#### Les adhésines de *C. albicans* caractérisées au niveau moléculaire

Chez *C. albicans*, une famille de 8 gènes *ALS* (*Agglutinin-like sequence*) codant pour des adhésines a été mise à jour (Hoyer, 2001). Parmi celles-ci, les adhésines Als1p et Als3p permettent l'adhérence de *C. albicans* aux cellules endothéliales vasculaires et aux cellules épithéliales buccales (Fu et al., 1998 ; Zhao et al., 2004). Par contre, les adhésines Als5p, Als6p et Als7p n'interviennent pas dans l'adhérence de *C. albicans* à ces cellules. En effet, des mutants déficients au niveau de ces adhésines sont plus adhérents à

un épithélium buccal humain reconstruit et à des cellules endothéliales en monocouches que la souche sauvage ; et les dommages tissulaires causés sont similaires (Zhao et al., 2007).

L'adhésine Hwp1 de *C. albicans* s'est également révélée importante lors d'infection des muqueuses buccale et oesophagienne. Chez des souris transgéniques  $\epsilon 26$  immunodéprimées, dont l'immunité innée et acquise est déficiente (Balish et al., 2001), des mutants déficients au niveau du gène *HWPI* se sont révélés moins virulents que la souche sauvage qui était létale (Sundstrom, 2002). Une diminution des dommages tissulaires au niveau de la langue et de la muqueuse oesophagienne a été observée chez les souris infectées par la souche mutée (Sundstrom, 2002). Cette adhésine pourrait jouer un rôle dans l'établissement de l'infection (Staab et al., 1999).

L'adhésine Camp65p (anciennement appelée MP65), une mannoprotéine de 65 kDa présente au niveau de la paroi cellulaire tant des formes levures que filamenteuses de *C. albicans*, joue un rôle crucial lors d'infection vaginale (Bromuro et al., 1994). En effet, elle contribue aux propriétés adhésives du champignon et est la cible d'une réponse immune de type cellulaire (Nisini et al., 2001). Son rôle important dans l'adhérence aux cellules épithéliales vaginales et à un support inerte a été récemment démontré par plusieurs auteurs (De Bernardis et al., 2007 ; Sandini et al., 2007). En effet, des anticorps monoclonaux humains dépourvus de fraction Fc ("domain antibodies" [DABs]) dirigés contre l'adhésine Camp65p inhibent à plus de 90 % l'adhérence de *C. albicans* à l'épithélium vaginal et s'avèrent protecteurs dans un modèle d'infection expérimentale vaginale chez le rat (De Bernardis et al., 2007).

Gale et collaborateurs (1996 ; 1998) ont caractérisé une adhésine intervenant dans l'adhérence aux cellules épithéliales et dans la morphogénèse de *C. albicans*. En effet, l'inactivation du gène *INT1* supprime la croissance des filaments mycéliens, diminue de 39 % l'adhérence aux cellules épithéliales et réduit la virulence dans un modèle murin d'infection systémique. De plus, l'expression du gène *INT1* par la levure *Saccharomyces cerevisiae* est suffisante pour permettre l'adhérence de cette levure, normalement non adhérente, à des cellules épithéliales (Gale et al., 1998).

Une adhésine de type carbohydrate, le facteur 6, présente à la surface des levures de *C. albicans* de sérotype A intervient également dans l'adhérence aux cellules épithéliales buccales et aux kératinocytes en se liant à un récepteur hôte non identifié (Miyakawa et al., 1992 ; Bramono et al., 1994).

#### Les adhésines de type lectine

Des lectines ont été identifiées chez *C. albicans* (Critchley et Douglas, 1987 ; Brassart et al., 1991) et *C. glabrata* (Cormack et al., 1999). Chez *C. albicans*, des lectines de la paroi fongique se lient à des glycoprotéines de surface des cellules épithéliales contenant du fucose ou du *N*-acétyl-D-glucosamine. En effet, l'adhérence de *C. albicans* à des cellules épithéliales peut être partiellement inhibée lorsque les levures sont préincubées avec du fucose, du *N*-acétyl-D-glucosamine ou avec des lectines qui reconnaissent un de ces deux sucres (Tosh et Douglas, 1992). Chez *C. glabrata*, une famille de gènes *EPA* (*epithelial adhesin*) codant pour des adhésines a été caractérisée (De Las Penas et al., 2003). Parmi ces adhésines, la lectine Epa1p est impliquée dans l'adhérence aux cellules épithéliales (Cormack et al., 1999). En effet, une diminution de cette adhérence était observée chez des mutants déficients au niveau du gène *EPA1*.

#### Les adhésines fibrillaires

La couche externe de la paroi fongique de *C. albicans* est composée principalement de mannoprotéines formant un matériel dense visible en microscopie électronique et constitué d'appendices fibrillaires de 100 à 300 nm de long et de 5 nm de large (Bobichon et al., 1994). Yu et collaborateurs (1994a ; 1994b) ont démontré que ces fibrilles interviennent dans l'adhérence de *C. albicans* en se liant à un récepteur lipidique, le glycosphingolipide lactosylcéramide, présent au niveau des cellules épithéliales buccales. Plus récemment, l'épitope présent sur les fibrilles et intervenant dans la liaison aux récepteurs cellulaires a été identifié. Cet épitope est identique à celui présent au niveau des pili de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* et intervenant dans l'adhérence de cette bactérie aux cellules épithéliales buccales humaines (Lee et al., 1996 ; Yu et al., 1996).

### **Les adhésines se liant à l'iC3b et au C3d**

Des adhésines qui se lient aux produits de dégradation du complément, l'iC3b et le C3d, ont été identifiées chez *C. albicans* (Heidenreich et Dierich, 1985) mais pas chez les autres espèces du genre *Candida*. L'adhésine se liant à l'iC3b est un analogue d'intégrine souvent appelée « récepteur à l'iC3b » en raison de son important degré d'homologie avec le récepteur CR3 (*complement receptor type 3*) présent à la surface des polymorphonucléaires neutrophiles et des macrophages mammaliens.

Ollert et collaborateurs (1990) ont démontré la présence du récepteur à l'iC3b sur une souche virulente de *C. albicans* alors que l'expression de ce récepteur était réduite de 53 % sur une souche dérivée, moins virulente et non adhérente à des caillots de fibrine (souche m-10), un mutant spontané, résistant à la céruléine (un inhibiteur de la synthèse des acides gras). Par contre, l'activité de liaison au C3d était similaire pour les deux souches. La souche m-10 présentait une capacité réduite à adhérer aux cellules épithéliales buccales (60 à 70 % d'inhibition) (Hoberg *et al.*, 1986) et vaginales (Lehrer *et al.*, 1986) et était également moins virulente *in vivo*, dans des modèles animaux d'endocardite chez le lapin (Calderone *et al.*, 1985) et de vaginite chez le rat (Lehrer *et al.*, 1986).

L'implication de l'adhésine se liant à l'iC3b dans l'adhérence de *C. albicans* aux cellules épithéliales et endothéliales a été démontrée par plusieurs auteurs. En effet, la préincubation des levures avec des anticorps monoclonaux anti-CR3 mammalien et avec l'iC3b purifié inhibe l'adhérence de *C. albicans in vitro* à des cellules épithéliales en monocouches (Bendel et Hostetter, 1993, Bendel *et al.*, 1995) et à l'endothélium vasculaire (Gustafson *et al.*, 1991).

En plus de son rôle dans l'adhérence, l'adhésine se liant à l'iC3b jouerait un rôle dans l'inhibition de la phagocytose du pathogène par compétition avec le récepteur à l'iC3b des polymorphonucléaires neutrophiles (Gilmore *et al.*, 1988 ; Hostetter *et al.*, 1990).

L'adhésine liant le C3d est un analogue d'intégrine apparenté au récepteur CR2 mammalien. Le degré d'homologie

avec ce récepteur semble moins important que celui de l'iC3b pour le récepteur CR3. Cette adhésine est impliquée dans l'adhérence au plastic (Kennedy *et al.*, 1992), mais elle pourrait également jouer un rôle dans l'adhérence aux cellules hôtes.

### **Les protéases sécrétées**

L'implication de protéases dans le processus d'adhérence a été particulièrement étudiée chez *C. albicans*. Cette levure possède une famille de dix gènes codant pour des protéases aspartiques sécrétées (Saps), qui jouent un rôle prépondérant dans différents aspects du processus infectieux (Hube et Naglik, 2001 ; Naglik *et al.*, 2003). Certaines isoenzymes, telles Sap1, Sap2 et Sap3, jouent un rôle important dans les processus d'adhérence et d'invasion de la peau et des muqueuses (Ollert *et al.*, 1993 ; Borgvon Zepelin *et al.*, 1999). L'utilisation d'inhibiteurs de protéases aspartiques [la pepstatine A et les inhibiteurs des protéases du VIH (virus de l'immuno-déficience humaine) également capables d'inhiber les Saps] a permis de démontrer le rôle de plusieurs Saps dans l'adhérence de *C. albicans* aux cellules épithéliales de l'hôte grâce à l'utilisation de différents modèles utilisant des cellules épithéliales vaginales (Bektic *et al.*, 2001), des cellules épithéliales buccales (Watts *et al.*, 1998) et des kératinocytes en monocouche (Ollert *et al.*, 1993). L'utilisation de mutants déficients au niveau d'une ou plusieurs Saps a permis, dans un modèle *in vitro* de candidose buccale utilisant un épithélium humain reconstitué, de démontrer l'implication de Sap1, Sap2 et Sap3 dans les premières étapes de la pénétration des surfaces muqueuses et dans l'induction des dommages tissulaires (Schaller *et al.*, 1999). Le caractère partiel de l'inhibition de l'adhérence par des inhibiteurs des protéases aspartiques, souligne l'implication d'autres facteurs que les protéases. L'utilisation d'anticorps monoclonaux humains dépourvus de fraction Fc dirigés à la fois contre Sap2 et contre l'adhésine Camp65p a permis d'inhiber complètement l'adhérence des levures à des cellules épithéliales vaginales de rat cultivées *in vitro*. Ces anticorps utilisés en lavement, dans un but préventif et curatif, se sont avérés aussi efficaces *in vivo* qu'un dérivé azolé, le fluconazole, dans un modèle de vaginite chez le rat (De Bernardis *et al.*, 2007). Ces anticorps bispécifiques

dirigés à la fois contre Sap2 et contre Camp65p sont plus efficaces que des anticorps monospécifiques dirigés contre ces facteurs de virulence.

Le mécanisme par lequel les protéases fongiques interviennent dans l'adhérence reste inconnu. Différentes hypothèses ont été émises : ces protéases pourraient rendre accessibles des récepteurs cellulaires par clivage protéolytique ou agir comme ligand et reconnaître ces récepteurs. Un mécanisme similaire a été décrit chez une bactérie, *Streptococcus pneumoniae*, chez laquelle une protéase liée à la paroi bactérienne, une *choline binding protein* (Cbp), intervient dans l'adhérence (Mann *et al.*, 2006).

### **Les interactions non spécifiques : les interactions hydrophobes**

L'hydrophobicité de la surface cellulaire de *C. albicans* constitue un élément déterminant pour l'adhérence des levures au plastic intervenant dans la composition de nombreux accessoires médicaux tels les cathéters. Les levures peuvent coloniser ces accessoires et former des biofilms (Douglas, 2003). La formation de biofilms provoque des répercussions cliniques importantes. En effet, ceux-ci peuvent être la source de nouvelles infections ou de récurrences (Kojic et Darouiche, 2004). Aucune corrélation entre l'hydrophobicité de la surface cellulaire des levures et l'adhérence à des cellules épithéliales *in vitro* n'a pu être observée (Hazen, 1989). Ce mécanisme d'adhérence ne semble donc pas être prédominant dans le processus d'adhérence aux épithéliums. De plus, le rôle de l'hydrophobicité sur l'adhérence au plastic varie en fonction des isolats de *C. albicans* (Hazen, 1989).

### **MALASSEZIA SPP.**

Les levures du genre *Malassezia* (anciennement *Pytirosporium orbiculare*) sont des levures commensales, pathogènes opportunistes, de la peau chez l'homme. Dans un modèle *in vitro* utilisant des feuillets de *stratum corneum*, il a été démontré que l'adhérence de cette levure aux cornéocytes est un processus continu qui est maximal après 2 h (Faergemann *et al.*, 1983). L'adhérence aux cornéocytes est également plus importante à 37° C qu'à 20° C et n'est pas influencée par la flore résidente constituée princi-

pablement de *Staphylococcus epidermidis*.

L'adhérence de *M. pachydermatis*, une levure commensale de la peau des chiens, et plus fréquemment isolée de la peau et des conduits auditifs externes de chiens atteints de dermatite atopique, a également été étudiée dans un modèle *in vitro* utilisant des feuillets de *stratum corneum*. L'adhérence est un processus continu, qui est maximal après 2 h (Bond et Lloyd, 1996).

Aucune adhésine n'a, à ce jour été mise en évidence chez *Malassezia*. Néanmoins, la pré-incubation des levures ou des cornéocytes avec une enzyme protéolytique, la trypsine, réduit l'adhérence ce qui suggère que des protéines ou glycoprotéines de la paroi des levures et de la surface des cornéocytes joueraient un rôle important dans l'adhérence *in vitro* de *M. pachydermatis* aux cornéocytes canins (Bond et Lloyd, 1996). Le rôle d'une éventuelle lectine dans l'adhérence de cette levure aux cornéocytes n'a pas été démontré car sa pré-incubation avec différents sucres n'a pas eu d'effet sur l'adhérence (Bond et Lloyd, 1996).

## LES DERMATOPHYTES

Les dermatophytes sont des champignons filamenteux, parasites obligatoires, qui provoquent des infections superficielles et contagieuses des structures kératinisées (peau, poils, ongles). La première étape dans la genèse d'une dermatophytose implique l'adhérence d'une arthrospore (spore provenant de la fragmentation d'un filament mycélien et constituant l'élément infectant) au cornéocyte. Ensuite, celle-ci germe et des hyphes pénètrent le *stratum corneum*. La cinétique d'adhérence des dermatophytes à la peau a été étudiée à l'aide de différents modèles et techniques microscopiques. Une étude *in vitro* réalisée chez trois espèces de dermatophytes du genre *Trichophyton* a montré que l'adhérence des arthrospores à des cornéocytes humains en suspension survient déjà 2 à 3 h après le premier contact (Zurita et Hay, 1987). Cette phase est accompagnée par le gonflement de l'arthrospore (Hay, 1997). L'adhérence, maximale à 4 h est suivie par la germination (Zurita et Hay, 1987). Aljabre et collaborateurs (1992 ; 1993) ont utilisé des feuillets de *stratum corneum in vitro* ou des kératinocytes

isolés, et ont montré que l'adhérence des arthrospores de *T. mentagrophytes* aux cornéocytes humains est maximale à 6 h et que la germination des spores commence à partir de 4 h. L'adhérence de *T. mentagrophytes* a également été étudiée grâce à l'utilisation d'un modèle *ex vivo* d'explants cutanés humains constitués de toutes les couches de l'épiderme. Lors de cette étude, l'adhérence n'est survenue qu'après 12 h, la germination a débuté après 24 h et l'invasion du *stratum corneum* par les hyphes a eu lieu après 3 jours (Duek *et al.*, 2004). La cinétique de l'adhérence des arthrospores de *Microsporum canis* a été étudiée à l'aide d'un modèle d'épiderme félin reconstruit récemment mis au point (Tabart *et al.*, 2007) ; cette étude a montré que l'adhérence est un processus continu qui débute déjà 2 h après l'infection et qui n'est pas maximal 4 h plus tard (données non publiées). Les facteurs permettant l'adhérence des dermatophytes aux cornéocytes n'ont été que très peu étudiés.

### Les adhésines

#### Les adhésines de type lectine

Chez *T. mentagrophytes* et *T. rubrum*, des lectines sont présentes à la surface des microconidies. Elle leur permet d'adhérer à des cellules épithéliales en se liant à des résidus mannose et galactose (Esquenazi *et al.*, 2003 ; 2004).

#### Les adhésines fibrillaires

Des projections fibrillaires ont été observées au niveau de la surface des microconidies et des arthrospores de *T. mentagrophytes* durant la phase d'adhérence (Aljabre *et al.*, 1993 ; Rashid *et al.*, 1995 ; Kaufman *et al.*, 2007). Ce champignon produit de longues fibrilles lorsqu'il est à la surface du *stratum corneum* et de petites fibrilles fines lorsqu'il pénètre dans les cornéocytes (Kaufman *et al.*, 2007). Ces projections fibrillaires semblent jouer un rôle dans l'adhérence en connectant les arthrospores aux kératinocytes et les arthrospores entre elles.

### Les protéases

Le développement quasi exclusif des dermatophytes pathogènes au sein des structures kératinisées, *in vivo*, ainsi que leur caractère kératinolytique, *in vitro* et *in vivo* a amené les scienti-

fiques à considérer la production de protéases comme un élément physiopathologique majeur. Ces protéases pourraient intervenir dans l'adhérence du champignon aux kératinocytes et dans les premiers stades de l'invasion du *stratum corneum*, par exemple en modifiant de façon adéquate la surface des kératinocytes ou la paroi fongique elle-même. Plusieurs protéases ont été purifiées et caractérisées chez *T. rubrum* (Meevootisom et Niederpruem, 1979 ; Asahi *et al.*, 1985 ; Apodaca et McKerrow, 1989 ; Jousson *et al.*, 2004a ; 2004b), *T. mentagrophytes* (Yu *et al.*, 1968 ; Tsuboi *et al.*, 1989 ; Jousson *et al.*, 2004a) et *M. canis* (Mignon *et al.*, 1998 ; Brouta *et al.*, 2001 ; Descamps *et al.*, 2003 ; Jousson *et al.*, 2004a). Malgré la caractérisation de plusieurs protéases chez les dermatophytes, leur éventuelle implication dans l'adhérence n'a pas encore été évaluée. Dans notre laboratoire, des souches inhibées au niveau d'une subtilase et d'une dipeptidyl peptidase de *M. canis* ont été construites par interférence à l'ARN (Vermout *et al.*, 2007). Le rôle de ces protéases dans l'adhérence de *M. canis* à l'épiderme félin sera prochainement évalué en comparant l'adhérence de ces souches inhibées à celle des souches sauvages.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'adhérence des champignons aux cellules épithéliales est un phénomène complexe qui fait intervenir d'une part des adhésines et d'autre part des protéases. Les interactions hydrophobes favorisent également l'adhérence aux cellules épithéliales mais cette contribution semble mineure. Chez *C. albicans*, l'utilisation de mutants déficients au niveau de certaines adhésines et au niveau de certaines protéases aspartiques sécrétées (Saps) a permis de démontrer formellement leur implication dans l'adhérence. L'adhérence des dermatophytes n'a été quant à elle que très peu étudiée. Aucune adhésine n'a à ce jour été caractérisée. Néanmoins, des protéases ont été caractérisées et pourraient être impliquées dans les premières étapes du processus infectieux. Leur implication dans l'adhérence pourrait être évaluée grâce à l'utilisation d'inhibiteurs de protéases ou encore des souches inhibées.

Les traitements utilisés pour lutter contre les infections dues à des champignons font appel à des médicaments antifongiques, souvent administrés par voie systémique. Une approche alternative serait de lutter contre ces infections fongiques superficielles en bloquant l'adhérence des champignons. Des inhibiteurs de protéases pourraient être administrés par voie topique. Faciles à administrer et d'un prix abordable, ils seraient utilisables dans un but à la fois prophylactique et thérapeutique. Des travaux effectués chez un trématode du genre *Schistosoma* ont montré que des inhibiteurs de sérine protéases utilisés chez l'homme par voie topique étaient capables de bloquer l'invasion cutanée par le parasite (Lim *et al.*, 1999). Chez *C. albicans*, des anticorps bispécifiques dirigés à la fois contre la protéase

Sap2 et contre l'adhésine Camp65p utilisés en lavement se sont avérés aussi efficaces *in vivo* que le fluconazole dans un modèle de vaginite chez le rat (De Bernardis *et al.*, 2007).

## REMERCIEMENTS

Aline Baldo, Jérémy Tabart et Anne Mathy sont mandataires d'une bourse F.R.I.A. (Fonds pour la formation à la Recherche dans l'Industrie et dans l'Agriculture, rue d'Egmont 5, 1000 Bruxelles)

## SUMMARY

The fungi responsible for superficial mycoses are principally

opportunistic pathogenic fungi of the genus *Candida* and *Malassezia* and obligatory parasitic fungi, the dermatophytes. Adherence of fungi to host tissues is a complex phenomenon in which adhesins and proteases are involved. Hydrophobic interactions also promote adherence to epithelial cells but this contribution seems to play a minor role. The studies on adherence of fungi responsible for superficial mycoses could lead to the implementation of new therapeutic or prophylactic tools against these infections.

## BIBLIOGRAPHIE

- ALJABRE S.H., RICHARDSON M.D., SCOTT E.M., SHANKLAND G.S. Germination of *Trichophyton mentagrophytes* on human stratum corneum *in vitro*. *J. Med. Vet. Mycol.*, 1992, **30**, 145-152.
- ALJABRE S.H., RICHARDSON M.D., SCOTT E.M., RASHID A., SHANKLAND G.S. Adherence of arthroconidia and germings of anthropophilic and zoophilic varieties of *Trichophyton mentagrophytes* to human corneocytes as an early event in the pathogenesis of dermatophytosis. *Clin. Exp. Dermatol.*, 1993, **18**, 231-235.
- APODACA G., MCKERROW J.H. Purification and characterization of a 27,000-Mr extracellular proteinase from *Trichophyton rubrum*. *Infect. Immun.*, 1989, **57**, 3072-3080.
- ASAHI M., LINDQUIST R., FUKUYAMA K., APODACA G., EPSTEIN W.L., MCKERROW J.H. Purification and characterization of major extracellular proteinases from *Trichophyton rubrum*. *Biochem. J.*, 1985, **232**, 139-144.
- BALISH E., WARNER T., PIERSON C.J., BOCK D.M., WAGNER R.D. Orosophageal candidiasis is lethal for transgenic mice with combined natural killer and T-cell defects. *Med. Mycol.*, 2001, **3**, 261-268.
- BENDEL C.M., HOSTETTER M.K. Distinct mechanisms of epithelial adhesion for *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. Identification of the participating ligands and development of inhibitory peptides. *J. Clin. Invest.*, 1993, **92**, 1840-1849.
- BENDEL C.M., ST. SAUVER J., CARLSON S., HOSTETTER M.K. Epithelial adhesion in yeast species: correlation with surface expression of the integrin analog. *J. Infect. Dis.*, 1995, **171**, 1660-1663.
- BEKTIC J., LELL C.P., FUCHS A., STOIBER H., SPETH C., LASS-FLORL C., BORG-VON ZEPELIN M., DIERICH M.P., WURZNER R. HIV protease inhibitors attenuate adherence of *Candida albicans* to epithelial cells *in vitro*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2001, **31**, 65-71.
- BOBICHON H., GACHE D., BOUCHET P. Ultrarapid cryofixation of *Candida albicans*: evidence for a fibrillar reticulated external layer and mannan channels within the cell wall. *Cryo Letters*, 1994, **15**, 161-172.
- BOND R., LLOYD D.H. Factors affecting the adherence of *Malassezia pachydermatis* to canine corneocytes *in vitro*. *Vet. Dermatol.*, 1996, **7**, 49-56.
- BORG-VON ZEPELIN M., MEYER I., THOMSEN R., WURZNER R., SANGLARD D., TELENTI A., MONOD M. HIV-Protease inhibitors reduce cell adherence of *Candida albicans* strains by inhibition of yeast secreted aspartic proteases. *J. Invest. Dermatol.*, 1999, **113**, 747-751.
- BRAMONO K., TSUBOI R., MURAI M., MIYAKAWA Y., FUKAZAWA Y., OGAWA H. Scanning electron microscope observation of adherence of *Candida albicans* to cultured keratinocytes. *J. Med. Vet. Mycol.*, 1994, **32**, 473-476.
- BRASSART D., WOLTZ A., GOLLIARD M., NEESER J.R. *In vitro* inhibition of adhesion of *Candida albicans* clinical isolates to human buccal epithelial cells by Fuc alpha 1 2 Gal beta-bearing complex carbohydrates. *Infect. Immun.*, 1991, **59**, 1605-1613.
- BROMURO C., TOROSANTUCCI A., GOMEZ M.J., URBANI F., CASSONE A. Differential release of an immunodominant 65 kDa

- mannoprotein antigen from yeast and mycelial forms of *Candida albicans*. *J. Med. Vet. Mycol.*, 1994, **32**, 447-459.
- BROUTA F., DESCAMPS F., FETT T., LOSSON B., GERDAY C., MIGNON B. Purification and characterization of a 43.5 kDa keratinolytic metalloprotease from *Microsporium canis*. *Med. Mycol.*, 2001, **39**, 269-275.
- CALDERONE R.A., CIHLAR R.L., LEE D.D., HOBERG K., SCHELD W.M. Yeast adhesion in the pathogenesis of endocarditis due to *Candida albicans*: studies with adherence-negative mutants. *J. Infect. Dis.*, 1985, **152**, 710-715.
- CORMACK B.P., GHORI N., FALKOW S. An adhesin of the yeast pathogen *Candida glabrata* mediating adherence to human epithelial cells. *Science*, 1999, **285**, 578-582.
- CRITCHLEY I.A., DOUGLAS L.J. Roles of glycosides as epithelial cell receptors for *Candida albicans*. *J. Gen. Microbiol.*, 1987, **133**, 637-643.
- DE BERNARDIS F., LIU H., O'MAHONY R., LA VALLE R., BARTOLLINO S., SANDINI S., GRANT S., BREWIS N., TOMLINSON I., BASSET R.C., HOLTON J., ROITT I.M., CASSONE A. Human domain antibodies against virulence traits of *Candida albicans* inhibit fungus adherence to vaginal epithelium and protect against experimental vaginal candidiasis. *J. Infect. Dis.*, 2007, **195**, 149-157.
- DE LAS PENAS A., PAN S.J., CASTANO I., ALDER J., CREGG R., CORMACK B.P. Virulence-related surface glycoproteins in the yeast pathogen *Candida glabrata* are encoded in subtelomeric clusters and subject to RAPI- and SIR-dependent transcriptional silencing. *Genes Dev.*, 2003, **17**, 2245-2258.
- DESCAMPS F., BROUTA F., VERMOUT S., MONOD M., LOSSON B., MIGNON B. Recombinant expression and antigenic properties of a 31.5-kDa keratinolytic subtilisin-like serine protease from *Microsporium canis*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2003, **38**, 29-34.
- DOUGLAS L.J. *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol.*, 2003, **11**, 30-36.
- DUEK L., KAUFMAN G., ULMAN Y., BERDICEVSKY I. The pathogenesis of dermatophyte infections in human skin sections. *J. Infect.*, 2004, **48**, 175-180.
- ESQUENAZI D., DE SOUZA W., ALVIANO C.S., ROZENTAL S. The role of surface carbohydrates on the interaction of microconidia of *Trichophyton mentagrophytes* with epithelial cells. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2003, **35**, 113-123.
- ESQUENAZI D., ALVIANO C.S., DE SOUZA W., ROZENTAL S. The influence of surface carbohydrates during *in vitro* infection of mammalian cells by the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. *Res. Microbiol.*, 2004, **155**, 144-153.
- FAEGERMANN J., ALY R., MAIBACH H.I. Adherence of *Pityrosporum orbiculare* to human stratum corneum cells. *Arch. Dermatol. Res.*, 1983, **275**, 246-250.
- FIDEL P.L. Jr, SOBEL J.D. Immunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1996, **9**, 335-348.
- FU Y., RIEG G., FONZI W.A., BELANGER P.H., EDWARDS J.E. Jr, FILLER S.G. Expression of the *Candida albicans* gene *ALS1* in *Saccharomyces cerevisiae* induces adherence to endothelial and epithelial cells. *Infect. Immun.*, 1998, **66**, 1783-1786.
- GALE C., FINKEL D., TAO N., MEINKE M., MCCLELLAN M., OLSON J., KENDRICK K., HOSTETTER M. Cloning and expression of a gene encoding an integrin-like protein in *Candida albicans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, **93**, 357-361.
- GALE C.A., BENDEL C.M., MCCLELLAN M., HAUSER M., BECKER J.M., BERMAN J., HOSTETTER M.K. Linkage of adhesion, filamentous growth, and virulence in *Candida albicans* to a single gene, *INT1*. *Science*, 1998, **279**, 1355-1358.
- GILMORE B.J., RETSINAS E.M., LORENZ J.S., HOSTETTER M.K. An iC3b receptor on *Candida albicans*: structure, function, and correlates for pathogenicity. *J. Infect. Dis.*, 1988, **157**, 38-46.
- GUSTAFSON K.S., VERCELLOTTI G.M., BENDEL C.M., HOSTETTER M.K. Molecular mimicry in *Candida albicans*. Role of an integrin analogue in adhesion of the yeast to human endothelium. *J. Clin. Invest.*, 1991, **87**, 1896-1902.
- HAY R.J. Fungal infections. In: Jacobs P.H., Nall L. (Eds), *Fungal disease: biology, immunology and diagnosis*. Dekker: New-York, 1997, 209-218.
- HAZEN K.C. Participation of yeast cell surface hydrophobicity in adherence of *Candida albicans* to human epithelial cells. *Infect. Immun.*, 1989, **57**, 1894-1900.
- HEIDENREICH F., DIERICH M.P. *Candida albicans* and *Candida stellatoidea*, in contrast to other *Candida* species, bind iC3b and C3d but not C3b. *Infect. Immun.*, 1985, **50**, 598-600.
- HOBERG K.A., CIHLAR R.L., CALDERONE R.A. Characterization of cerulenin-resistant mutants of *Candida albicans*. *Infect. Immun.*, 1986, **51**, 102-109.
- HOYER L.L. The *ALS* gene family of *Candida albicans*. *Trends Microbiol.*, 2001, **9**, 176-180.
- HOSTETTER M.K., LORENZ J.S., PREUS L., KENDRICK K.E. The iC3b receptor on *Candida albicans*: subcellular localization and modulation of receptor expression by glucose. *J. Infect. Dis.*, 1990, **161**, 761-768.
- HUBE B., NAGLIK J. *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. *Microbiology*, 2001, **147**, 1997-2005.
- JOUSSON O., LECHENNE B., BONTEMS O., CAPOCCIA S., MIGNON B., BARBLAN J., QUANDRONI M., MONOD M. Multiplication of an ancestral gene encoding secreted fungalysin preceded species differentiation in the dermatophytes *Trichophyton* and *Microsporium*. *Microbiology*, 2004a, **150**, 301-310.
- JOUSSON O., LECHENNE B., BONTEMS O., MIGNON B., REICHARD U., BARBLAN J.,

- QUADRONI M., MONOD M. Secreted subtilisin gene family in *Trichophyton rubrum*. *Gene*, 2004b, **339**, 79-88.
- KAUFMAN G., HORWITZ B.A., DUEK L., ULLMAN Y., BERDICEVSKY I. Infection stages of the dermatophyte pathogen *Trichophyton*: microscopic characterization and proteolytic enzymes. *Med. Mycol.*, 2007, **45**, 149-155.
- KENNEDY M.J., CALDERONE R.A., CUTLER J.E., KANABE T., RIESSELMAN M.H., ROBERT R., SENET J.M., ANNAIX V., BOUALI A., MAHAZA C. Molecular basis of *Candida albicans* adhesion. *J. Med. Vet. Mycol.*, 1992, **30**, 95-122.
- KOJIC E.M., DAROUICHE R.O. *Candida* infections of medical devices. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2004, **17**, 255-267.
- LEE K.K., YU L., MACDONALD D.L., PARANCHYCH W., HODGES R.S., IRVIN R.T. Anti-adhesin antibodies that recognize a receptor-binding motif (adhesin-tope) inhibit pilus/fimbrial-mediated adherence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* to asialo-GM<sub>1</sub> receptors and human buccal epithelial cell surface receptors. *Can. J. Microbiol.*, 1996, **42**, 479-486.
- LEHRER N., SEGAL E., CIHLAR R.L., CALDERONE R.A. Pathogenesis of vaginal candidiasis: studies with a mutant which has reduced ability to adhere *in vitro*. *J. Med. Vet. Mycol.*, 1986, **24**, 127-131.
- LIM K.C., SUN E., BAHGAT M., BUCKS D., GUY R., HINZ R.S., CULLANDER C., MCKERROW J.H. Blockage of skin invasion by *Schistosoma cercariae* by serine protease inhibitors. *Am. J. Trop. Hyg.*, 1999, **60**, 487-492.
- MANN B., ORIHUELA C., ANTIKAINEN J., GAO G., SUBLETT J., KORHONEN T.K., TUOMANEN E. Multifunctional role of choline binding protein G in pneumococcal pathogenesis. *Infect. Immun.*, 2006, **74**, 821-829.
- MEEVOOTISOM V., NIEDERPRUEM D.J. Control of exocellular proteases in dermatophytes and especially *Trichophyton rubrum*. *Sabouraudia*, 1979, **17**, 91-106.
- MIGNON B., SWINNEN M., BOUCHARA J.P., HOFINGER M., NIKKELS A., PIERARD G., GERDAY C., LOSSON B. Purification and characterization of a 31.5 kDa keratinolytic subtilisin-like serine protease from *Microsporum canis* and evidence of its secretion in naturally infected cats. *Med. Mycol.*, 1998, **36**, 395-404.
- MIYAKAWA Y., KURIBAYASHI T., KAGAYA K., SUZUKI M., NAKASE T., FUKAZAWA Y. Role of specific determinants in mannan of *Candida albicans* serotype A in adherence to human buccal epithelial cells. *Infect. Immun.*, 1992, **60**, 2493-2499.
- NAGLIK J.R., CHALLACOMBE S.J., HUBE B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2003, **67**, 400-428.
- NISINI R., ROMAGNOLI G., GOMEZ M.J., LA VALLE R., TOROSANTUCCI A., MARIOTTI S., TELONI R., CASSONE A. Antigenic properties and processing requirements of 65-kilodalton mannoprotein, a major antigen target of anti-*Candida* human T-cell response, as disclosed by specific human T-cell clones. *Infect. Immun.*, 2001, **69**, 3728-3736.
- OLLERT M.W., WADSWORTH E., CALDERONE R.A. Reduced expression of the functionally active complement receptor for iC3b but not for C3d on an avirulent mutant of *Candida albicans*. *Infect. Immun.*, 1990, **58**, 909-913.
- OLLERT M.W., SOHNCHEN R., KORTING H.C., OLLERT U., BRAUTIGAM S., BRAUTIGAM W. Mechanisms of adherence of *Candida albicans* to cultured human epidermal keratinocytes. *Infect. Immun.*, 1993, **61**, 4560-4568.
- RASHID A., EDWARD M., RICHARDSON M.D. Activity of terbinafine on *Trichophyton mentagrophytes* in a human living skin equivalent model. *J. Med. Vet. Mycol.*, 1995, **33**, 229-233.
- SANDINI S., LA VALLE R., DE BERNARDIS F., MACRI C., CASSONE A. The 65 kDa manno-protein gene of *Candida albicans* encodes a putative beta-glucanase adhesion required for hyphal morphogenesis and experimental pathogenicity. *Cell. Microbiol.*, 2007, **9**, 1223-1238.
- SCHALLER M., KORTING H.C., SCHAFER W., BASTERT J., CHEN W., HUBE B. Secreted aspartic proteinase (Sap) activity contributes to tissue damage in a model of human oral candidosis. *Mol. Microbiol.*, 1999, **34**, 169-180.
- STAAB J.F., BRADWAY S.D., FIDEL P.L., SUNDSTROM P. Adhesive and mammalian transglutaminase substrate properties of *Candida albicans* Hwp1. *Science*, 1999, **283**, 1535-1538.
- SUNDSTROM P. Adhesion in *Candida* spp. *Cell. Microbiol.*, 2002, **8**, 461-469.
- TABART J., BALDO A., VERMOUT S., NUSGENS B., LAPIERE C., LOSSON B., MIGNON B. Reconstructed interfollicular feline epidermis as a model for *Microsporum canis* dermatophytosis. *J. Med. Microbiol.*, 2007, **56**, 971-975.
- TOSH F.D., DOUGLAS L.J. Characterization of a fucose-binding adhesion of *Candida albicans*. *Infect. Immun.*, 1992, **60**, 4734-4739.
- TSUBOI R., KO I., TAKAMORI K., OGAWA H. Isolation of a keratinolytic proteinase from *Trichophyton mentagrophytes* with enzymatic activity at acidic pH. *Infect. Immun.*, 1989, **57**, 3479-3483.
- VERMOUT S., TABART J., BALDO A., MONOD M., LOSSON B., MIGNON B. RNA silencing in the dermatophyte *Microsporum canis*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2007, 1-8.
- WATTS H.J., CHEAH F.S., HUBE B., SANGLARD D., GOW N.A. Altered adherence in strains of *Candida albicans* harbouring null mutations in secreted aspartic proteinase genes. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1998, **159**, 129-135.
- YU L., LEE K.K., ENS K., DOIG P.C., CARPENTER M.R., STADDON W., HODGES R.S.,

- PARANCHYCH W., IRVIN R.T. Partial characterization of a *Candida albicans* fimbrial adhesin. *Infect. Immun.*, 1994a, **62**, 2834-2842.
- YU L., LEE K.K., SHETH H.B., LANE-BELL P., SRIVASTAVA G., HINDSGAUL O., PARANCHYCH W., HODGES R.S., IRVIN R.T. Fimbria-mediated adherence of *Candida albicans* to glycosphingolipid receptors on human buccal epithelial cells. *Infect. Immun.*, 1994b, **62**, 2843-2848.
- YU L., LEE K.K., PARANCHYCH W., HODGES R.S., IRVIN R.T. Use of synthetic peptides to confirm that the *Pseudomonas aeruginosa* PAK pilus adhesin and the *Candida albicans* fimbrial adhesin possess a homologous receptor-binding domain. *Mol. Microbiol.*, 1996, **19**, 1107-1116.
- YU R.J., HARMON S.R., BLANK F. Isolation and purification of an extracellular keratinase of *Trichophyton mentagrophytes*. *J. Bacteriol.*, 1968, **96**, 1435-1436.
- ZHAO X., OH S.H., CHENG G., GREEN C.B., NUESSEN J.A., YEATER K., LENG R.P., BROWN A.J.P., HOYER L.L. *ALS3* and *ALS8* represent a single locus that encodes a *Candida albicans* adhesin; functional comparisons between Als3p and Als1p. *Microbiology*, 2004, **150**, 2415-2428.
- ZHAO X., OH S.H., YEATER K.M., HOYER L.L. Analysis of the *Candida albicans* Als2p and Als4p adhesins suggests the potential for compensatory function within the Als family. *Microbiology*, 2005, **5**, 1619-1630.
- ZHAO X., OH S.H., HOYER L.L. Deletion of *ALS5*, *ALS6* or *ALS7* increases adhesion of *Candida albicans* to human vascular endothelial and buccal epithelial cells. *Med. Mycol.*, 2007, **45**, 429-434.
- ZURITA J., HAY R.J. Adherence of dermatophyte microconidia and arthroconidia to human keratinocytes *in vitro*. *J. Invest. Dermatol.*, 1987, **89**, 529-534.