



HAL
open science

Les médiateurs de l'immunité anti-candida : outils d'analyse physiopathologique et intérêt diagnostique

Sébastien Damiens

► To cite this version:

Sébastien Damiens. Les médiateurs de l'immunité anti-candida : outils d'analyse physiopathologique et intérêt diagnostique. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2012. Français. NNT : 2012LIL2S028 . tel-01060934

HAL Id: tel-01060934

<https://theses.hal.science/tel-01060934>

Submitted on 4 Sep 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Université de Lille 2 – Droit et Santé
Ecole doctorale Biologie – Santé de Lille**

**THESE DE DOCTORAT
Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE 2**

Discipline : recherche clinique, innovation technologique, santé publique
Spécialité : Parasitologie-Mycologie

Présentée et soutenue publiquement le 12 décembre 2012
par Sébastien Damiens

**Les médiateurs de l'immunité anti-*Candida* : outils
d'analyse physiopathologique et intérêt diagnostique**

MEMBRES DU JURY

Président de jury :	Pr Daniel Poulain
Rapporteurs :	Pr Raymond Robert Pr Oscar Marchetti
Examineurs :	Dr Marc Tabouret Dr Jagadeesh Bayry
Directeur de thèse :	Pr Boualem Sendid

A ma femme

A ma fille Lyra

Remerciements

Je tenais à remercier l'ensemble des membres du jury, le Pr Raymond Robert, le Pr Oscar Marchetti, le Dr Marc Tabouret et le Dr Jagadeesh Bayry de me faire l'honneur de juger ce travail.

Je souhaitais également remercier le Pr Daniel Poulain pour son accueil au sein du laboratoire ainsi que pour avoir partagé toute son expérience. Soyez assuré de mon profond respect et de toute ma reconnaissance.

J'adresse mes vifs remerciements au Pr Boualem Sendid pour m'avoir fait l'honneur de me confier ces travaux ainsi que pour son encadrement, ses directives et ses précieux conseils au cours de ces trois dernières années. Je tiens également à vous témoigner mon profond respect et ma reconnaissance.

Mes remerciements au Pr Pierre Desreumaux qui m'a permis de finaliser ce travail de thèse au sein de son unité.

Merci à l'ensemble des membres de l'U995-2, Thierry Jouault, Chantal Fradin, Bernadette Leu, Samir Jawhara, Annick Masset, Anne-Marie Clabaut, Audrey Devillers, Flavie Courjol, Julien Poissy et Romain Gérard pour leur accueil, leur aide et leur soutien.

Je remercie les membres du Service de Parasitologie/Mycologie du Centre de Biologie et Pathologie de Lille, Nadine François, Laurence Dumortier, Dorothée monvillers et Nawal el Messaoudi pour leur disponibilité, leur aide et leurs conseils.

Merci aux membres de la plateforme d'interaction moléculaire Pierre-Marie Danze et Anne-Sophie Drucbert ainsi qu'au service R&D CMD de Bio-Rad pour ces longues années de collaboration riches en apprentissage.

Merci à mes proches pour leur soutien, leur réconfort et leur présence de tous les instants.

Valorisation scientifique

Ce travail a donné lieu aux publications suivantes:

- **Damiens S**, Poissy J, François N, Salleron J, Jawhara S, Jouault T, Poulain D et Sendid B. Mannose-Binding Lectin Levels and Variation During Invasive Candidiasis. *Journal of Clinical Immunology*. 2012 July 17. [Epub ahead of print]

Contribution ponctuelle à d'autres travaux:

- Sendid B, Ducoroy P, François N, Lucchi G, Spinali S, Vagner O, **Damiens S**, Bonnin A, Poulain D et Dalle F. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of medically-important yeasts in the clinical laboratories of Dijon and Lille hospitals. 2012 Jun 18. *Medical Mycology*. [Epub ahead of print]

Un dépôt de brevet Européen a également été effectué au cours de cette thèse:

- **Damiens S**, Fradin C, Poulain D, Sendid B et Tabouret M. Method for Diagnosing Invasive *Candida* Infection. 2012 June 29. European patent N°12305778.8-2404

Deux articles finalisés seront soumis prochainement:

- **Damiens S**, Danze PM, Drucbert AS, Jouault T, Poulain D et Sendid B. Characterization of *Candida* Species Recognition by the Mannose-Binding Lectin with Surface Plasmon Resonance Technology. Soumis.

- **Damiens S**, Fradin C, Tabouret M, Salvetat N, François N, Poulain D et Sendid S. Antibody Responses against *Candida albicans* Recombinant Proteins and Mannan Antigenemia as Sensitive and Specific Markers for Invasive *Candida* Infections.

Communications scientifiques

- **Damiens S**, Fradin C, Joly P, Tabouret M, Poulain D et Sendid B. Recombinant Antigens Production in Yeast and Interests of Deglycosylation. BioRad Innovation day. Rueil Malmaison (Paris), 2010 September 22.
- Ishibashi K, **Damiens S**, Poissy J, François N, Sendid B, Ohno N et Poulain D. Anti- β -glucan antibody isotypes in control population and in patients with *Candida* infection and Crohn's disease. The second international fungal cell wall meeting. Giens, France, 2011 October 7-10.
- **Damiens S**, Poissy J, François N, Poulain D et Sendid B. Polymorphismes du gène MBL-2. Impacts sur la colonisation par *Candida* spp. et sur la réponse immunitaire anti-*Candida*. Congrès de la Société Française de Mycologie Médicale, Institut Pasteur de Paris, 18 et 19 novembre 2011.
- **Damiens S**, Poissy J, Drucbert AS, Danze PM, François N, Jouault T, Poulain D et Sendid B. Mannose-Binding Lectin polymorphisms. Impacts on the colonization by *Candida* spp. and on the adaptive response to the host glycans. European Society of Clinical Microbiology and infectious disease (ESCMID), London, 31 march – 4 april 2012.
- Poissy J, Sendid B, François N, Favory R, **Damiens S**, Mathieu D et Poulain D. Evaluation des performances diagnostiques du dosage des β -D-1,3-Glucanes au cours des candidémies chez les malades de Réanimation. Congrès de la Société Française de Mycologie Médicale et de la Société Française de Parasitologie, Rennes, 9-11 mai 2012.
- **Damiens S**. Rôle de la MBL dans l'immunité anti-*Candida*. Aspects quantitatif et fonctionnel. Séminaire d'unité, Lille, 28 septembre 2012.
- **Damiens S**, Fradin C, Berkein E, Tabouret M, Dupas E, Salvetat N, Poulain D and Sendid B. Recombinant antigens used as invasive candidiasis diagnosis biomarkers. BioRad Innovation day. Marne la coquette, 2012 september 26.

Abréviations

- ADN:** Acide désoxyribonucléique
- ALS:** Agglutinin like sequences
- AMn:** anticorps anti-mannane
- APR:** anticorps anti-protéine recombinante
- ARNm:** Acide ribonucléique messenger
- BD:** β -glucanes
- BMT:** β -mannosyltransferases
- BSTO:** Biotin sulfone targetted oligomannosides
- CD:** Cellules dendritiques
- CI:** Candidoses invasives
- COLEC2:** Collectin subfamily member 2
- COPII:** Complexe protéique II
- CPA:** Cellules présentatrices d'antigènes
- CRD:** Carbohydrate recognition domain
- CRP:** Protéine C réactive
- CTLD:** Domaine lectinique de type C
- DC-SIGN:** Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin
- EDTA:** Acide éthylène diamine tétraacétique
- ERK:** Extracellular-regulated kinase
- GlcNAc:** *N*-acétyl-D-glucosamine
- GPI:** Glycosylphosphatidylinositol
- HSP:** Heat shock protein
- ICC:** Index de colonisation corrigé
- Ig:** Immunoglobuline
- IL:** Interleukine
- IRM:** Imagerie par résonance magnétique
- ITS:** Internal transcribed spacer
- KO:** Knockout
- LPS:** Lipopolysaccharides
- LTA:** Acide lipotéicoïque

MALDI-TOF: Matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight

MASPs: MBL-associated serine proteases

MBL: Mannose-binding lectin

MIPC: Mannose-inositol-phosphorylcéramides

Mn: Mannanemie

MP: Mannoprotéine

MR: Mannose récepteur

NETs: Netrophil extracellular traps

NF-κB: Nuclear factor κB

NK: Natural killer

NLRs: Nod-like receptors

PAMPs: Pathogen associated molecular patterns

PCB: Pomme de terre, carotte, bile

PCR: Polymerase chain reaction

PIR: Proteins with internal repeats

PL: Phospholipases

PLM: Phospholipomannanes

PNN: Polynucléaire neutrophiles

PPM: Phosphopeptidomannane

PRRs: Pattern recognition receptors

PTX3: Pentraxine 3

QSMs: Quorum sensing molecules

RAT: Rice, agar, tween

RU: Resonance unit

SAP: Secreted aspartyl proteinases

SIDA: Syndrome de l'immunodéficience acquise

SP: Surfactant protein

SPR: Surface plasmon resonance

TLR: Toll-like receptors

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine

Mediators of anti-*Candida* immunity: tools for pathophysiological analysis and diagnostic interest.

Candida albicans, an endosaprophyte of the digestive tract, is responsible for superficial and invasive infections. Invasive candidiasis (IC) is a persistent public health problem with an attributable mortality of 40% in intensive care units and an exponential morbidity related to antifungal drug consumption and the extended hospital stay of patients. This medico-economic impact is predominantly related to difficulties in IC diagnosis. Indeed, neither clinical symptoms nor imaging are specific for IC. Biological diagnosis remains complex and is often late. Conventional tests (blood culture) have low sensitivity, and non-culture based methods often lack sensitivity or specificity. In this context, it is necessary to develop new diagnostic strategies in order to improve the early diagnosis, to identify patients at high risk of infection, and to allow the implementation of appropriate antifungal therapy.

Our work has focused on two circulating mediators of anti-*Candida* immunity: mannose-binding lectin (MBL) and anti-protein antibodies (Ab) in relation to IC diagnosis.

Regarding the detection of antibodies, we produced six recombinant proteins (Hwp1, Eno1, Hsp90, FBA1, Mp65, and Sod5) that are over-expressed during the pathogenic phase of *C. albicans*, and developed five prototypes of EIA. The association of these biomarkers with the detection of circulating mannan (Mn) identified three proteins with high diagnostic potential. For a specificity fixed arbitrarily at 80%, the sensitivity of combinations of Fba1-Ab/Mn, Hwp1-Ab/Mn, and Hsp90-Ab/Mn were 84%, 84%, and 81%, respectively. The average delay to positivity was 5 days before the isolation of *Candida* from blood culture. The Odds ratios associated with these three combinations of markers were 108, 65, and 77 for Fba1-Ab/Mn, Hwp1-Ab/Mn, and Hsp90-Ab/Mn, respectively.

Our findings for serum MBL showed: (i) a dynamic evolution of MBL levels during IC; (ii) a direct interaction with circulating cell wall mannan; and (iii) susceptibility to colonization in MBL-deficient patients. As well as quantitative aspects, we have developed a model for assessing MBL functionality by surface plasmon resonance involving whole cells, fungal cell wall glycans from *C. albicans*, or synthetic oligomannosides. This model allowed us to characterize the epitopes recognized by MBL and to demonstrate the interaction of this lectin with a panel of *Candida* species commonly isolated from human infections. These mediators of innate or humoral immunity open up new clinical perspectives in terms of the diagnosis or prognosis of IC. They may also help to improve our understanding of the pathophysiology of IC and to optimize patient management.

Table des matières

Première partie : Revue bibliographique	13
1 - Le genre <i>Candida</i>	14
Caractères généraux des levures	15
Ultrastructure	15
La paroi.....	16
Les β -glucanes	17
Les β -1,3 glucanes.....	17
Les β -1,6 glucanes.....	18
Le Mannane	19
La chitine	19
Chitine synthétases.....	20
Les protéines pariétales	21
Les protéines à ancre GPI.....	21
Les protéines Pir	22
Les autres protéines pariétales	22
Les lipides	23
Transition colonisation/infection.....	24
Colonisation/adhésion	26
Invasion tissulaire.....	26
Dissémination hématogène	27
Extravasation, pérennisation tissulaire	27
Les facteurs de virulences	27
L'adhérence.....	28
Enzymes lytiques sécrétées	28
Dimorphisme	29
Le biofilm	30
Le quorum sensing.....	31
2 – Candidoses, formes cliniques et stratégies diagnostiques	33
Généralités	34
Aspects cliniques.....	34
Les candidoses superficielles.....	34
Les candidoses profondes.....	35
Facteurs prédisposant à l'infection candidosique.....	36

Diagnostic des candidoses	37
L'imagerie.....	37
Méthodes mycologiques.....	38
L'hémoculture.....	38
Les prélèvements profonds	39
Cas particulier de l'index de colonisation corrigé (ICC).....	41
La sérologie fongique	42
Les tests de détection de la mannanémie (Mn) et des anticorps anti-mannane (AMn).....	43
Les β -1,3-D-Glucanes.....	45
3 – L'immunité anti-<i>Candida</i>	47
L'immunité innée.....	48
Les barrières externes.....	49
Les cellules phagocytaires	50
Les neutrophiles.....	50
Les cellules dendritiques	51
Les macrophages.....	52
La phagocytose	53
Les récepteurs lectiniques.....	54
Les TLRs.....	54
La dectine 1.....	55
Le Mannose Recepteur	56
DC-SIGN	57
Les scavengers recepteurs	57
Les protéines Nod	58
La galectine 3.....	58
Les lectines solubles	60
Les surfactants A et D.....	60
La pentraxine 3	61
Les ficolines	62
La MBL.....	62
Synthèse, régulation et polymorphisme	63
Structure, multimérisation et liaison aux carbohydrates	65
Reconnaissance et liaison par la MBL	66
MBL et soi modifié	67
MBL et activation du complément.....	67
MBL et défense cellulaire.....	69

MBL et modèles animaux	70
L'immunité spécifique	70
L'immunité à médiation cellulaire anti-Candida	70
L'immunité à médiation humorale anti-Candida	71
Deuxième partie : contribution personnelle	73
Article 1 :	75
Article 2 :	76
Article 3 :	116
Préambule	117
Principe de la SPR	117
Exemple de réponse SPR	118
Test fonctionnel de la MBL	119
Résultats complémentaires	139
Discussion	142
Bibliographie	148

*La première partie de ce mémoire est consacrée à une revue bibliographique des différents éléments relatifs à notre travail. Les premier et deuxième chapitres sont consacrés à l'agent pathogène *Candida albicans* et soulignent les problèmes de santé posés par ce champignon chez les patients immunodéprimés. Dans un troisième chapitre, nous décrivons les mécanismes immunologiques mis en œuvre par l'hôte pour limiter le caractère invasif de l'infection, en mettant l'accent sur l'équilibre fragile existant entre le système immunitaire et les facteurs de virulence du champignon. Ce chapitre fait apparaître le rôle majeur de l'immunité innée dans la clearance fongique par l'intermédiaire de médiateurs clés dont la Mannose-binding lectin représente un des acteurs principaux. Au sein de ce dernier chapitre, une grande partie est consacrée aux rôles de cette lectine dans l'immunité anti-infectieuse, des voies de signalisation initiées par cette dernière ainsi que de ses partenaires.*

Dans une deuxième partie, nous présenterons les résultats des travaux de recherche sous forme d'articles publiés ou en cours de soumission.

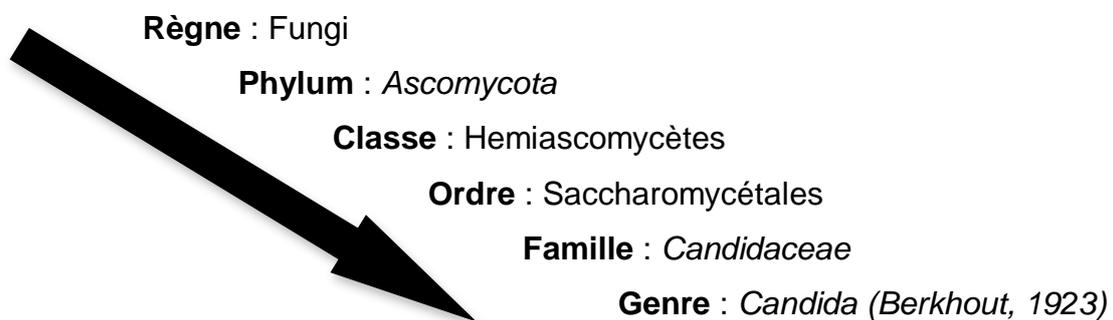
Enfin, dans la dernière partie, nous discuterons nos résultats et nous aborderons les perspectives ouvertes par nos travaux.

Première partie : Revue bibliographique

1 - Le genre *Candida*

Caractères généraux des levures

Les *Candida* sont des champignons levuriformes polymorphes se reproduisant par bourgeonnement. C'est une levure non capsulée, non pigmentée et aérobie, diploïde pouvant mesurer de 3 à 15 µm. Elles sont fréquemment retrouvées dans les muqueuses et sur la peau, c'est pourquoi elles sont décrites comme des microorganismes commensaux. Il s'agit d'une levure cosmopolite opportuniste eucaryote dont la phylogénie est la suivante:



L'espèce la plus représentative de ce genre est *Candida albicans* fréquemment retrouvée chez l'homme et parfaitement tolérée au niveau de la cavité buccale, sur la peau, dans le système digestif, au niveau du tractus ano-rectal et dans la flore vaginale (Pittet, *et al.*, 1994).

Ces données sont toutefois à considérer avec précaution dans la mesure où les techniques de prélèvement ne sont pas toujours identiques et les sites de prélèvement ne présentent pas toujours un environnement homogène.

Ultrastructure

Candida albicans possède tous les organites intracellulaires caractéristiques des eucaryotes :

- un noyau, délimité par une double membrane nucléaire, et renfermant huit chromosomes (R, le plus grand et 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 7 selon une taille décroissante)
- un nucléole
- un réticulum endoplasmique
- un appareil de Golgi

La seule structure différenciant la levure d'une cellule eucaryote « classique » est la présence d'un système vaculo-vésiculaire, évoluant en relation avec le cycle cellulaire et la division, et impliqué en majeure partie dans la synthèse de la paroi.

La paroi

Initialement, la paroi de *C. albicans* était considérée comme une structure inerte, assurant la protection et la rigidité du protoplaste vis-à-vis des pressions osmotiques et oncotiques mais également des contraintes environnementales comme la température, le pH ou les substances chimiques. Désormais, il est établi que la paroi est un composant essentiel dans la biogénèse et la pathogénie de *C. albicans* (Ruiz-Herrera, *et al.*, 2006). Il s'agit d'un édifice complexe avec une structure stratifiée et dynamique responsable de l'intégrité cellulaire (Latge, 2007, Smits, *et al.*, 1999) (Figure 1). Elle constitue le point d'interaction avec l'environnement et est la cible privilégiée des moyens de défense de l'hôte. Elle conditionne également l'adhérence et est principalement responsable de la reconnaissance par l'immunité innée et adaptative (Netea, *et al.*, 2008, Netea, *et al.*, 2006). Ce réseau tridimensionnel dynamique est composé de 80 à 90% par des carbohydrates (Lopez-Ribot, *et al.*, 2004) et minoritairement par des protéines et des lipides (Klis, *et al.*, 2001, Latge, 2007).

Elle est composée de 4 à 8 couches (Klis, *et al.*, 2001) :

La couche la plus externe de la paroi, est composée de mannoprotéines (MPs) enzymatiques et structurales, du phosphopeptidomannane (PPM appelé aussi mannane) (De Groot, *et al.*, 2005).

La couche la plus interne, adjacente à la membrane plasmique, est composée de mannoprotéines structurales et enzymatiques.

Les couches intermédiaires, sont constituées de β -glucanes et de chitine qui créent un réseau dense assurant l'intégrité de la cellule et sa résistance aux agressions physiques (De Groot, *et al.*, 2005). La paroi est également dotée de protéines ancrées GPI (GlycosylPhosphatidylinositol) et de protéines PIR (Proteins with Internal Repeats) (Kapteyn, *et al.*, 1999, Kapteyn, *et al.*, 1999). La proportion des différents composants de la paroi varie en fonction du cycle cellulaire (Latge, 2007).

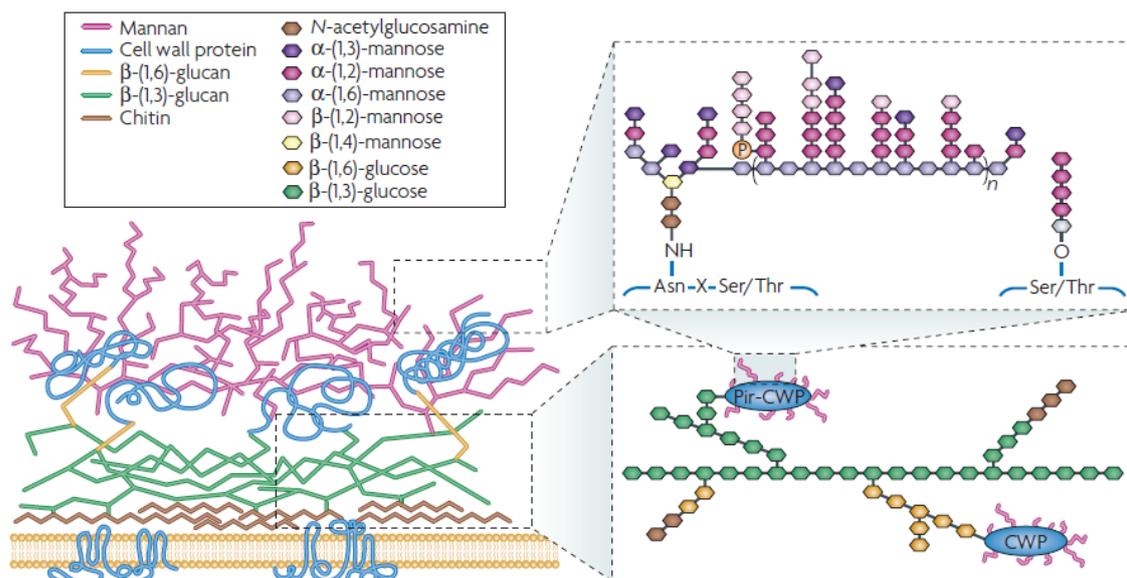


Figure 1. Organisation moléculaire de la paroi de *C. albicans* (Netea, *et al.*, 2008)

Les β -glucanes

Ce sont les constituants majeurs du squelette microfibrillaire pariétal responsables de sa résistance mécanique et chimique. Ils sont impliqués également dans les connexions cellule-cellule. Ces polymères sont constitués de longues chaînes (degré de polymérisation : 30 ± 2) de résidus glucose liés en β -1,3 dont certaines ont des ramifications latérales de résidus glucose liés en β -1,6 (Masuoka, 2004, Ruiz-Herrera, *et al.*, 2006). Ces β -glucanes (BD) représentent d'un point de vue quantitatif 47 à 60% du poids sec de la paroi et en sont donc les constituants majeurs. Ils forment un squelette rigide, grâce à l'existence de liaisons glycosidiques avec la chitine (Surarit, *et al.*, 1988), et confèrent de fortes propriétés physiques à la cellule.

Les β -1,3 glucanes

Les chaînes de β -1,3 glucanes peuvent être ramifiées et contenir quelques résidus glucose liés en β -1,6. Le degré de polymérisation et de ramification des unités glucose dépendent des conditions environnementales influençant la morphologie des levures. La synthèse des β -1,3 glucanes nécessite des enzymes

ancrées dans la membrane plasmique. Ces enzymes sont des hétérodimères composées d'une sous-unité catalytique Gsc1p (CaFks1p) (Mio, *et al.*, 1996) et d'une sous unité régulatrice à activité GTPase, Rho1p (Kondoh, *et al.*, 1997). La β -1,3 glucane synthétase effectue une réaction de transglycosylation des résidus glucose à partir du substrat UDP-glucose. Comme les chaînes de β -1,3-glucanes sont synthétisées linéairement, la présence de branches dans les molécules matures implique l'existence d'enzymes intervenant dans la maturation des β -1,3-glucanes (Iorio, *et al.*, 2008). Ainsi, Phr1p, Phr2p joueraient un rôle dans l'élongation et le réarrangement des chaînes β -1,3 (Mouyna, *et al.*, 2000). Bgl2p aurait une activité β -1,3 glucosyltransférase responsable de l'intégration des chaînes β -1,6- glucanes (Sarthy, *et al.*, 1997), Exg1p (Xog1) est une β -1,3-exoglucanase, possédant des activités d'hydrolase et de transférase impliquées dans le métabolisme des glucanes (Stubbs, *et al.*, 1999).

Les β -1,6 glucanes

Les β -1,6 glucanes sont des structures hautement ramifiées, associées de façon covalente avec la plupart des autres constituants de la paroi (β -1,3 glucanes, chitine, protéines à ancre GPI). Chez *C. albicans*, les quantités de β -1,6 glucanes sont deux fois plus importantes que chez *S. cerevisiae*. La synthèse des β -1,6 glucanes est complexe et la plupart des connaissances actuelles sont issues des études menées chez *S. cerevisiae*. Les études génétiques ont permis d'identifier environ 10 gènes impliqués dans la biosynthèse des β -1,6 glucanes : *KRE1*, *KRE5*, *KRE6*, *KRE9*, *KRE11*, *CNE1*, *CWH41/GLS1*, *KNH1*, *ROT2/GLS2* et *SKN1*. Les produits de ces gènes ont été localisés le long de la voie de sécrétion et à la surface cellulaire, suggérant que les glucanes sont assemblés tout au long de la voie de sécrétion et que la formation des polymères est complétée à l'extérieur de la cellule.

Des études d'homologies ont d'ailleurs permis de retrouver dans le génome de *C. albicans* des homologues de *KRE1* (Boone, *et al.*, 1991), *KRE5* (Herrero, *et al.*, 2004), *KRE6* (Mio, *et al.*, 1997), *KRE9* (Lussier, *et al.*, 1998), *CNE1* (Shahinian, *et al.*, 1998), *CWH41/GLS1* (Jiang, *et al.*, 1996), *ROT2/GLS2* et *SKN1* (Mio, *et al.*, 1997).

Le Mannane

C'est un polymère de mannose associé à des protéines par des liaisons covalentes (glycomanno-protéines). Ce sont, avec les BD, les constituants majeurs de la paroi, puisqu'ils représentent environ 40% des polysaccharides et sont les principaux participants à la formation de la matrice de la paroi (Calderone and Braun, 1991, Shepherd, 1987). Le terme « mannane » fait aussi référence au principal composant soluble et immunogène présent dans la couche externe de la paroi, appelé phosphomannoprotéine ou encore phosphopeptidomannane. Cette fraction de la paroi comprend principalement des homopolymères de D-mannose, 3 à 4% de protéines, et 1 à 2% de phosphates. Les polymères de mannose sont liés à la protéine par un résidu asparagine, thréonine ou sérine. Les mannanes sont des édifices complexes de masse moléculaire élevée, constitués de résidus mannose liés en α -1,6, α -1,2, α -1,3 (Poulain, *et al.*, 1997). Les mannanes comprennent également des motifs oligomannosidiques tels que le β -1,2-mannane, qui permet de différencier les sérotypes A et B de *C. albicans* (Ruiz-Herrera, *et al.*, 2006).

La chitine

La couche la plus profonde de la paroi est composée de polymères linéaires de plus de 2000 résidus de *N*-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) unis par des liaisons β -1,4 (chitine) (Ruiz-Herrera, *et al.*, 2006). Les chaînes de GlcNAc, s'assemblent de façon anti-parallèle par des liaisons hydrogène pour former un réseau microfibrillaire qui participe à la rigidité de la paroi en formant des complexes avec les β -glucanes (Cabib, *et al.*, 2008, Shepherd, 1987). Chez les levures, elle participe au processus de bourgeonnement et notamment à la formation de l'anneau de constriction pour la séparation de la cellule mère et la cellule fille (Tronchin, *et al.*, 1981). La chitine est aussi impliquée dans la formation des septa de la forme mycélienne. Malgré son rôle majeur, c'est un constituant mineur de la paroi (0,6 à 9 %) (Molano, *et al.*, 1980).

Sa distribution est hétérogène au sein du squelette pariétal et varie au cours du cycle cellulaire ainsi qu'en fonction des conditions de milieu (Watanabe, *et al.*, 2005). La chitine est essentielle à la viabilité de la cellule (Munro and Gow, 2001, Munro, *et*

al., 2001) et à ce titre représente toujours une cible privilégiée pour le développement de nouvelles molécules antifongiques. Les levures possèdent plusieurs chitine-synthétases qui coordonnent la synthèse de la chitine dans différents sites de la paroi en fonction du cycle cellulaire (Munro and Gow, 2001). Chez *C. albicans*, la biosynthèse de la chitine est sous le contrôle de quatre chitine synthétases codées par les gènes *CHS1*, *CHS2*, *CHS3* et *CHS8* (Lenardon, *et al.*, 2007, Munro and Gow, 2001).

Chitine synthétases

- La chitine-synthétase de classe I (Chs2p et Chs8p) possède l'activité chitine synthétase impliquée dans la croissance des hyphes. Chs2p représente la majeure partie de l'activité chitine-synthétase mesurée dans des préparations enrichies en membrane cellulaire (Gow, *et al.*, 1994). Les mutants *chs2Δ* présentent une diminution significative de la quantité de chitine et une atténuation de la virulence dans un modèle expérimental de candidose systémique chez la souris (Gow, *et al.*, 1994, Munro, *et al.*, 1998). Chs8p contribue faiblement à l'activité chitine-synthétase mesurée *in vitro* (Munro, *et al.*, 2003).

- La chitine synthétase de classe II (Chs1p), codée par le gène *CHS1*, est nécessaire à la synthèse de la chitine lors de la phase initiale de formation des septa ; son activité contribue à assurer l'intégrité de la paroi. De plus, Chs1p est indispensable à la croissance de la levure (Munro, *et al.*, 2001, Walker, *et al.*, 2008).

- La chitine-synthétase de classe IV (Chs3p), produit environ 80% de la chitine pariétale des blastoconidies et des formes germinatives (Munro, *et al.*, 1998).

L'expression différentielle des chitines synthases en fonction du stade cellulaire des levures a été clairement identifiée par l'utilisation de mutants isogéniques déficients en un ou plusieurs gènes de chitine synthétases. De plus il a été démontré que l'assemblage de longues microfibrilles de chitine (au sein des septa) est sous la dépendance de *CHS8*, alors que la présence de courtes chaînes

retrouvées au sein de la paroi et dans les septa est sous la dépendance de CHS3 (Lenardon, *et al.*, 2007).

La formation des hyphes et la régulation de la plasticité de la paroi au niveau des zones de croissance du mycélium sont assurées par les chitinases. Chez *C. albicans* ces enzymes sont codées par 4 gènes différents CHT1, CHT2, CHT3, et CHT4. Les CHT2 et CHT3 sont exprimés préférentiellement dans la forme blastoconidie (Dunkler, *et al.*, 2005). Les activités de CHT1 et CHT4 restent incomplètement caractérisées. Les activités chitine-synthétases et chitinases sont régulées de manière indépendante l'une de l'autre (Selvaggini, *et al.*, 2004).

Les protéines pariétales

Elles constituent de 6 à 25 % de la paroi et certaines participent à l'unité structurale des mannoprotéines. Ces protéines peuvent être structurales, enzymatiques (dégradation de substrats, élaboration de la paroi) ou intervenir dans les interactions cellulaires (adhésines). Les protéines structurales participent au maintien du squelette cellulaire par leur association avec la chitine et les β -glucanes (Kapteyn, *et al.*, 2000).

Les protéines à ancre GPI

Les protéines à ancre GPI sont quantitativement les plus importantes chez *C. albicans* et représentent environ 90% des protéines de paroi liées de manière covalente. Elles sont liées aux β -1,3 glucanes ou à la chitine via des β -1,6 glucanes (Kapteyn, *et al.*, 1995). Les protéines à ancre GPI possèdent d'autre part des motifs structuraux caractéristiques. Une séquence consensus porteuse du site d'attachement et de sa région située en son amont a été définie à partir de plusieurs espèces de champignons. En « criblant » cette séquence dans le génome de *C. albicans*, 234 protéines à ancre GPI présumées ont été identifiées (Eisenhaber, *et al.*, 2004).

La famille des ALS (Agglutinin Like Sequences), impliquées dans l'adhérence à différents substrats en est le principal représentant. D'autres protéines interviennent dans le remodelage de la paroi (Cht2, Crh11, Pga4, Phr1 et Scw1), l'invasion

tissulaire (Sap9, Sap10p), ou encore l'adhésion aux cellules de l'hôte (Hwp1).

Les protéines Pir

Les protéines Pir sont fortement O-glycosylées. Elles sont caractérisées par la présence de séquences enrichies en glutamine et possèdent un domaine C-terminal conservé avec quatre résidus cystéine (Toh-e, *et al.*, 1993). Ces protéines sont, vraisemblablement, attachées à la paroi *via* les β -1,3 glucanes par des liaisons de type O-glycosidiques.

Certaines d'entre-elles sont aussi reliées à la paroi par des ponts disulfures. L'utilisation d'anticorps dirigés contre la protéine Pir Hsp150 de *S. cerevisiae*, a permis d'identifier des protéines Pir dans la paroi de *C. albicans* et dans le milieu de culture (Kandasamy, *et al.*, 2000). En parallèle, De groot *et al.* ont identifié la protéine de paroi Pir1 (de Groot, *et al.*, 2004).

Les autres protéines pariétales

C. albicans possède en fait de nombreuses autres protéines pariétales, dont plusieurs n'appartiennent pas à la classe des protéines à ancre GPI ni à celle des protéines Pir. Il s'agit notamment des protéines du choc thermique (Heat Shock Protein HSP) (Swoboda, *et al.*, 1995). Ces dernières sont retrouvées à la fois au niveau du cytoplasme et de la paroi. Leur synthèse contribuerait à la protection et à la réparation de la cellule en conditions de stress (changement brutal de température notamment). Deux familles HSP sont particulièrement étudiées chez *C. albicans* : Hsp90 et Hsp70 (Burnie, *et al.*, 2006). La protéine de 47 kDa, fragment de la Hsp90, a été identifiée comme un déterminant antigénique majeur lors de candidoses systémiques. Elle constitue la fraction thermostable de la Hsp90 et elle serait impliquée dans la synthèse d'anticorps protecteurs chez l'homme et l'animal (Matthews, *et al.*, 1991, Pachi, *et al.*, 2006). Dans la famille des Hsp70, deux protéines, la Ssa1p et la Ssa2p, ont été identifiées chez *C. albicans*. Elles possèdent aussi des propriétés antigéniques importantes, et sont également impliquées dans la synthèse d'anticorps protecteurs lors de l'infection (La Valle, *et al.*, 1995). L'énolase est également une protéine importante de la paroi. C'est une hydrolase impliquée

dans la néoglucogenèse. Elle est produite et sécrétée abondamment à la fois *in vivo* et *in vitro* (Chaffin, *et al.*, 1998). La détection de l'énolase circulante et d'anticorps anti-énolase dans le sang a une valeur diagnostique d'infection invasive aujourd'hui bien établie chez l'animal et l'homme (Mitsutake, *et al.*, 1996).

Les lipides

Fraction la plus faible de la paroi (1 à 7%), ils participent à la rigidité de la cellule. Les lipides majeurs sont les triglycérides, des phospholipides et des stérols libres ou estérifiés. Ils jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire et dans l'élaboration de la paroi (Ghannoum, *et al.*, 1986). Un représentant de la famille des mannose-inositol-phosphorylcéramides (MIPC) a été identifié parmi les glycolipides de la paroi de *C. albicans* et nommé le phospholipomannane (PLM). La partie lipidique du PLM est constituée de phytocéramide associant une phytosphingosine en C18 ou C20 et un acide gras hydroxylé en C24, C25 ou C26. Sa partie glycanique est composée d'une chaîne linéaire de 8 à 18 résidus mannose liés exclusivement en β -1,2 (Trinel, *et al.*, 1993, Trinel, *et al.*, 1987). Il a été montré que la structure du PLM était fonction des conditions de culture (pH, température) et du sérotype de la souche (Trinel, *et al.*, 2005). Le PLM peut être sécrété en surface de la paroi et est capable de se fixer aux cellules hôte ainsi que d'induire chez le macrophage une apoptose par modulation de la voie ERK (Extracellular-Regulated Kinase) (Ibata-Ombetta, *et al.*, 2001) et la translocation nucléaire de NF- κ B (Nuclear Factor κ B) en présence de TLR2 (Toll-Like Receptor 2) (Jouault, *et al.*, 2003). Un travail récent de Qing C *et al.*, a montré que le PLM était capable d'induire une production d'Interleukine-6 (IL) et de chimiokine 8 sur les cellules THP1 (lignée promonocytaire de patient atteint de leucémie aiguë) (Qing, *et al.*, 2011).

L'analyse de la part respective de la partie céramidique et des β -oligomannosides a été rendue possible par la construction de mutants présentant une délétion du gène MIT1, codant pour une glycosyltransférase dont la fonction supposée est celle d'une GDP mannose - IPC mannose transférase impliquée dans la voie de biosynthèse des MIPC. Le mutant *mit1* Δ est moins virulent que la souche sauvage dans un modèle murin de candidose systémique et est plus sensible à la lyse par le macrophage (Mille, *et al.*, 2004).

Très récemment, le rôle clé des β -mannosyl transférase (BMT) a également été démontré dans l'ajout de β -mannoses sur le phosphopeptidomannane pariétal par utilisation de souches déficientes en BMT5 et BMT6 montrant une diminution dramatique de la glycosylation du PLM ainsi qu'une accumulation de PLM avec des chaînes beta-oligomannosidiques tronquées. Ces délétions n'ont cependant aucun effet sur la biosynthèse des sphingolipides ainsi que sur la beta-mannosylation du PPM (Mille, *et al.*, 2012).

La composition lipidique de la cellule est affectée par le passage de la forme blastospore à la forme mycélium (Mishra, *et al.*, 1992). La composition de la paroi des formes blastospores et filamenteuses est quasiment similaire en pourcentage, bien que les quantités relatives de α -glucanes, chitine, et mannanes varient en fonction de la forme de croissance considérée (Calderone and Braun, 1991). Ainsi, par exemple, les cellules de l'hyphe contiennent au moins trois fois plus de chitine que les spores.

En plus d'être un composant essentiel de la cellule, la paroi exprime plusieurs facteurs de pathogénicité impliqués notamment dans la transition colonisation/infection. La majorité des molécules exprimées à sa surface ont des propriétés d'adhésines ou d'immuno-modulateurs (Masuoka, 2004).

Transition colonisation/infection

De nombreux pathogènes fongiques humains, comme *C. albicans*, saprophyte de nature, sont présents dans différentes flores commensales de l'hôte (intestinale, buccale, vaginale et épithéliale) chez 30 à 70% des individus sains (Perlroth, *et al.*, 2007). Cet état de tolérance entre l'hôte et *C. albicans* peut aboutir, en cas d'inaptitude à réguler la multiplication et l'instauration de cette levure, dans certaines circonstances cliniques, à une rupture d'équilibre conduisant à des infections sévères (Kirkpatrick, 1994).

Cette transition colonisation/infection consiste en une succession d'évènements initiés soit par des facteurs exogènes (antibiotiques, immunosuppresseurs...), soit par une rupture des barrières naturelles (brûlure, cathéters, mucites). Dans la majorité des cas, les patients s'infectent par leur propre souche après une

prolifération digestive importante et une translocation hématogène favorisée par un déséquilibre de l'homéostasie intestinale. L'ensemble des différentes phases permettant le passage de l'état de colonisation à l'état d'infection est représenté en figure 2 et comporte 4 étapes principales.

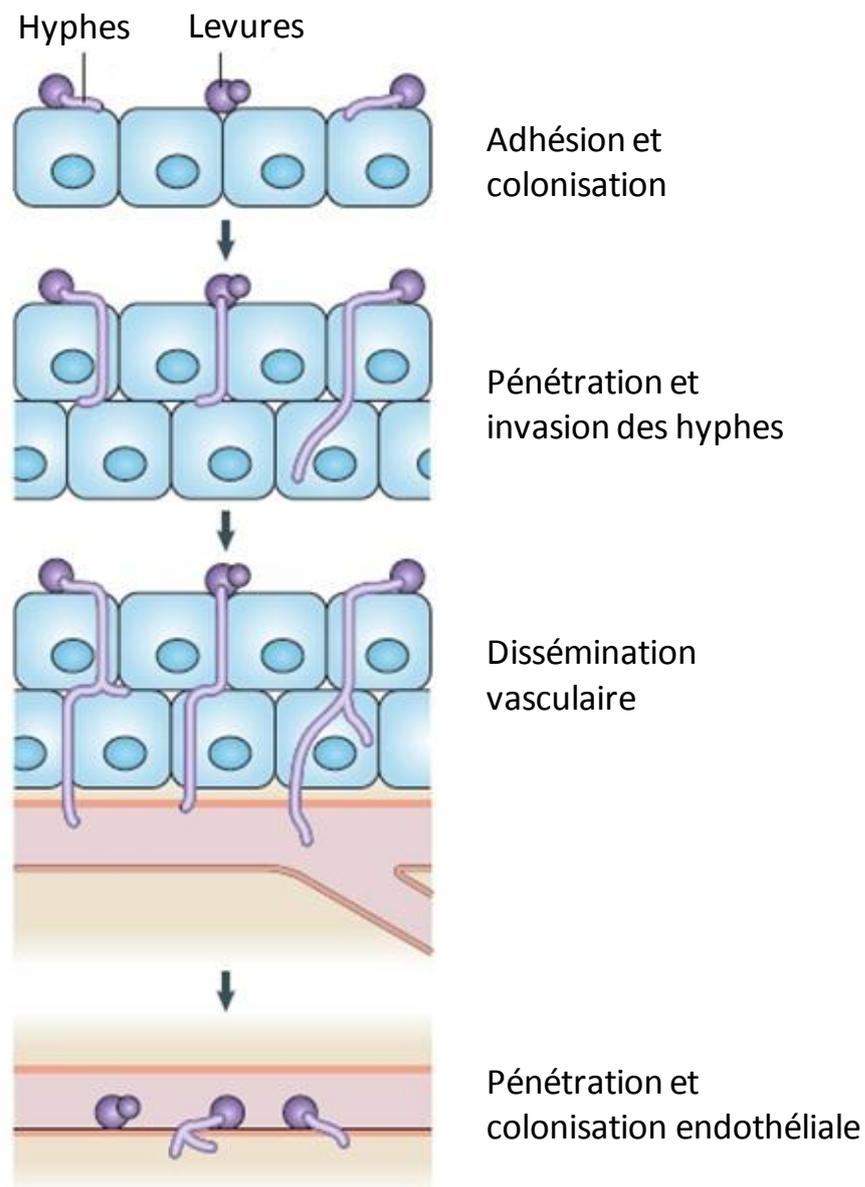


Figure 2. Invasion des tissus de l'hôte par *C. albicans*. Adapté de Gow *et al* (Gow, *et al.* 2011)

Colonisation/adhésion

La colonisation est un pré-requis indispensable au développement des infections à *C. albicans*. Cette étape met en jeu les propriétés d'adhérence de *C. albicans* à la surface des cellules épithéliales buccales, vaginales ou digestives. Cette interaction est indispensable à l'initiation du processus d'invasion tissulaire et l'un des mécanismes majeurs reste la formation de tube germinatif qui confère aux cellules une aptitude d'adhérence par l'intermédiaire de la synthèse d'adhésines. Ces protéines présentent des affinités pour de nombreuses protéines de l'hôte, d'origine plasmatique ou matricielle, comme la fibronectine (Santoni, *et al.*, 1994), le fibrinogène (Annaix, *et al.*, 1990), le C3d (Linehan, *et al.*, 1988), le C3bi (Gilmore, *et al.*, 1988) et la laminine (Lopez-Ribot, *et al.*, 1994). La levure est de plus capable de s'adapter à des pH très variés, de résister à de multiples sécrétions (lysozymes, IgA sécrétoires, salive, mucus), et de rivaliser avec de nombreuses espèces bactériennes (Eckburg, *et al.*, 2005). La colonisation par *C. albicans* est tributaire de l'état de santé du patient et de l'intégrité de la muqueuse intestinale. Ainsi, chez les patients hospitalisés, la colonisation augmente avec la sévérité de la maladie sous-jacente et la durée d'hospitalisation.

Invasion tissulaire

En cas d'inaptitude du système immunitaire à limiter la colonisation, *C. albicans* est capable d'initier une invasion tissulaire, première étape de la transition colonisation/infection. Cette invasion est favorisée par une rupture des barrières naturelles (traumatisme, choc endotoxinique, mucites, dénutrition, hypotension, traitement par stéroïdes ou cyclosporine, ischémie et reperfusion ...) et/ou par une altération de l'immunité de l'hôte. L'atteinte des vaisseaux sanguins et lymphatiques est favorisée par la transition levure/mycélium avec la croissance de la forme filamenteuse à travers l'épithélium puis les tissus. L'aptitude de *C. albicans* à digérer les tissus de l'hôte grâce à la sécrétion d'enzymes hydrolytiques favorise également la pénétration et est nécessaires à sa multiplication (Calderone and Fonzi, 2001, Richardson and Rautemaa, 2009). Néanmoins, le processus d'invasion par les

autres espèces *Candida* n'est aujourd'hui que partiellement élucidé (Gokce, *et al.*, 2007).

Dissémination hématogène

Le processus d'angioinvasion par *Candida* est assez peu étudié. Il permet aux éléments fongiques d'atteindre la lumière des vaisseaux sanguins et lymphatiques et de disséminer, vraisemblablement sous la forme levure. Dans la plupart des cas, l'identité de la souche qui dissémine est la même que celle qui colonise le tube digestif permettant ainsi de relier étroitement colonisation et infection (Nucci and Anaissie, 2001). Les septicémies à *Candida* sont caractérisées par une mortalité attribuable de l'ordre de 40% (Vardakas, *et al.*, 2009).

Extravasation, pérennisation tissulaire

La dernière étape est la multiplication tissulaire dans les organes rendus accessibles par voie sanguine. L'ensemble des tissus humains peuvent être infectés (Pittet, *et al.*, 1994) et la pathologie du patient sera dépendante de l'organe atteint (candidose rénale, splénique, péritonéale, systémique, intestinale, mucocutanée ou encore oculaire).

Cette transition colonisation/infection est cependant déterminée par l'existence de nombreux facteurs de virulences et de modifications morphologiques propre à *C. albicans*.

Les facteurs de virulences

A la différence des pathogènes stricts, *C. albicans* est versatile de par sa capacité de survie chez un hôte en tant que commensal et son habilité à devenir pathogène dans des conditions défavorables pour l'hôte (Calderone and Fonzi, 2001). Beaucoup des facteurs de virulence de *C. albicans* sont attribués à son

caractère opportuniste, incluant l'adhérence aux cellules de l'hôte, la sécrétion d'enzymes lytiques, et le changement de morphologie.

L'ensemble de ces facteurs de virulences agissent de concert pour favoriser une diminution des défenses de l'hôte qui modifie l'équilibre de commensalisme au profit de la levure, et entraîne le basculement du stade de colonisation à celui de l'infection.

L'adhérence

L'adhérence aux tissus de l'hôte est essentielle pour initier et maintenir l'interaction hôte/levure (Gaur, *et al.*, 1999). Elle fait intervenir plusieurs adhésines de surface permettant le phénomène de « sensing » de *C. albicans* des différents substrats sur lesquels elle se développe (Gow, 1997).

Les adhésines peuvent être définies comme des biomolécules qui initient l'adhérence de *C. albicans* aux cellules ou aux ligands de l'hôte (Calderone and Fonzi, 2001). Les polysaccharides (Fukazawa and Kagaya, 1997), les glycoprotéines (Chaffin, *et al.*, 1998) et les lipides (Ghannoum, *et al.*, 1986), qui sont des molécules de surface, ont une fonction de promotion de la liaison de *C. albicans*, et probablement de pénétration dans les tissus de l'hôte. Plusieurs adhésines ont été identifiées, incluant Ala1 (Gaur, *et al.*, 1999), Als (Fu, *et al.*, 1998) dont Als3 (Liu and Filler, 2011) et Hwp1 (Staab, *et al.*, 1999).

Enzymes lytiques sécrétées

Deux grandes familles d'enzymes lytiques sécrétées, composées de plusieurs membres, ont été associées à l'invasion : les « secreted aspartyl proteinases » (SAPs) et les phospholipases (PLs).

Les membres de la famille des SAPs composés d'une dizaine de gènes, SAP1 à SAP10 (Monod, *et al.*, 1998), sont des facteurs de virulence clés de la pathogénèse des *Candida* par dégradation de protéines humaines, optimisation de

l'adhérence, coordination du passage levure/hyphe, modulation de la virulence ainsi que par le leurre du système immunitaire (Naglik, *et al.*, 2003).

Les PLs, quant à elles, ont été identifiées au nombre de 4 (PLA, PLB, PLC et PLD) mais seule PLB1, exprimée à l'extrémité des hyphes, est nécessaire à la virulence (Ghannoum, 2000). Des investigations supplémentaires seront néanmoins nécessaires pour éclaircir le rôle et les mécanismes impliquant les PLs.

Dimorphisme

C. albicans est un champignon diploïde polymorphe capable de changements morphologiques majeurs allant de la forme levure unicellulaire (blastospores) à la forme filamenteuse (pseudohyphes ou hyphes) (Figure 3).

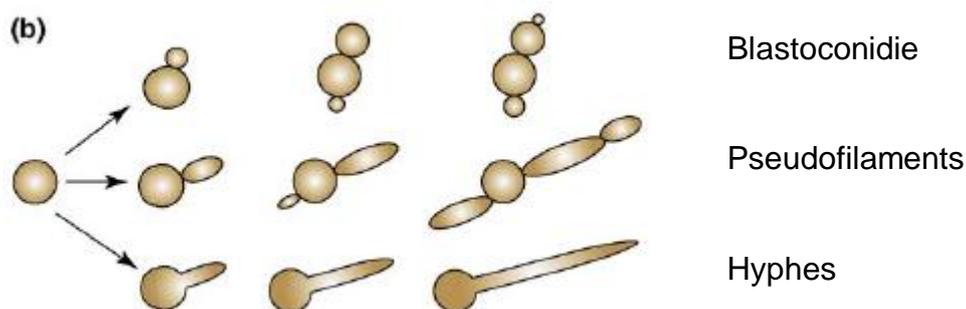


Figure 3. Représentation schématique des différentes formes de *C. albicans* adapté de Arnaud *et al.* (Arnaud, *et al.*, 2009)

La forme blastoconidie est ronde ou ovale, mesurant de 2 à 4 μm avec parfois un bourgeon en formation. Ces cellules ont une température optimale de croissance de 37°C. La forme pseudomycélium mesure de 500 à 600 μm de longueur et de 3 à 5 μm de largeur, composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien. Chaque compartiment cellulaire est identique en longueur, contient la même quantité de matériel génétique, mais diffère du précédent en quantité de cytoplasme et de ses constituants.

La forme mycélium vrai correspond à un champignon filamenteux hautement polarisé avec des bords parallèles. La conversion d'une levure en filament mycélien passe

par l'intermédiaire d'une structure appelée tube germinatif. Cette forme est spécifique de *C. albicans* et *C. dubliniensis* et favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte.

Sous certaines conditions environnementales, *C. albicans* peut aussi former des chlamydospores, qui sont des structures terminales ou latérales arrondies. Elles sont formées par épaissement du thalle, mesurant deux fois la taille d'une blastospore et possédant une paroi plus épaisse.

Toutes ces transitions morphologiques se mettent en place en réponse à des changements environnementaux, et permettent ainsi au champignon de s'adapter à différents biotopes.

Certaines de ces modifications morphologiques peuvent favoriser la dissémination des levures dans les tissus (Hazan, *et al.*, 2002). Ce sujet fait l'objet de recherches très actives pour comprendre les capacités adaptatives du champignon et les modifications géniques qui les déterminent (Lane, *et al.*, 2001, Lo, *et al.*, 1997).

La formation de pseudomycélium ainsi que de mycélium vrai aboutit à l'élaboration d'un réseau microfibrillaire stable, permettant à *C. albicans* de développer un véritable biofilm qui participe à sa pérennisation sur certains substrats ou dispositifs implantables.

Le biofilm

Le biofilm de *C. albicans* consiste en un complexe organisé en matrice extracellulaire structuré par un enchevêtrement de cellules et de filaments (Chandra, *et al.*, 2001) (Figure 4). Ce biofilm, avec son architecture élaborée, contribue à la difficulté de traitement des patients atteints d'infection systémique par une augmentation de la résistance aux antifongiques et aux cellules immunitaires de l'hôte ainsi qu'une promotion de la colonisation des dispositifs implantables (Ramage, *et al.*, 2005). Ces dispositifs médicaux, comme les cathéters et les valves cardiaques, constituent des surfaces idéales pour l'adhésion et l'ancrage de biofilms (Chandra, *et al.*, 2001, Ramage, *et al.*, 2005). L'habilité de ce champignon à changer de morphologie est indispensable pour la formation d'un biofilm (Baillie and

Douglas, 1999, Ramage, *et al.*, 2001) et pourtant les connaissances sur les mécanismes régulateurs de la formation de ce type de structure restent encore partielles.

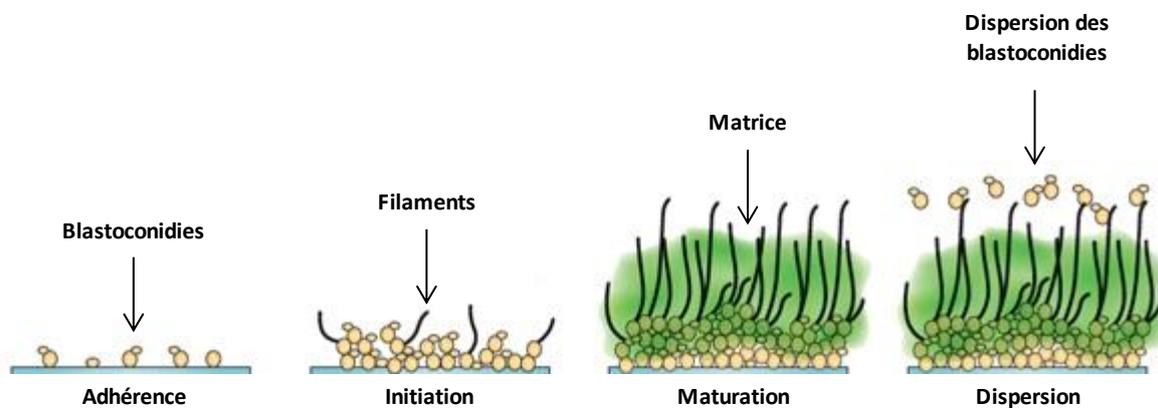


Figure 4. Etapes du développement d'un biofilm par *C. albicans* (Schéma adapté de Finkel *et al.*, (Finkel and Mitchell, 2011))

Le quorum sensing

Le quorum sensing est le phénomène de signalisation ou de communication entre les cellules chez les micro-organismes. Ce mécanisme utilise des signaux moléculaires pour médier les interactions entre son producteur, les cellules environnantes, le milieu extérieur, et les autres micro-organismes. L'existence du quorum sensing a été principalement étudié chez les procaryotes mais certaines données existent toutefois chez *C. albicans* qui reste le modèle d'étude eucaryote. En effet, les « quorum sensing molecules » (QSMs) ont été décrites comme nécessaires pour bloquer la filamentation (Hazen and Cutler, 1983) et favoriser les échanges entre les cellules. Le farnesol a été la première QSM découverte et caractérisée chez un système eucaryote (Hornby, *et al.*, 2001), suivie par le tyrosol (Chen, *et al.*, 2004) ou encore les molécules de carbone 12 (Hogan, *et al.*, 2004). L'ensemble de ces molécules ont pour fonction de réguler la croissance des levures, que ce soit chez la forme globulaire ou chez les hyphes. Ces modulations de croissance ont été montrées comme ayant un impact sur l'efficacité de certains antifongiques, comme les azolés, et augmenteraient de manière significative la virulence de ces levures (Navarathna, *et al.*, 2005).

L'ensemble de ces facteurs de virulence confère aux levures du genre *Candida* la possibilité de moduler les défenses immunitaires de l'hôte. Ils sont particulièrement déterminants dans les étapes précoces de l'infection.

2 – Candidoses, formes cliniques et stratégies diagnostiques

Généralités

Les candidoses sont des infections opportunistes fréquentes dont l'incidence a connu une augmentation exponentielle durant les 30 dernières années. Le développement de ces maladies a été largement favorisé par l'évolution rapide des techniques médico-chirurgicales, l'immunodépression consécutive à l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ainsi qu'aux nouvelles thérapies immunosuppressives associées aux transplantations et au développement des biothérapies. Les formes invasives touchent également des populations fragilisées par leurs pathologies sous-jacentes tel que les prématurés, les grands brûlés, les patients polytraumatisés ou les patients admis dans les unités de réanimation médicales/chirurgicales. Les formes nosocomiales sont dominées par les candidoses profondes, caractérisées par une mortalité attribuable de l'ordre de 40% (Gudlaugsson, *et al.*, 2003, Pagano, *et al.*, 2006, Tortorano, *et al.*, 2004) en raison des difficultés diagnostiques et de la non-spécificité des signes cliniques. Le diagnostic tardif de ces infections a incité les cliniciens à développer des stratégies prophylactiques/préemptives dont le coût est devenu de plus en plus difficile à supporter par les structures hospitalières. Les infections à levures se situent aujourd'hui au premier rang des infections nosocomiales (Bodey, *et al.*, 2002, Hage, *et al.*, 2002), avec une distribution presque équivalente entre *C. albicans* et *C. non albicans* parmi les souches isolées en pathologie humaine (Pfaller and Diekema, 2007).

Aspects cliniques

D'un point de vue clinique, les candidoses concernent deux types de lésions, les candidoses superficielles et les candidoses profondes.

Les candidoses superficielles

Les candidoses superficielles sont les manifestations les plus communes et sont très variées. Elles peuvent atteindre l'ensemble des épithéliums ainsi que les

muqueuses telles que la cavité buccale (Elangovan, *et al.*, 2012), le pharynx (Evans, *et al.*, 2012, Laurent, *et al.*, 2011), l'œsophage (Porubcin, *et al.*, 2012), l'intestin (Parra-Herran, *et al.*, 2010), le système urinaire (Fisher, *et al.*, 2011), la peau (Antachopoulos, *et al.*, 2007, Coldiron and Manders, 1991) et la muqueuse vaginale (Fidel and Cutler, 2011). Ces infections restent cependant relativement simples à diagnostiquer et à traiter contrairement aux infections profondes.

Les candidoses profondes

Il est largement admis aujourd'hui que la colonisation est une étape préliminaire des infections profondes à *Candida*. Plusieurs travaux de Voss *et al.*, ont démontré une identité génétique entre les souches colonisantes et les souches isolées d'hémocultures (Voss, *et al.*, 1994). En effet, la porte d'entrée est souvent digestive. Toute perturbation de l'homéostasie intestinale (inflammation, antibiothérapie...) peut conduire à une prolifération des levures. L'augmentation de la charge fongique au niveau des muqueuses peut favoriser la sécrétion d'un certain nombre d'enzymes lytiques et la translocation des levures au niveau hématogène (Naglik, *et al.*, 2003, Pittet, *et al.*, 1994).

Ces formes d'infections candidosiques, encore appelées candidoses systémiques, recouvrent les septicémies à *Candida* et les affections viscérales profondes initiées le plus souvent par une dissémination hématogène. Elles surviennent surtout chez des patients hautement fragilisés, hospitalisés généralement dans les unités de soins intensifs, dans les services de réanimation médicale et chirurgicale ainsi que dans les unités d'onco-hématologie. Elles occupent désormais le 4ème rang des infections nosocomiales en Europe (Munoz, *et al.*, 2004) et aux Etats-Unis (Wisplinghoff, *et al.*, 2004) et sont donc devenues un réel problème de santé publique. En effet, ces candidoses sont responsables d'un impact médico-économique important (Pfaller and Diekema, 2007) de par leur morbidité associée aux prolongations de séjours de plus en plus fréquentes en raison du caractère invasif des lésions, des difficultés à stériliser les dispositifs implantables, foyers cryptiques ou encore les portes d'entrées exogènes (Kojic and Darouiche, 2004). En réanimation, la mortalité directement attribuable est estimée à 40% des épisodes candidémiques (Vardakas, *et al.*, 2009, Zaoutis, *et al.*, 2005). Par ailleurs, la gravité de ces infections et les difficultés du

diagnostic clinique et biologique ont entraîné une progression impressionnante de la consommation des antifongiques. Celle-ci est en grande partie liée aux traitements empiriques ou à visée prophylactique (Leroy, *et al.*, 2009).

Les septicémies à *C. albicans* peuvent avoir deux origines :

- une origine endogène issue d'une infection préexistante au niveau digestif (Nucci, 2000). La dissémination se fait alors par le système porte (Andrulis, *et al.*, 2000) pour atteindre des organes plus profonds, et notamment le foie, la rate, et plus rarement les poumons.

- Une origine exogène, causée par un acte thérapeutique impliquant un traumatisme vasculaire (cathéters, prothèses). Les levures vont adhérer au cathéter, le coloniser, former un biofilm (Douglas, 2003), puis franchir la voie veineuse pour atteindre des organes tels que la rétine de l'œil, le cœur, le foie et les reins (Kojic and Darouiche, 2004, Paya, 2001). L'immaturation de la barrière cutanée a été également rapportée comme porte d'entrée des levures au cours de l'infection à *Candida* des sujets prématurés.

La symptomatologie est aspécifique. Elle se présente comme une fièvre persistante aux traitements antibactériens à large spectre. Cet état de septicémie peut entraîner un choc septique conduisant à la mort du patient.

Facteurs prédisposant à l'infection candidosique

L'infection à *Candida* est une infection opportuniste favorisée par un déséquilibre immunitaire influencé par des facteurs extrinsèques ou intrinsèques. Parmi ces facteurs, l'âge (Roilides, 2011), le taux hormonal (Daniels, *et al.*, 2001), la présence d'une pathologie sous-jacente comme le cancer (Alsan, *et al.*, 2011, Gligorov, *et al.*, 2011), le syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) (Tumbarello, *et al.*, 1999), le diabète (Carvalho, *et al.*, 2001), les pathologies cardiaques (Darwazah, *et al.*, 1999) ou encore la xérostomie (Shinozaki, *et al.*, 2012) et les traitements antibiotiques (Gupta, *et al.*, 1994, Xie, *et al.*, 2011) ou immunosuppresseurs (Gupta, *et al.*, 1994, Xie, *et al.*, 2011) favorisent l'apparition de

candidoses systémiques. Les pratiques chirurgicales (Hsu, *et al.*, 2009) et les accès vasculaires comme les cathéters (Tumbarello, *et al.*, 1999), les prothèses valvulaires (Romero, *et al.*, 2012) ou orthopédiques (Deelstra, *et al.*, 2012) ont également été montrés comme facteurs prédisposant aux infections à *Candida*.

Diagnostic des candidoses

Le diagnostic des candidoses repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques. Il reste complexe pour les localisations profondes (Hope, *et al.*, 2005). En effet, la symptomatologie clinique n'est pas spécifique et peut orienter initialement vers une septicémie bactérienne. Il est donc important de mettre en œuvre différentes stratégies pour garantir la précocité et la fiabilité du diagnostic (Marchetti, *et al.*, 2012).

L'imagerie

Les deux examens utiles au diagnostic des candidoses invasives (CI) sont le scanner et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) (Anttila, *et al.*, 1994). L'IRM est décrite comme plus sensible dans la recherche de lésions hépatospléniques. L'échographie est beaucoup moins performante mais peut toutefois servir à repérer des métastases septiques en sortie d'aplasie.

Ces explorations mettent en évidence de nombreux micro-abcès dans le parenchyme en cas de candidose hépatosplénique. Elles peuvent être d'un apport significatif pour le diagnostic des spondylodiscites et dans le cas des atteintes médullaires observées chez certains patients toxicomanes (Cottle and Riordan, 2008, Pihet, *et al.*, 2005). Depuis quelques années, le PET-scan a considérablement amélioré la recherche de tumeurs solides. Il est basé sur l'administration de ^{18}F 2-Fluoro-2-deoxy-D-glucose, qui a la particularité de s'accumuler dans les cellules à activité métabolique intense. Sa sensibilité est meilleure qu'avec les techniques d'imagerie classiquement utilisées (Hot, *et al.*, 2011).

Méthodes mycologiques

La mise en évidence de *Candida sp.* dans un site colonisable par la flore fongique résidente ou transitoire ne signifie pas forcément que celui-ci est pathogène. Il est donc important, en fonction des signes cliniques, de le rechercher dans les sites stériles tels que le sang, le LCR, la bile, le liquide articulaire, le liquide péricardique et certaines biopsies guidées par imagerie.

L'hémoculture

Une seule hémoculture positive à *Candida sp.*, prélevée dans de bonnes conditions d'asepsie, est toujours significative. L'inconvénient majeur de ce prélèvement est sa faible sensibilité. En effet, moins de 50% des hémocultures prélevées chez des patients ayant eu une CI prouvée à l'autopsie s'avèrent positives (Horvath, *et al.*, 2004, Horvath, *et al.*, 2003). Ce faible rendement est en partie lié au faible inoculum présent lors de la ponction sanguine, qui est estimé par certains auteurs à moins d'1 CFU/mL dans plus de la moitié des cas (Pfeiffer, *et al.*, 2011). Les conférences de consensus préconisent donc, chez le patient adulte, un volume de sang de 20 mL par flacon d'hémoculture.

En règle générale, si le laboratoire ne dispose pas de milieux de culture favorables à la croissance rapide des champignons (tel que le milieu Mycosis ICF[®], Becton Dickinson), il est dans ce cas recommandé d'utiliser des milieux en conditions d'aérobiose. Une étude utilisant les automates BACTEC 9240 (Becton Dickinson) et BacT/Alert 3D (BioMérieux) a montré que *C. albicans* a une croissance plus rapide, avec un délai moyen de 35 heures entre l'insertion dans l'automate et la détection de la positivité, contre 80 heures pour *C. glabrata* (Park, *et al.*, 2011).

Cet examen a donc une forte valeur prédictive positive mais une très faible valeur prédictive négative, et ce malgré le fait d'utiliser des milieux spécifiques pour champignons qui réduisent le temps de détection et augmentent la sensibilité (Horvath, *et al.*, 2004).

Les prélèvements profonds

Tout prélèvement d'un site normalement stérile dont la culture met en évidence une levure *Candida sp.* doit faire évoquer une infection invasive et être traité comme telle. La prise en charge d'un tel prélèvement est identique à celle préconisée pour une candidose superficielle et consiste à effectuer un examen direct : un état frais directement entre lame et lamelle et une coloration permettant une meilleure visualisation des éléments fongiques. Les colorations usuelles sont le bleu de lactophénol, le bleu d'ortholuidine, Le May Grunwald Giemsa et le Gomori-Grocott. D'autres méthodes utilisant des réactifs fluorescents permettent d'améliorer le rendement de l'examen direct (calcofluor, fungiqua A). L'apport de l'examen direct est capital pour la mise en route d'un traitement antifongique précoce.

En parallèle, chaque prélèvement va être ensemencé sur un milieu de Sabouraud, additionné d'antibiotiques (classiquement chloramphénicol ou amikacine) (Quindos, *et al.*, 1992). On l'associe de plus en plus souvent à un milieu chromogénique qui permet de révéler des mélanges d'espèces et d'identifier de manière présomptive les principales levures rencontrées en pathologie humaine (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*) (Ozcan, *et al.*, 2010, Sendid, *et al.*, 2007).

Les milieux de culture sont incubés à 37°C, ou plus rarement à 30°C, afin de favoriser la croissance des levures. Les colonies de levures apparaissent en 24 à 48h, le nombre de colonies sera évalué de manière semi-quantitative.

Pour l'identification des espèces isolées, plusieurs méthodes sont disponibles : les tests morphologiques, les tests rapides, les tests biochimiques ou plus récemment la spectrométrie de masse de type MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation) -TOF (time-of-flight).

Les tests morphologiques visent à distinguer les principaux genres de levures (*Candida*, *Saccharomyces*, *Malassezia*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*) et à identifier de manière rapide *C. albicans*. Le test de chlamydosporulation sur milieu PCB (Pomme de terre, carotte, bile) ou RAT (riz, agar, tween) permet de différencier les espèces *Candida* des autres levures (Citiulo, *et al.*, 2009) (présence ou non de

pseudofilaments) et d'identifier *C. albicans*/*C. dubliniensis* lorsque des chlamydospores peuvent être identifiées après 24h de culture. Le test de blastèse (formation de tubes germinatifs) consiste à incuber les colonies isolées dans 1 mL de sérum pendant 3 heures à 37°C (Balish, 1973, Bartels, *et al.*, 1969). Il permet d'identifier le complexe *C. albicans*/*C. dubliniensis*. Bien que peu coûteuse et facile à réaliser, cette technique est de moins en moins utilisée en raison de son manque de spécificité et de l'apparition de tests immunologiques ou enzymatiques plus spécifiques.

Ces derniers sont fondés soit sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps monoclonaux spécifiques permettant l'identification simple et rapide de *C. albicans* (Bichrolatex albicans), *C. dubliniensis* (Bichro-Dubli), *C. krusei* (Krusei-color), soit sur les propriétés enzymatiques spécifiques d'espèce comme la tréhalase spécifique de *C. glabrata* (glabrata RTT[®]).

Des tests biochimiques étudiant le profil d'assimilation et de fermentation de certains sucres permettent d'identifier plus de 80% des souches isolées en mycologie médicale (Bernal, *et al.*, 1998). Ce pourcentage est encore amélioré en présence de galeries plus discriminantes telle que les API 32C[®]. Ces tests exigent cependant un délai supplémentaire de 24 à 48 h pour identifier les autres espèces.

La spectrométrie de masse a radicalement modifié la prise en charge diagnostique des infections bactériennes et fongiques en réduisant considérablement le délai de réponse au clinicien (Marklein, *et al.*, 2009, Sendid, *et al.*). Cette méthode, est fondée sur la séparation de molécules, qui ont été préalablement ionisées, selon leur rapport m/z (masse/charge) (Zaluzec, *et al.*, 1995). Elle fait intervenir deux étapes principales. Une première étape d'extraction des peptides fongiques par un mélange d'eau déminéralisée et d'éthanol absolu 70% suivie d'un traitement par l'acide formique. La seconde étape, concerne l'analyse en spectrométrie de masse de type MALDI-TOF de l'extrait additionné d'une matrice acide (α -cyano-4-hydroxycinnamic acide -HCCA-) source de protons favorisant l'ionisation des molécules. L'échantillon se disperse à l'intérieur de celle-ci puis le tout est déposé sur la cible métallique. Les ions acquièrent une grande énergie cinétique et sont séparés en fonction de leur vitesse. Le temps de vol des différents ions est alors converti en rapport m/z, fonction de chaque peptide. Le détecteur convertit le signal de chaque impact en grandeur électrique, représenté graphiquement par des pics.

Cette technique de spectrométrie de masse permet d'établir une empreinte protéique spécifique d'espèce (Henzel, *et al.*, 2003).

La précision, la fiabilité, la sensibilité, la rapidité et le coût limité de la spectrométrie MALDI-TOF en font une alternative fiable aux méthodes conventionnelles pour l'identification des levures (Risch, *et al.*, 2010). L'épidémiologie des candidoses s'est considérablement enrichie grâce à une identification précise des espèces habituellement difficiles à discerner (Dhiman, *et al.*, 2011). Ses performances sont similaires à celles du séquençage des régions ITS1 et ITS2 (Internal transcribed spacer). Elle permet en outre une identification correcte dans près de 99% des levures isolées en milieu hospitalier (Marklein, *et al.*, 2009, Seyfarth, *et al.*, 2012).

Quelle que soit la méthode d'identification choisie, un antifongogramme peut être réalisé, selon le contexte clinique, la nature du prélèvement, les antécédents du patient ou devant un échec thérapeutique.

Cas particulier de l'index de colonisation corrigé (ICC)

Devant le manque de sensibilité des hémocultures, certains services de réanimation chirurgicale ont développé une nouvelle stratégie fondée sur la détermination de la densité fongique colonisant les sites superficiels (bouche, crachat, trachée, aspiration bronchique, écouvillon nasal, selle ou écouvillon anal, urine, drains...) en vue d'apprécier le risque d'infection invasive à *Candida* (Piarroux, *et al.*, 2004, Pittet, *et al.*, 1994). Cet index, réalisé de manière bihebdomadaire, est calculé par le rapport entre le nombre de sites corporels colonisés et le nombre de sites corporels prélevés.

Bien que certains auteurs aient proposé de traiter (de manière préemptive) les patients ayant un index $\geq 0,5$, la spécificité de ce marqueur reste encore assez discutable. Une proportion non négligeable de patients serait très probablement traitée par excès. Il est donc important de trouver des marqueurs plus discriminants (Gurcuoglu, *et al.*, 2012).

Dans ce contexte, Léon *et al.* avaient proposé un autre marqueur dénommé « Candida Score » qui prend en compte non seulement les données de la colonisation

mais également d'autres signes de gravité du patient (Kratzer, *et al.*, 2011). Ce score intègre l'existence d'une nutrition parentérale, une chirurgie récente et un sepsis sévère. Selon les auteurs, un traitement préemptif « précoce » devrait être envisagé pour des scores supérieurs à 2,5 (Leon, *et al.*, 2006).

La sérologie fongique

Ces méthodes constituent un complément, et dans certains cas une alternative intéressante, aux méthodes conventionnelles. Elles sont fondées sur la détection d'anticorps spécifiques générés au cours d'une infection fongique. En pratique clinique et probablement par abus de langage, le terme sérologie fongique englobe également les méthodes de détection de molécules fongiques circulantes appelées également antigènes solubles (Polysaccharides de type mannane et beta-glucanes, les protéines/glycoprotéines).

L'apport diagnostique de la sérologie a été rapporté au début des années 70, d'abord en utilisant des extraits antigéniques totaux (protéines, mannane). Parallèlement au développement des techniques de plus en plus analytiques, le recours à des antigènes purifiés était nécessaire pour étudier le rôle physiopathologique des anticorps correspondants. Dans ce cadre, une multitude d'approches (Immunofluorescence, immunoprécipitation, western blot...) et de cibles ont été explorées tels que les protéinases (SAP1, SAP2) (Millon, *et al.*, 2001), les protéines du choc thermique (HSP47) (Matthews and Burnie, 1989) ou encore l'énolase (Mitsutake, *et al.*, 1994).

Plus récemment, avec le développement des analyses transcriptomiques de nouvelles cibles antigéniques ont été identifiées et impliquées dans des tests immunoenzymatiques (Clancy, *et al.*, 2008). En effet, de nombreuses équipes de recherche se sont penchées sur le diagnostic des candidoses et sur le développement de nouveaux biomarqueurs capables de prédire de manière spécifique et sensible la survenue d'une infection à *Candida*. Parmi ces molécules, la protéine Hyphal Wall Protein (Lain, *et al.*, 2007), l'Als3 (Green, *et al.*, 2005), la superoxide dismutase 5 (Martin, *et al.*), la methionine synthetase 6 (Pitarch, *et al.*, 2001), la malate deshydrogenase (Hernando, *et al.*, 2007), la fructose biphosphate aldolase 1 (Hernando, *et al.*, 2007, Pitarch, *et al.*, 2001), la famille des Hsp70

(Pitarch, *et al.*, 2001), l'Hsp90 (Matthews, 1992), la phosphoglycerate kinase (Clancy, *et al.*, 2008), la diacylglycerol kinase catalytic domain (Hernando, *et al.*, 2007), la glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (Pitarch, *et al.*, 2001), l'alcool dehydrogenase 1 (Pitarch, *et al.*, 2001), la diacylglycerol kinase (Hernando, *et al.*, 2007), ou encore la 65 kDa mannoprotein (Berzaghi, *et al.*, 2009) ont été identifiées comme des cibles antigéniques potentielles.

Toutes ces protéines surexprimées durant la phase pathogène de *Candida* ont suscité beaucoup d'espoir dans le domaine du diagnostic mais, malheureusement, sans développement industriel ultérieur.

Parallèlement à la détection des anticorps, les tests de détection de molécules circulantes ont connu un essor considérable en particulier en raison de la recrudescence des candidoses invasives chez le sujet immunodéprimé.

Le ratio D-arabinitol/L arabinitol (Switchenko, *et al.*, 1994), les antigènes thermosensibles (Fung, *et al.*, 1986), l'énolase 1 (Walsh, *et al.*, 1991), l'HSP90 (Matthews, *et al.*, 1991) ont tous fait l'objet d'évaluations expérimentale et/ou clinique pour le diagnostic des candidoses mais ont rapidement été abandonnés.

Seuls quelques tests ont été commercialisés et bénéficié d'évaluations cliniques. Il s'agit principalement des tests Platelia® *Candida* Ab et Ag et du Fungitell® (Lamoth, *et al.*, 2012, Mikulska, *et al.*)

Les tests de détection de la mannanémie (Mn) et des anticorps anti-mannane (AMn)

Cette approche repose sur l'analyse conjointe des cinétiques de l'antigène mannane sérique (Platelia® *Candida* Ag) et de ses anticorps spécifiques (Platelia® *Candida* Ab). Le Platelia® *Candida* Ag consiste en la reconnaissance du mannane par un anticorps monoclonal nommé EBCA1 (Figure 5d) (Herent, *et al.*, 1992, Weiner and Yount, 1976). Cet anticorps reconnaît de manière spécifique une séquence de mannopentaose liés en α -1,2. Cet épitope est commun à plusieurs espèces de *Candida* fréquemment isolées de prélèvements biologiques comme *C. glabrata*, *C. tropicalis*, mais il est faiblement exprimé par *C. parapsilosis* et *C. krusei*. (Sendid, *et al.*, 2002). Les échantillons sériques sont traités pendant 6 minutes à 120°C en présence d'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) pour permettre la dissociation des immuncomplexes et le relargage du mannane. De plus, l'étude de

l'évolution de la Mn au cours de la candidose permet d'évaluer la persistance de cellules fongiques et l'efficacité des traitements mis en place ainsi que d'éventuelles récurrences.

Le Platelia[®] Candida Ab quant à lui, permet la détection semi quantitative des AMn. En effet, ces anticorps spécifiques sont retrouvés dans le sérum, en grande proportion lors d'un processus infectieux causé par des levures du genre *Candida*, et se sont révélés être un marqueur diagnostique intéressant (Yeo and Wong, 2002). Deux situations doivent particulièrement faire l'objet d'une recherche active du foyer infectieux, une séroconversion ou la persistance d'un taux très élevé d'anticorps pendant plusieurs semaines. Ces anticorps peuvent faire défaut chez le sujet immunodéprimé en particulier durant la phase d'aplasie. Les travaux du laboratoire ont permis de montrer que le mannane circule de manière transitoire, généralement en absence d'anticorps anti-*Candida* et *vice versa*. Sur la base de ces résultats, une démarche visant à associer ces deux tests a été entreprise pour améliorer la sensibilité globale du diagnostic.

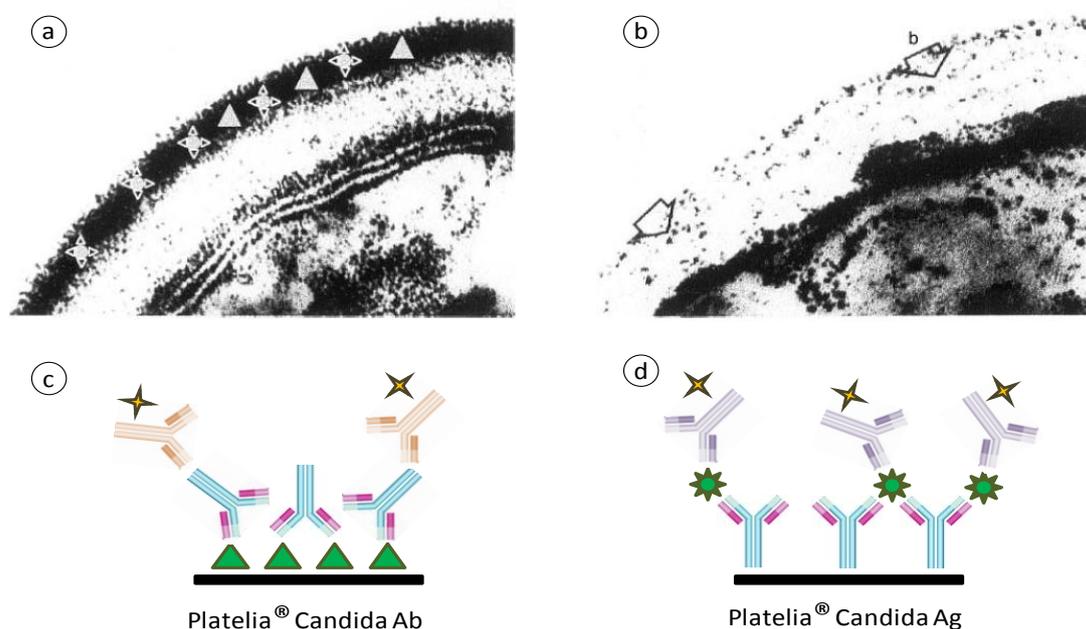


Figure 5. Principes des tests Platelia[®] Ab (Figure 5c), Ag (Figure 5d). Le test Platelia[®] Ab utilise le mannane de *C. albicans* VW32 extrait par autoclavage (Figure 5a et 5b) (Sendid, *et al.*, 2002).

Des explorations plus approfondies sur ces biomarqueurs ont montré que leur association pouvait améliorer de manière significative la sensibilité et la précocité du diagnostic des candidoses (Sendid, *et al.*, 2002). En effet la détermination combinée de la Mn et de ses anticorps spécifiques a permis d'obtenir un réel gain en termes de spécificité (93%), de sensibilité (80%) ainsi que de précocité (Sendid, *et al.*, 2002).

Plus récemment, une méta-analyse a souligné l'intérêt de cette association en particulier pour le diagnostic des candidoses hépatospléniques (Mikulska, *et al.*, 2010). Bien que l'utilisation de ces tests est grevée par le manque de sensibilité de la Mn et le manque de spécificité des anticorps en particulier chez le patient présentant de hauts niveaux de colonisation fongique (Ellis, *et al.*, 2009), ils font tout de même l'objet de recommandations par l'ECIL 3 dans le cadre des candidoses.

Les β -1,3-D-Glucanes

Les β -1,3-D-Glucanes sont des composants de la paroi d'un grand nombre d'espèces fongiques et peuvent être détectés par leurs habilités à activer le facteur G de la cascade de coagulation de la limule (Hossain, *et al.*, 1997, Nakao, *et al.*, 1994). Ils se lient spécifiquement à la sous-unité A du facteur G, activant la sous unité B de la sérine protéase du zymogène (Takaki, *et al.*, 2002). Cette réaction peut être suivie par spectrophotométrie permettant ainsi une quantification des β -glucanes fongiques (Obayashi, *et al.*, 1995). Sur les fondements de cette capacité de coagulation, des systèmes de dosage ont été développés : le test Fungitec-G glucane (Seikagaku), le Wako-WB003® et le Fungitell® (Cape Cod).

Les tests de détection des BG font l'objet d'une recherche clinique active, notamment pour évaluer leurs valeurs diagnostique et pronostique (Ostrosky-Zeichner, *et al.*, 2005, Senn, *et al.*, 2008). Dans le modèle *Candida*, les études les plus récentes montrent un réel potentiel des BG comme test de screening permettant d'identifier les patients justifiant d'un traitement antifongique prophylactique (Eggimann and Marchetti, 2011). L'intérêt de ce marqueur pour le suivi thérapeutique demeure encore controversé (Jaijakul, *et al.*, 2012, Lefort, *et al.*, 2012).

Des approches moléculaires ont également fait l'objet de multiples projets dans le domaine fongique dans le sang périphérique.

Ces méthodes, fondées sur le principe de la PCR (polymerase chain reaction), visent à détecter des séquences spécifiques de champignons (test panfongique), des séquences spécifiques de genre (*Candida*, *Aspergillus*...) ou des séquences spécifiques d'espèce (*C. albicans*) (Avni, *et al.*, 2011).

Ces tests ont pour but d'amplifier des séquences hautement conservées comme celles de l'acide ribonucléique (ARN) 18S. La détection des amplicons, quant à elle, a fait l'objet de plusieurs développements en particulier des procédures de PCR utilisées :

- La PCR conventionnelle avec une séparation des amplicons par électrophorèse sur gel d'agarose et une détection par fluorescence (Bromure d'éthidium...).

- La PCR en temps réel qui offre de meilleures performances que la PCR conventionnelle car plus rapide, plus sensible, plus spécifique et limitant la survenue des faux positifs. La détection des amplicons se fait par des sondes fluorescentes spécifiques aux différentes plates-formes utilisées (LightCycler, Abiprism...).

- La PCR nichée, aux performances comparables à la PCR conventionnelle (Khelif, *et al.*, 2009). Son principe est d'utiliser dans un premier temps un couple d'amorces dites « externes » puis sur cet amplicon on utilise un couple d'amorces « internes » aux premières, souvent de petite taille. Ceci permet d'éviter une hybridation sur un site autre que la cible, et augmente donc la spécificité de l'analyse, d'autant plus que le nombre de cycles est plus élevé.

Quel que soit le protocole de PCR utilisé, la sensibilité de détection est généralement faible. Son rendement est comparable à celui de l'hémoculture (Avni, *et al.*, 2011).

Malgré l'importante diversité des stratégies mises en œuvre, l'obtention d'un diagnostic de candidose invasive reste complexe. La nécessité de développer de nouveaux biomarqueurs demeure une priorité pour améliorer la prise en charge globale des patients. La pratique de ces tests biologiques alternatifs à la culture n'est pas considérée comme satisfaisante par la plupart des cliniciens et aucun marqueur n'a véritablement recueilli de consensus quant à son efficacité dans l'aide à la décision médicale.

3 – L'immunité anti-*Candida*

Le système immunitaire est en contact avec la flore commensale dès les premiers jours de la vie. Une balance fine est établie entre les signaux pro et anti-inflammatoires permettant le maintien de *C. albicans* à la surface des muqueuses. Le système immunitaire comprend deux composants majeurs qui sont la résistance, capacité à réguler la prolifération fongique d'une part, et la tolérance permettant de limiter les dommages induits par un déséquilibre hôte/pathogène d'autre part. Ces deux stratégies ont été conservées au cours de l'évolution chez les plantes et les vertébrés, et comprendre les relations entre ces deux mécanismes pourrait amener à définir comment les champignons se sont adaptés au système immunitaire des mammifères.

L'immunité innée

L'immunité innée est le mécanisme de défense le plus ancestral. Il a pour rôle de limiter les infections dans les phases précoces (Hoffmann, *et al.*, 1999). Les composants majeurs de cette réponse sont les barrières épithéliales (incluant la peau, les épithéliums muqueux des voies respiratoires, gastro-intestinales et de l'appareil reproducteur), les molécules solubles (peptides anti-microbiens, le complément, les cytokines et les anticorps naturels) et les phagocytes (macrophages et neutrophiles). Ces dernières cellules font intervenir pour la perception du champignon des récepteurs de type PRRs qui sont composés des TLRs, des « Nod-like receptors » (NLRs), des scavenger receptors et des récepteurs lectiniques de type C. Ce répertoire de « sensors » agit de concert pour former un réseau moléculaire de défense de l'hôte. La figure 6 résume l'état des connaissances acquises dans ce domaine.

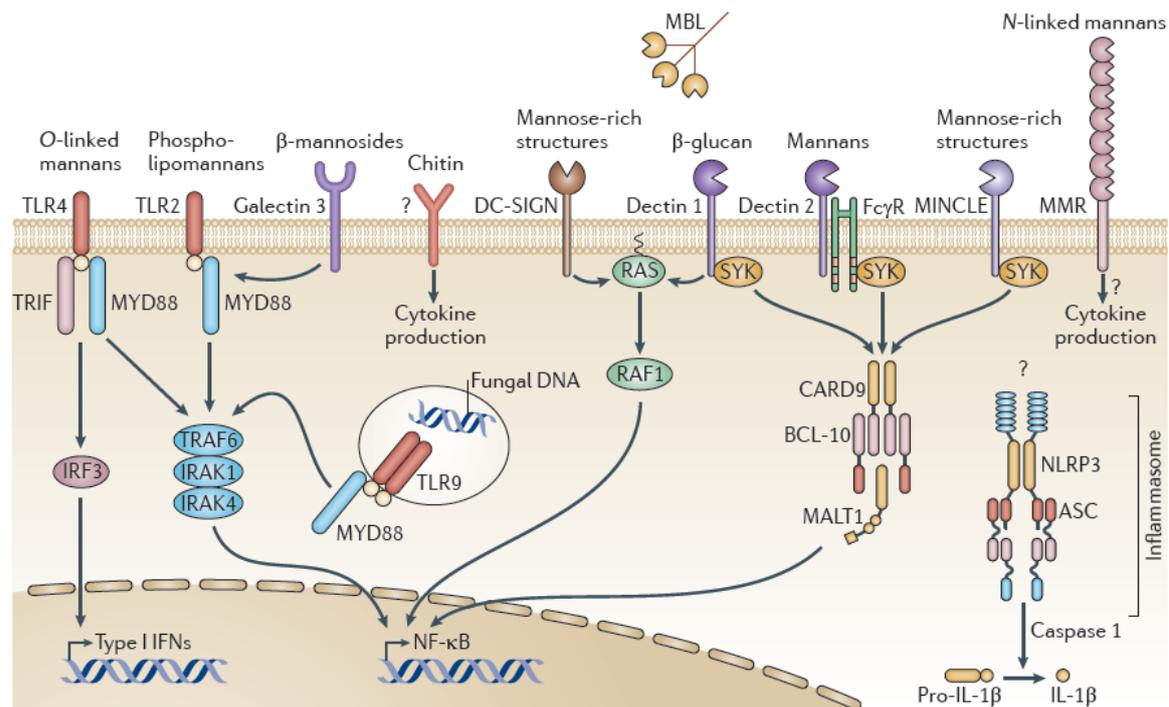


Figure 6 : Médiateurs principaux intervenant dans l'immunité anti-*Candida* ainsi que les voies de signalisation initiées (Gow, *et al.* 2011).

Les barrières externes

L'épithélium malpighien pluristratifié et kératinisé de la peau saine représente une barrière biologique infranchissable pour la grande majorité des germes microbiens (Pamer, 2007).

Cette barrière physique est renforcée par la desquamation permanente des couches superficielles, les sécrétions sébacées et la présence de cellules intra-épithéliales assurant une destruction précoce des pathogènes (Moens and Veldhoen, 2012).

Au cours du temps, ces surfaces primaires sont colonisées par un grand nombre de microorganismes, principalement bactériens, qui jouent un rôle protecteur vis-à-vis des pathogènes par compétition (Boirivant, *et al.*, 2008). La production de substances antimicrobiennes de surface confère aux épithéliums un effet encore plus efficace (Chromek, *et al.*, 2006).

D'autres mécanismes d'élimination des microorganismes sont mis en jeu tels que les mouvements muco-ciliaires au niveau des muqueuses respiratoires et intestinales, la salive ou encore le pH faible dans certains milieux. Au niveau des épithéliums intestinaux, les cellules de Paneth sécrètent du lysozyme intestinal ainsi que des α -défensines alors que la peau et le tractus respiratoire produisent les β -défensines. Chez l'homme, ces petits peptides, possédant un large spectre d'activité anti-microbienne, ont un rôle prépondérant dans les pathologies infectieuses et modulent la réponse inflammatoire (Schneider, *et al.*, 2005). Il a été montré que la présence de ces peptides anti-microbiens ainsi que la prescription d'antibiotiques à large spectre (Koh, *et al.*, 2008, Tortorano, *et al.*, 2004) induisent une pression de sélection au niveau des muqueuses et favorise la colonisation par *C. albicans*.

Néanmoins, dans certaines situations cliniques, la prolifération fongique permet d'atteindre un inoculum important favorisant la sécrétion d'enzymes lytiques, la transition levures/filaments et l'invasion tissulaire. Dans ce cas, le système immunitaire inné va mettre en place une réponse spécifique par l'intermédiaire de cellules effectrices capables de reconnaître les éléments fongiques et de les détruire par phagocytose.

Les cellules phagocytaires

Les cellules phagocytaires sont constituées de plusieurs cellules avec des spécificités tissulaires plus ou moins restreintes. Elles font intervenir principalement les neutrophiles, les monocytes, les cellules dendritiques (CD) et les macrophages.

Les neutrophiles

Les polynucléaires neutrophiles (PNN) représentent à eux seuls environ 65% de l'ensemble des leucocytes du sang périphérique, et 99% des granulocytes. Après les barrières épithéliales et les lectines circulantes, ils constituent la première ligne de défense contre les infections à *Candida* comme le prouvent l'ensemble des études expérimentales (Koh, *et al.*, 2008) et cliniques montrant une prédisposition aux candidoses chez les patients neutropéniques ou chez les patients ayant une

granulomateuse septique chronique – déficit en G6PDHase - (Aratani, *et al.*, 1999, Aratani, *et al.*, 2002). L'activité fongicide des PNN est assurée principalement par la phagocytose, impliquant une déformation de leurs membranes plasmiques afin d'englober le pathogène dans une vacuole phagocytaire appelé phagosome. Par la suite, les granules intracellulaires fusionnent avec le phagosome pour constituer un phagolysosome. A l'intérieur de celui-ci, l'agent pathogène est lysé par une cascade de mécanismes oxydatifs et non-oxydatifs (Faurischou and Borregaard, 2003, Mansour and Levitz, 2002) tels que l'activité des myeloperoydases (Aratani, *et al.*, 2002, Du and Calderone, 2009).

Récemment, un nouveau mécanisme impliquant les neutrophiles sans phagocytose des pathogènes a été décrit. Il s'agit des « NETs » ou neutrophil extracellular traps. En effet, les neutrophiles activés par différents stimuli (cytokines, polysaccharides...) formeraient un réseau extracellulaire composé d'acide désoxyribonucléique (ADN), d'histones et de protéines issues des granulations primaires et secondaires. Ces « toiles » se lient aux bactéries, les piègent et exercent sur elles une activité bactéricide extracellulaire à distance sans même les phagocyter (Urban and Zychlinsky, 2007). De même la formation des NETs a été décrite, en présence de *C. albicans* que ce soit sous sa forme blastoconidie ou mycélienne (Urban, *et al.*, 2006). La dégradation des levures fait intervenir, entre autres, un panel de protéines/peptides antimicrobiens comme la calprotectine (Urban, *et al.*, 2009). Très récemment, avec un mécanisme proche des NETs, la formation d'un « nanonets » intervenant dans la régulation du microbiote intestinal a été décrit par Chu *et al* (Chu, *et al.*, 2012). Ce processus serait dépendant d' α -défensines (HD5 et HD6) qui auraient des rôles différents lors de l'immunité anti-microbienne (Ouellette and Selsted, 2012). Néanmoins, l'ensemble des voies de signalisation impliquant ces « nanonets » ainsi qu'une éventuelle interaction avec les levures commensales reste encore à éclaircir et nécessite de plus vaste exploration.

Les cellules dendritiques

Les CD sont issues du système réticulohistiocytaire caractérisées par des dendrites. Elles jouent également un rôle dans la réponse immunitaire innée et dans

l'initiation de la réponse immunitaire acquise comme cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Elles sont présentes dans les tissus périphériques sous un état immature (ex. cellules de Langerhans), et se différencient, en réponse à un pathogène, en cellules matures capables de migrer vers les organes lymphoïdes pour déclencher l'activation des lymphocytes T et leur différenciation en cellules effectrices.

De nombreuses études ont montré que les CD immatures sont capables de phagocyter *C. albicans* à la fois sous forme de blastospore et d'hyphes via le mannose-fucose-récepteur et stimulent ensuite la prolifération des lymphocytes T (Romani, 2004). L'internalisation de la forme levure induit une réponse de type Th1 via la production d'IL-4 (d'Ostiani, *et al.*, 2000).

Certains auteurs attribuent un rôle central aux cellules en particulier pour leur capacité à orienter la réponse immunitaire. Cette orientation se fait soit en faveur d'un profil tolérogène (en présence des hyphes) après activation des cellules Th1/Treg, ou en faveur d'un profil inflammatoire (en présence de levure) après activation des cellules Th17/Th2 (Bonifazi, *et al.*, 2009).

Les macrophages

Les macrophages proviennent de la différenciation de leucocytes sanguins, les monocytes. Ces cellules participent à l'immunité innée en tant que défense non-spécifique mais également à l'immunité adaptative. Leur rôle est de phagocyter les débris cellulaires, les cellules nécrotiques ou tumorales ainsi que de détruire les pathogènes via le relargage de substances microbicides (protéases, espèce réactive de l'oxygène et des enzymes lysosomiales). Ils modulent également la réponse immunitaire par présentation antigénique et sécrétion de médiateurs (cytokines, chimiokines, prostaglandines). Ils sont munis d'une multitude de récepteurs membranaires leur permettant de reconnaître les surfaces microbiennes (Lewis, *et al.*, 2012, Mora-Montes, *et al.*, 2012). Les macrophages jouent un rôle central dans la lutte contre les infections à *C. albicans* (Lewis, *et al.*) par libération de TNF α qui va exercer son rôle fongicide à la fois de façon directe ou de manière indirecte (Ferrante, 1989). Une étude a démontré que la phagocytose de *C. albicans* par les macrophages et la sécrétion de TNF α se produisent simultanément. Ces processus

de sécrétion de cytokines et de phagocytose sont étroitement liés. Le TNF α est transporté de l'appareil de golgi à l'endosome, qui fusionne au site de la phagocytose avec la membrane plasmique du macrophage. Cette fusion simultanée provoque la libération de TNF α au site de la phagocytose et induit l'expansion de la membrane plasmique phagocytaire (Fernandez-Arenas, *et al.*, 2009).

Cependant des mécanismes d'échappement tels que la synthèse de farnésol ont été rapportés (Abe, *et al.*, 2009).

La phagocytose

La phagocytose constitue donc un mécanisme précoce de la clearance microbienne. Ce mécanisme est particulièrement efficace sur *C. albicans*, que les cellules soient opsonisées ou non.

En effet, la fixation d'anticorps spécifiques anti-*Candida* à la surface de la paroi favorise la reconnaissance et l'internalisation des levures par les macrophages et les monocytes (Marodi, *et al.*, 1991, Marodi, *et al.*, 1991). En plus de l'activation et de l'état de différenciation du phagocyte, d'autres facteurs tels que l'isotype ou la spécificité de l'anticorps peuvent influencer l'efficacité de la reconnaissance de l'agent pathogène opsonisé.

La phagocytose fait intervenir également le complément, une molécule opsonisante majeure lors de l'élimination de *C. albicans*. En effet, des expériences sur des sérums décomplémentés à la chaleur ont montré une diminution de l'efficacité de la phagocytose par rapport aux sérums frais humains (Walport, 2001, Walport, 2001).

Le processus de phagocytose est initié par des récepteurs membranaires des macrophages capables de reconnaître des motifs conservés spécifiques des pathogènes : les PAMPs. Ces structures sont présentes sur l'enveloppe des procaryotes et des champignons, et absentes des cellules de l'hôte. Ainsi, les PAMPs sont des entités biochimiques conservées à l'intérieur d'une même classe de pathogènes (bactéries, virus, champignons...), indispensables à la survie de ces microorganismes (composants structuraux ou enzymatiques). Cette caractéristique fait des PAMPs une signature de l'infection. Parmi les PAMPs, les Lipopolysaccharides (LPS) (bactérie Gram-), le peptidoglycane (bactérie Gram+), le

polysaccharide glucanes/mannane (champignons) mais aussi l'ARN double brin (virus) et l'ADN bactérien sont les exemples les plus étudiés à ce jour. L'ensemble de ces PAMPs sont reconnus par les PRRs exprimés à la surface des cellules phagocytaires et impliqués dans la transduction des signaux menant à la synthèse de cytokines pro ou anti-inflammatoires (Jouault, *et al.*, 2009).

Les récepteurs lectiniques

Les récepteurs lectiniques forment la famille protéique la plus importante des PRRs, qu'ils soient sécrétés ou membranaires. La perception des pathogènes par ces récepteurs donne lieu à des réponses rapides car elle n'implique pas de délai imposé, par exemple, par une expansion clonale des lymphocytes comme lors d'une réponse adaptative. Au début de l'infection, cette reconnaissance directe est primordiale au niveau des tissus qui sont pauvres en opsonines (poumons, rein, système nerveux central), quand la concentration en immunoglobulines est encore très faible.

Les TLRs

Chez l'homme, les TLRs sont au nombre de 11. Ils reconnaissent certains PAMPs et jouent un rôle essentiel dans l'immunité innée (Gil and Gozalbo, 2009). Les TLRs ont été les premiers PRRs identifiés pour leur habilité à réguler les infections fongiques chez la drosophile (Lemaitre, *et al.*, 1996). Cinq TLRs (TLR2 capable de créer des hétérodimères avec le TLR1 ou le TLR6, le TLR4 et le TLR9) ont été séquentiellement identifiés comme senseurs des pathogènes fongiques communs. La reconnaissance de ces espèces déclenche l'induction d'un grand nombre de cytokines et de chémokines importantes lors des processus de clearance fongique (Bellocchio, *et al.*, 2004, Calich, *et al.*, 2008). Les macrophages déficients en TLR-2 ou TLR-4 ont permis de montrer que seul TLR-2 était réellement impliqué dans la défense anti-*Candida* (Blasi, *et al.*, 2005). De plus, l'hypersensibilité aux infections à *C. albicans* chez les souris Knockout (KO) pour TLR-2 ont confirmée ces observations (Villamon, *et al.*, 2004). Cependant, des résultats contradictoires ont été publiés par Netea *et al* (Netea, *et al.*, 2004). Cette controverse est probablement liée

aux différences de fond génétique des souris utilisées, ou pourraient être liées aux souches de *C. albicans* inoculées. Les souris, quant à elles, TLR-4 KO ne présentent pas de différence en termes de survie, de recrutement de polynucléaires neutrophiles après infection intrapéritonéale par *C. albicans*, ni de production de TNF- α . Ces résultats suggèrent un rôle mineur de TLR-4 dans la réponse murine anti-*C. albicans* (Murciano, *et al.*, 2006).

Chez l'homme, de nombreuses études génétiques ont montrée une corrélation entre le polymorphisme des TLRs et la susceptibilité aux infections fongiques. Ainsi, le polymorphisme du gène TLR4 (Asp229Gly) serait associé au développement de candidoses invasives et d'aspergilloses pulmonaires chroniques (Carvalho, *et al.*, Van der Graaf, *et al.*, 2006). En absence de mutation, les TLRs jouent également un rôle modulateur, à l'image du TLR9 dans le cas d'une infection à *Candida* (Kasperkovitz, *et al.*, 2011). Les polymorphismes du TLR1 (Arg80Thr et Asn248Ser) ainsi que du TLR6 (Ser249Pro) ont été rapportés dans l'aspergillose invasive chez le patient transplanté (Carvalho, *et al.*), son implication dans les candidémies a été également suggérée par Plantinga *et al* (Plantinga, *et al.*, 2012).

L'ensemble de ces études d'associations montre un rôle primordial des TLRs dans la reconnaissance et l'initiation des mécanismes de défense anti-fongique, néanmoins des interactions avec des co-récepteurs comme la dectine 1 (Brown, *et al.*, 2003), CD14 (Tada, *et al.*, 2002) ou encore la galectine 3 (Jouault, *et al.*, 2006) seraient nécessaires pour aboutir à une réponse anti-*Candida* optimale.

La dectine 1

Le récepteur des β -glucanes, la dectine 1, possède un domaine lectinique de type C unique (CTLD) qui reconnaît un grand nombre d'espèce fongiques (Giles, *et al.*, 2009, Reid, *et al.*, 2009). En réponse au champignon, la dectine 1 induit une signalisation intracellulaire complexe aboutissant à l'activation des Syk kinases, de PLC γ 2 et Card9 (Reid, *et al.*, 2009, Xu, *et al.*, 2009). Parallèlement, la dectine 1 pourrait servir de médiateur pour l'activation de la calcineurine, une phosphatase qui possède une activité critique pour le contrôle des infections fongiques (Greenblatt, *et al.*). L'induction de ces voies de signalisation résulte de la production de cytokines et

de chémokines comme le GM-CSF, le TNF, CXCL2, l'IL-2, l'IL-10, l'IL-6, l'IL-23 et l'IL-1 β , mais également l'acide arachidonique relargué par la production de prostaglandine. Dans tous les phagocytes, la dectine 1 peut collaborer avec les TLRs pour moduler la production des cytokines de manière cellule dépendante (Reid, *et al.*, 2009). En effet, le déclenchement de la synthèse de cytokines est possible chez les CD4 mais pas chez les macrophages bien que ces récepteurs permettent la liaison avec les champignons dans ces deux types cellulaires (Goodridge, *et al.*, 2009).

Différentes études ont montré le rôle clé de la dectine 1 dans l'immunité antifongique chez des souris immuno-déficientes dans le cas d'infections à *C. albicans*, *A. fumigatus* ou *Pneumocystis carinii* (Saijo, *et al.*, 2007, Werner, *et al.*, 2009). De plus, une mutation homozygote du gène dectine 1 chez l'homme (Y238X) a été décrite (Plantinga, *et al.*, 2009) comme responsable d'une mauvaise conformation de ce récepteur ainsi qu'une perte d'expression de celui-ci à la surface des cellules rendant les patients particulièrement sensibles aux infections muco-cutanées à *C. albicans* et *Trichophyton rubrum* (Ferwerda, *et al.*, 2009) ainsi qu'aux aspergilloses (Chai, *et al.*, 2011). Les individus avec des mutations de Card9 montrent le même profil de susceptibilité (Glocker, *et al.*, 2009).

Des études récentes ont également montré le rôle prépondérant de la dectine 1 dans l'induction de la voie Th17, importante dans la lutte anti-*Candida* (Cheng, *et al.*, 2011).

Le Mannose Récepteur

Le mannose récepteur (MR ou encore CD206) est un des premiers PRRs fongiques à avoir été identifié comme étant capable de reconnaître des motifs glycosidiques de la paroi fongique comme le mannane (Gazi, *et al.*, 2011). Le MR possède 8 CTLDs capables de reconnaître *C. albicans*, *C. neoformans*, et *P. jirovecii* en dépit du manque de motifs de signalisation classique dans sa partie cytoplasmique. Le MR est impliqué dans l'induction de la production de cytokines comme l'IL-6, le TNF α , CCL2, GM-CSF, l'IL-1 β , l'IL-12 et l'IL10 (Willment and Brown, 2008). Une relation fine entre le TNF α et une surexpression de MR en modèle souris

a même été montrée induisant une clearance accrue de *Candida* (Geraldino, *et al.*, 2010).

Bien qu'il existe une forme du MR soluble générée par clivage protéolytique dans le sérum, la majorité est localisée au niveau intracellulaire dans la voie endocytaire (Heinsbroek, *et al.*, 2008). Dans les modèles *C. albicans*, et *P. jirovecii*, une déficience dans le MR chez la souris a un impact moins significatif en termes de gravité de l'infection que les autres PRRs précédemment évoqués (Lee, *et al.*, 2003, Swain, *et al.*, 2003).

DC-SIGN

Le DC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin) humain (CD209), possède un CTLD extracellulaire unique, une région charnière capable de multimériser le récepteur et un domaine cytoplasmique contenant les motifs d'internalisation. Ce récepteur est capable de reconnaître un grand nombre d'espèces fongiques (Mansour, *et al.*, 2006). Il existe de nombreux homologues murins de ce récepteur, mais seulement SIGNR1 et SIGNR3 peuvent reconnaître les champignons (Takahara, *et al.*, 2004). De plus, le rôle majeur de DC-SIGN lors d'aspergillose pulmonaire invasive a été clairement établi par une large étude prospective portant sur le polymorphisme DC-SIGN chez les patients d'hématologie (Sainz, *et al.*, 2012).

DC-SIGN peut induire une signalisation intracellulaire par la voie des kinases Raf-1 mais le récepteur n'apparaît pas comme capable d'induire la production de cytokine directement chez les phagocytes. Néanmoins, DC-SIGN semble apte à moduler la production de cytokine par l'intermédiaire des TLRs (Gringhuis, *et al.*, 2007).

Les scavengers récepteurs

Les scavenger récepteurs CD36 et SCARF1 ont été identifiés comme PRRs vis-à-vis de *C. albicans* et *Cryptococcus neoformans* mais également *P. carinii* (Hollifield, *et al.*, 2007). Ils sont capables d'induire la production de cytokine bien que la voie de signalisation intracellulaire amène à des réponses encore inconnues (Means, *et al.*, 2009). CD36, en particulier, est nécessaire pour la production de l'IL-

1 β , le TNF, l'IL-12p40, CXCL2, CCL3, CCL4 et CCL5 en réponse à ces pathogènes, et une perte de CD36 conduit à une augmentation de la susceptibilité aux infections systémiques à *C. neoformans* (Means, *et al.*, 2009).

Les protéines Nod

Les protéines Nod (Nucleotide Oligomerization Domain) sont des protéines intracellulaires, appartenant aussi à la famille des PRRs. Ces protéines jouent un rôle de sentinelle dans le milieu intracellulaire en détectant des composants microbiens tels que le peptidoglycane des bactéries. Des données récentes ont montré que Nod2 module la voie TLR2 (Watanabe, *et al.*, 2004). Nod2 aurait un effet synergique avec TLR2 ou TLR4 (Netea, *et al.*, 2005). Ces interactions entre Nod2 et les TLRs, spécifiquement impliquées dans la reconnaissance de *C. albicans*, laissent envisager un rôle de Nod2 dans la reconnaissance et la défense de l'hôte envers les agents fongiques. Les travaux menés jusqu'à présent n'ont cependant pas pu confirmer cette hypothèse (van der Graaf, *et al.*, 2006). De manière surprenante, il a été montré que le muramyl-dipeptide, sous-unité du peptidoglycane bactérien, était susceptible d'activer une adénylate cyclase de *C. albicans* (Cyr1p) par liaison directe sur son domaine répété riche en leucine. La protéine Cyr1 est un composé clé dans la voie de signalisation cAMP/PKA, qui contrôle, entre autres, la formation des hyphes chez *C. albicans* (Xu, *et al.*, 2008).

La galectine 3

Les galectines sont des protéines susceptibles de reconnaître les glycanes conservés durant l'évolution avec un rôle pleiotropique dans l'immunité innée et adaptative (Rabinovich and Toscano, 2009, Vasta, 2009). A ce jour, 15 galectines ont été identifiées chez les mammifères. Elles partagent une conformation structurale ainsi qu'un domaine conservé d'environ 130 acides aminés (CRD) reconnaissant les glucides (Rabinovich and Toscano, 2009, Vasta, 2009). Les galectines sont classées en fonction de leurs similitudes structurales comme une conformation monomérique/dimérique et la présence d'une région CRD (galectine 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14 et 15) ou comme galectines répétées en tandem (galectine 4, 6, 8, 9 et 12) avec deux CRD différents séparés par une séquence de liaison.

La galectine 3, est une chimère qui contient un CRD connecté à une région non lectinique amino-terminale (Rabinovich and Toscano, 2009, Vasta, 2009). Ces lectines endogènes ont une distribution tissulaire large et intracellulaire à la fois dans le noyau et dans le cytoplasme de différents types de cellules. Toutefois, les galectines sont également sécrétées par une voie non classique et peuvent être associées à la surface des cellules ou dans le milieu extracellulaire, où elles jouent un rôle essentiel dans la signalisation et la survie cellulaire, la différenciation, le remodelage de la matrice extracellulaire et l'homéostasie des cellules immunitaires (Rabinovich and Toscano, 2009, Vasta, 2009).

La galectine 3, en particulier, est impliquée dans l'adhésion et la chimiotaxie des monocytes et des neutrophiles (Nieminen, *et al.*, 2008) ainsi que dans la modulation de la production de cytokines (Ruas, *et al.*, 2009), la régulation de la viabilité des cellules T (Stowell, *et al.*, 2008) et la différenciation des cellules B (Oliveira, *et al.*, 2009). En outre, la galectine-3 serait impliquée dans la reconnaissance des agents pathogènes par le biais de liaison spécifique aux structures glycaniques de surface (Vasta, 2009).

Elle reconnaît par exemple, le lipophosphoglycane à la surface des *Leishmania* (Pelletier and Sato, 2002), le LacdiNAc (GalNAcb1, 4Glc-NAc) sur *Schistosoma mansoni* (van den Berg, *et al.*, 2004) et les β 1,2 mannosides chez certaines espèces de *Candida* (Fradin, *et al.*, 2000). Cette interaction conduirait à l'activation de l'immunité innée ainsi qu'à la destruction microbienne (Vasta, 2009). Certaines hypothèses laissent même suggérer une coopération avec d'autres récepteurs lectiniques comme la dectin 1 pour médier une réponse cytokiniques adaptée (Esteban, *et al.*, 2011). Son rôle dans la régulation des mécanismes de défense demeure partiellement inconnu (Toscano, *et al.*).

Les PRRs agissent donc de concert comme immuno-modulateurs de la synthèse de cytokines et de chémokines indispensables à la protection anti-fongique. En effet, celle-ci requiert le recrutement et l'activation des phagocytes qui est initiée par l'induction et l'interaction avec les cytokines et les chémokines requises pour le développement de l'immunité adaptative de type Th1 et Th2 ou Th17.

Les lectines solubles

La pentraxine 3, les surfactants A et D, les ficolines ainsi que la MBL sont les représentants majeurs de cette famille. Elles sont capables de reconnaître et d'interagir avec un large spectre de pathogènes (bactéries, champignons, parasites, virus) et d'initier l'immunité adaptative par recrutement des cellules phagocytaires via un processus d'opsonisation.

Les surfactants A et D

La famille des protéines surfactants (SP) est composée de quatre membres, SP-A, SP-B, SP-C et SP-D. Il a été montré que ces protéines joueraient un rôle prépondérant dans la régulation du métabolisme lipidique, membranaire, la diminution de la réponse aux allergènes, la présentation des antigènes par les cellules dendritiques, la modulation de la synthèse des espèces réactives de l'oxygène et du nitrogène ainsi que dans la défense pulmonaire aux pathogènes (Kuroki, *et al.*, 2007, Kuroki and Voelker, 1994). SP-B et SP-C sont extrêmement hydrophobes et jouent un rôle critique dans les propriétés biophysiques du surfactant (Whitsett and Weaver, 2002) mais n'interviendraient pas dans la défense anti-infectieuse.

SP-A et SP-D, quant à eux, sont solubles dans l'eau et font partie de la superfamille des lectines de type C et plus précisément du sous groupe des collectines. Ce sont donc des protéines lectiniques collagèneuses d'origine hépatiques, liant les carbohydrates, et sécrétées dans la circulation sanguine. Comme chaque membre de la famille des C-lectines, SP-A et SP-D possèdent un domaine liant les carbohydrates terminaux (CRD) connecté à un bras collagèneux par une extrémité N-terminale (Gupta and Surolia, 2007). De plus, ils augmentent l'opsonisation, l'emballement respiratoire, le recrutement des leucocytes et affectent la production des cytokines ainsi que la prolifération des lymphocytes (Brummer and Stevens, 2010). De structure similaire, les SP-A et SP-D sont composés de quatre domaines : (i) un domaine N-terminal qui contient une cystéine impliquée dans la formation des ponts disulfures, (ii) un domaine collagèneux consistant en une répétition de Gly-X-Y, (iii) une « neck region » avec une partie courte hydrophobe

d'acides aminés et une hélice amphipatique et (iv) un domaine lectinique de type C. Chaque monomère protéique est assemblé en une triple hélice par le domaine collagèneux. Six trimères de SP-A sont oligomérisés pour former une structure en bouquet alors que quatre trimères de SP-D sont suffisants pour former une structure cruciforme (Kuroki, *et al.*, 2007).

SP-A interagit de manière spécifique avec le N-acétyl mannosamine, le L-fucose, le maltose ainsi que les lipides alors que SP-D lie préférentiellement le maltose puis le mannose et le glucose. La capacité de ces protéines à reconnaître les sucres pariétaux ou membranaires en font des acteurs importants dans la reconnaissance précoce et l'initiation de la clearance des bactéries (Gold, *et al.*, 2004, Schaeffer, *et al.*, 2004), des champignons (Atochina, *et al.*, 2004, Madan, *et al.*, 1997, van Rozendaal, *et al.*, 2000) et des virus (Hartshorn, *et al.*, 1996).

Dans le modèle *Candida*, les mécanismes exacts impliquant SP-A lors de la clearance fongique sont inconnus. SP-D quant à lui serait capable d'induire l'agrégation des levures causant l'inhibition de la croissance des formes levures et hyphes (van Rozendaal, *et al.*, 2000).

La pentraxine 3

La pentraxine 3 (PTX3) est un PRR soluble impliqué dans la médiation de la reconnaissance du système immunitaire inné (Garlanda, *et al.*, 2005). PTX3 est une glycoprotéine de 45kDa de structure octamérique avec un protomère lié par des ponts disulfures (Inforzato, *et al.*, 2008). Elle présente des similarités structurales avec les pentraxines courtes classiques comme la protéine C-réactive (CRP) et le composant P de la protéine amyloïde sérique tandis que la séquence N-terminale diffère des autres protéines (Bottazzi, *et al.*, 1997). La PTX3 est sécrétée par les cellules myéloïdes. Elle est également retrouvée *in vitro* lors des processus inflammatoires. (Mantovani, *et al.*, 2008). Durant l'inflammation la PTX3 est rapidement surexprimée et relarguée dans les tissus environnants ainsi que dans la circulation sanguine. Cette protéine interagit avec le C1q et participe à l'activation de la voie classique du complément (Bottazzi, *et al.*, 1997, Nauta, *et al.*, 2003). En outre,

il a également été montré que la PTX3 lie le facteur H régulateur du complément et que cette interaction régule la voie alternative du complément (Deban, *et al.*, 2008). Cette lectine est capable d'interagir avec un grand nombre de pathogènes (bactéries (Mantovani, *et al.*, 2008), champignons (Garlanda, *et al.*, 2005, Gaziano, *et al.*, 2004), virus (He, *et al.*, 2007)).

La PTX3 aurait également un rôle dans la lutte anti-pathogènes en agissant en synergie avec la famille des ficolines pour activer la cascade du complément (Ma, *et al.*, 2009).

Les ficolines

Les ficolines sont des protéines multimériques collagèneuses constituées d'un domaine N-terminal, un domaine collagèneux et un domaine C-terminal like impliqué dans la défense immunitaire innée (Endo, *et al.*, 2007, Runza, *et al.*, 2008). Chez l'homme, trois types de ficolines ont été identifiées : la Ficoline-1 (M-ficolin), la Ficoline-2 (L-ficolin) et la Ficoline-3 (H-ficolin ou l'antigène Hakata) (Hummelshoj, *et al.*, 2008). Les ficolines 2 et 3 sont sécrétées dans la circulation sanguine. Pour la ficoline 2, sa synthèse est essentiellement hépatique alors que la ficoline 3 est produite majoritairement dans les poumons et minoritairement dans le foie (Hummelshoj, *et al.*, 2008). La ficoline 1 est quant à elle principalement exprimée par les cellules dérivées de la moelle osseuse, les cellules de l'épithélium pulmonaire (Hummelshoj, *et al.*, 2008, Teh, *et al.*, 2000). Elle serait également présente dans la circulation sanguine (Honore, *et al.*, 2008).

La ficoline 1 (Frederiksen, *et al.*, 2005), la ficoline 2 (Ma, *et al.*, 2004) et la ficoline 3 (Krarup, *et al.*, 2005) sont impliquées dans la reconnaissance d'un large panel de PAMPs présents à la surface de la plupart des pathogènes.

La MBL

La Mannose-binding lectin (MBL) fait partie de la famille des collectines caractérisées par la présence d'un domaine collagèneux et d'un domaine lectinique (Holmskov, *et al.*, 2003).

Chez l'homme le gène codant la MBL est nommé MBL-2 ou COLEC2 pour « collectin subfamily member 2 ». Un pseudogène (MBL1P1) est également présent chez l'homme (Guo, *et al.*, 1998). Ces deux gènes proviennent d'une duplication ancestrale (Sastry, *et al.*, 1995). Chez la souris, deux formes différentes de MBL sont encodées par deux gènes fonctionnels appelées *mbl-a* et *mbl-c* présents respectivement sur les chromosomes 14 et 19 (White, *et al.*, 1994).

Chez l'homme les deux gènes analogues sont présents sur le chromosome 10 (10q11.2-q21) (Guo, *et al.*, 1998, Sastry, *et al.*, 1989).

Synthèse, régulation et polymorphisme

La protéine MBL est synthétisée par les hépatocytes avant d'être libérée dans la circulation sanguine. En plus de sa forme circulante, un pool intracellulaire a été découvert dans des vésicules au sein du réticulum endoplasmique et du complexe protéique II (COPII) et pourrait jouer un rôle dans le contrôle de la qualité protéique (Nonaka, *et al.*, 2007). Néanmoins quelques études montrent une synthèse extra-hépatique de la MBL au niveau de l'intestin (Muller, *et al.*, 2010) et de l'endothélium vaginal (Bulla, *et al.*, 2010). Ces données fondées sur l'expression des ARNm restent néanmoins à confirmer en évaluant le taux de protéine présent *in situ*.

Indépendamment de son lieu de production, l'expression de la MBL fonctionnelle est déterminée d'un point de vue génétique. Trois polymorphismes communs ont été trouvés sur les codons 52, 54 et 57 (Lipscombe, *et al.*, 1992, Madsen, *et al.*, 1994, Sumiya, *et al.*, 1991) et correspondent à des substitutions d'un nucléotide : arginine/cystéine, glycine/acide aspartique et glycine/acide glutamique, respectivement. Ces mutations influent sur le domaine collagèneux et altèrent la capacité de la MBL à s'oligomériser. Ces mutations sont appelées allèles D, B et C respectivement. Deux polymorphismes (H/L et Y/X) ont également été largement étudiés sur la région promotrice et déterminés comme ayant un rôle régulateur de l'expression protéique (Madsen, *et al.*, 1995) (figure 7).

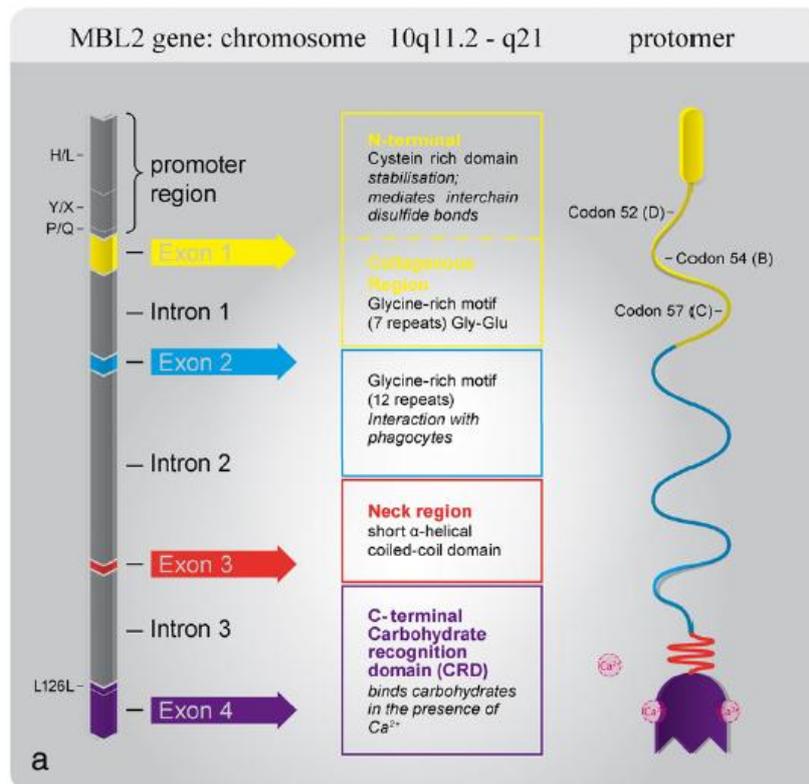


Figure 7. Organisation du gène MBL-2 et localisation des différents polymorphismes (Heitzeneder, *et al.* 2012)

Différentes combinaisons de ces polymorphismes résultent en une grande variation interindividuelle en termes de concentration de MBL sérique chez des individus sains comme chez les malades.

Les mutations du gène MBL2 sont associées à des infections microbiennes récurrentes (Sumiya, *et al.*, 1991). En effet, des taux faibles de MBL sérique ou des génotypes faiblement producteurs sont associés à une susceptibilité accrue à certains microorganismes, en particulier dans des situations où l'immunité adaptative est compromise (période néonatale ou patients rendus neutropéniques par chimiothérapie) (Kilpatrick, 2002, Turner, 2003).

Contrairement à l'archétype des protéines de phase aiguë comme l'amyloïde P sérique ou la CRP pour lesquels les taux sériques peuvent augmenter de 10 à 1000 fois durant l'inflammation, la concentration de MBL sérique est relativement constante chez les individus et déterminée par les polymorphismes décrits ci-dessus. Néanmoins, le taux sérique de MBL peut augmenter de 2 à 3 fois en cas d'infection

ou de challenge inflammatoire bien que ce dernier point soit soumis à controverse (Joossens, *et al.*, 2006, Seibold, *et al.*, 2004, Thiel, *et al.*, 1992)

Structure, multimérisation et liaison aux carbohydrates

La MBL consiste en un multimère de chaîne polypeptidique de 32 kDa. Chaque chaîne comprend 4 régions distinctes, une région N-terminale riche en cystéine, un domaine collagèneux, un court domaine bispiralé d'hélices α , la « neck-région » et la région CRD C-terminale. Trois chaînes polypeptidiques forment une triple hélice par la région collagèneuse, stabilisée par des interactions hydrophobes et des ponts disulfures interchaînes au niveau de la région N-terminale riche en cystéine (Sheriff, *et al.*, 1994). Cette forme trimérique est la sous-unité circulante de base de la MBL. Dans le sérum, la MBL consiste en des oligomères de sous unités, allant du dimère à l'hexamère. Il semble clair que les hauts niveaux d'oligomérisation sont les formes effectives en terme de fonctionnalité protéique, par exemple, lors de l'interaction avec les glycanes ou l'activation du complément à la surface des agents microbiens (Lu, *et al.*, 1990, Yokota, *et al.*, 1995) (figure 8).

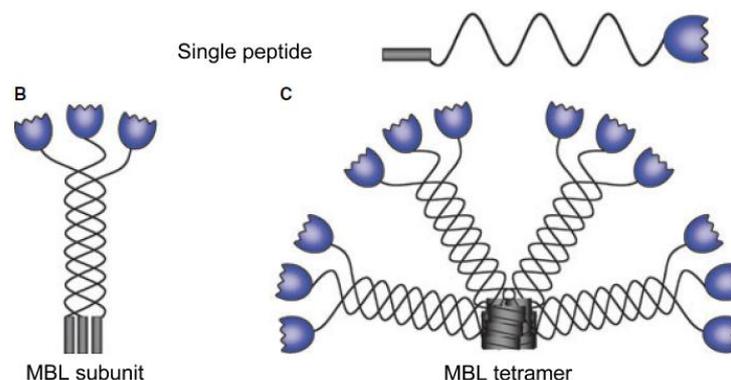


Figure 8. Structure de la Mannose-binding lectin (Ip, *et al.*, 2009)

Comme l'ensemble des autres collectines, la MBL possède une liaison calcium dépendante avec les D-mannoses terminaux, L-fucose et GlcNac, mais n'interagit ni avec le D-galactose ni avec les acides sialiques (Drickamer, 1992, Weis, *et al.*, 1992). Cette sélectivité repose sur la présence de résidus conservés d'acides aminés

dans les CRDs. Ce dernier contient un motif d'acide aminé EPN (Glu-Pro-Asn) (Drickamer, 1992) qui apporte une préférence de liaison avec les sucres équatoriaux avec des groupements 3- et 4-hydroxyl (OH) comme le D-mannose, le L-fucose et le GlcNac. Tous ces sucres sont communément présents à la surface d'un large spectre de microorganismes et les répétitions multiples de ces motifs offrent une cible optimale de liaison à la MBL. Des études structurales ont montré que, chez l'homme, les trois sites de liaison aux sucres d'une sous-unité de MBL sont séparés par une distance constante de 45 acides aminés (Sheriff, *et al.*, 1994, Weis and Drickamer, 1994). Cette configuration offre ainsi une plateforme multiple, plate et simultanée de reconnaissance des sucres. En plus de l'affinité de la MBL vis-à-vis des sucres, il a été démontré que cette lectine est également capable de reconnaître les phospholipides (Kilpatrick, 1998) et les acides nucléiques (Palaniyar, *et al.*, 2004).

Reconnaissance et liaison par la MBL

Les premières observations d'interaction de la MBL avec des micro-organismes datent des années 50 quand Sir Frank Macfarlane Burnet (Burnet, 1948) et John McCrea (Mc, 1948) ont identifié trois inhibiteurs sériques (appelés α , β et γ) capables d'inactiver le virus de la grippe. Les études ultérieures ont permis d'identifier l'inhibiteur sérique β comme la protéine MBL (Anders, *et al.*, 1990).

La MBL est maintenant connue pour sa capacité de liaison à un large spectre de microorganismes incluant les bactéries Gram-positives et négatives (Jack, *et al.*, 1998, Smithson, *et al.*, 2008), les virus (Chang, *et al.*, 2010, Seppanen, *et al.*, 2009), les champignons (Babula, *et al.*, 2003, Crosdale, *et al.*, 2001, Damiens, *et al.*, 2012, Lambourne, *et al.*, 2009) et les parasites (Eisen and Minchinton, 2003, Lee, *et al.*, 2002).

Au sein du règne fongique, quelques études réalisées par microscopie à fluorescence ont montré une reconnaissance des cellules entières par MBL aussi bien sur les blastoconidies que sur les formes germinatives de levures (Lillegard, *et al.*, 2006).

Le caractère ubiquitaire des motifs à mannose sur les cellules eucaryotes a soulevé plusieurs interrogations sur la reconnaissance de ces motifs par la MBL. La discrimination entre les structures de l'hôte et celles des microorganismes semble être dépendante de l'orientation des groupements hydroxyle sur les carbones en positions 3 et 4, sur les motifs saccharidiques et sur l'absence de reconnaissance des acides sialiques présents sur les glycoprotéines de mammifères (Ezekowitz, 2003).

MBL et soi modifié

La MBL est capable de différencier les cellules du soi des cellules du soi modifié qui exposent des motifs glycoprotéiques altérés. Cette lectine joue donc un rôle dans la reconnaissance et la clearance des cellules apoptotiques et nécrotiques en facilitant la phagocytose (Ogden, *et al.*, 2001). La déficience en MBL serait donc à l'origine d'une accumulation de cellules apoptotiques pouvant conduire à des maladies auto-immunes (Stuart, *et al.*, 2005). Après fixation à ce type de cellules, la MBL peut initier la cascade du complément pour permettre leurs élimination (Hart, *et al.*, 2005). La MBL serait également impliquée dans la clearance des cellules tumorales (Muto, *et al.*, 1999, Muto, *et al.*, 2001).

MBL et activation du complément

Une des fonctions principales de la MBL est l'initiation de la voie des lectines du système complément par coopération avec les MBL-associated serine proteases (MASPs) (Endo, *et al.*, 2006, Holmskov, *et al.*, 2003). Il y a 4 MASPs appelées MASP-1, MASP-2, MASP-3 et MAP19. MASP-1 et MASP-2 sont codées par des gènes distincts alors que MASP-3 et MAP19 sont les produits d'un épissage alternatif de MASP-1 et MASP-2 respectivement. Seuls MASP-1 et MASP-2 possèdent un domaine serine protéase (Matsushita, *et al.*, 2000) leurs conférant une activité directe sur le complément alors que les autres MASPs auraient plutôt un rôle de régulateur. La reconnaissance des motifs saccharidiques par la MBL permet l'initiation de l'auto activation de MASP-2 et la formation d'un hétérodimère MBL/MASP2 capable de

cliver directement le C4 et le C2 pour former la C3 convertase (C4bC2a). MASP-1 est capable de cliver uniquement les fractions C2 et C3 (Matsushita, *et al.*, 2000) par l'intermédiaire de la région collagèneuse de la MBL (Super, *et al.*, 1992). La cascade du complément est représentée schématiquement en figure 9.

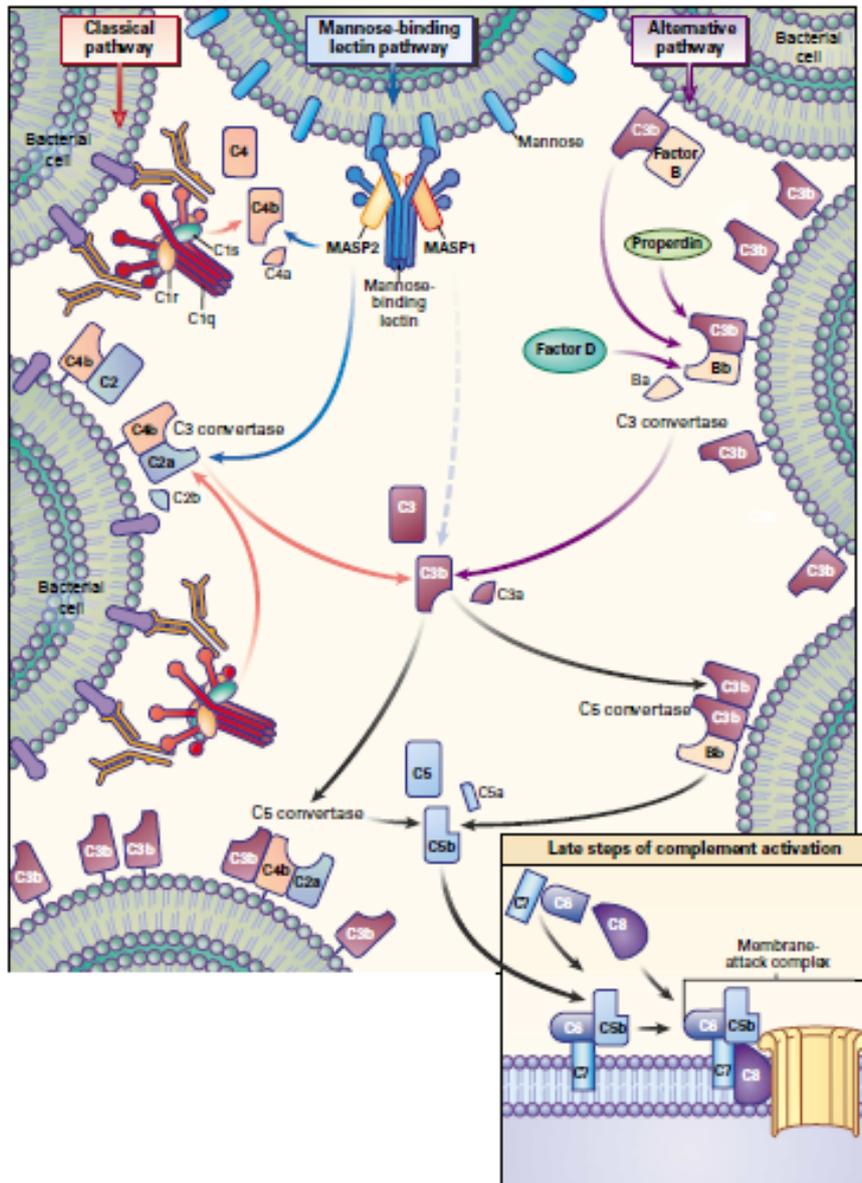


Figure 9. Représentation schématique de la cascade du complément (Walport, 2001)

Une étude récente a également montré l'implication du complexe MBL/MASPs dans l'hémostase et la coagulation lors des infections (Takahashi, *et al.*, 2011).

MBL et défense cellulaire

Durant la phase de dissémination microbienne, les cellules phagocytaires présentes de manière constitutive, reconnaissent et internalisent les microbes. Au cours de ce processus, certains médiateurs de l'immunité, capables de se fixer sur les pathogènes, jouent le rôle d'opsonine pour faciliter l'initiation de la phagocytose. En effet, dans un contexte physiologique, les opsonines comme la MBL contribuent significativement à l'élimination des pathogènes ainsi que des cellules apoptotiques *in vivo* (van Asbeck, *et al.*, 2008). Les études chez des souris KO pour les fractions du complément ou pour la MBL ont montré une réduction significative de la clearance microbienne et de l'élimination des cellules apoptotiques (Carter, *et al.*, 2007, Held, *et al.*, 2008).

Un grand nombre de preuves furent accumulées sur le rôle prépondérant de la MBL dans la modulation de l'inflammation (Chaka, *et al.*, 1997, Jack, *et al.*, 2001). En effet, des modèles d'études *in vitro* sur de la MBL issue de sang total ont démontré une initiation de la synthèse de cytokines comme le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 relargués en réponse à une infection par *Neisseria meningitidis*. Néanmoins, des sérums avec une plus forte concentration de MBL supprimaient la production de cytokines suggérant ainsi une possible régulation par la MBL des cytokines pro-inflammatoires issues des phagocytes. Cette hypothèse a été confirmée par différentes études *in vivo* d'infections à *Pseudomonas aeruginosa* (Moller-Kristensen, *et al.*, 2006) ou encore à *Staphylococcus aureus* (Shi, *et al.*, 2004).

En plus de la coopération entre la MBL et les cellules phagocytaires durant la phase d'opsonisation des microorganismes, d'autres travaux ont mis en évidence le rôle de cette lectine dans la régulation de la signalisation des PRRs ainsi que dans la production des cytokines. Une de ces études a démontré que la MBL coopère avec le TLR-2 et le TLR-6 pour augmenter l'activation de NF- κ B ainsi que la réponse cytokinique (Ip, *et al.*, 2008). Des explorations supplémentaires ont montré que la MBL est capable de se lier sur certains motifs bactériens tels que l'acide lipotéicoïque (LTA) des bactéries gram positif, rendant optimale l'exposition du LTA au TLR-2. Le même processus s'observe également pour le LPS (bactéries gram négatif) et son interaction avec le TLR4.

MBL et modèles animaux

Au vu de ces multiples fonctions et de l'action de cette lectine dans différents processus, qu'ils soient infectieux ou inflammatoires, la nécessité d'un modèle animal s'est imposée pour étudier finement les mécanismes de dégradation des microorganismes dépendant de la MBL et leur régulation *in vivo*. Les souris MBL- KO ont permis de démontrer clairement l'implication de cette collectine dans la maîtrise de la dissémination des infections virales (Chang, *et al.*), fongiques (Kaur, *et al.*, 2007) ou parasitaires (Lee, *et al.*, 2002).

Ces mécanismes constitutifs sont capables de limiter la dissémination des pathogènes par l'intermédiaire du complément et des phagocytes. Cependant, une clearance efficace nécessite une coopération étroite entre les médiateurs de l'immunité innée et adaptative.

L'immunité spécifique

Après initiation par la réponse immunitaire innée, une réponse secondaire est mise en place pour une immunité efficace et durable. Ce système de seconde ligne appelé aussi immunité adaptative, acquise ou encore spécifique fait intervenir deux types de réponses : l'immunité à médiation cellulaire dont les acteurs clés sont les lymphocytes T, B et les CPA, et l'immunité humorale médiée par les anticorps spécifiques sécrétés par les plasmocytes.

L'immunité à médiation cellulaire anti-Candida

L'immunité anti-*Candida* est basée sur une coopération entre l'immunité innée et l'immunité acquise à médiation cellulaire, où les macrophages et les cellules T jouent un rôle primordial, dans des proportions qui dépendent du site d'infection considéré (Dongari-Bagtzoglou and Fidel, 2005).

Les cytokines produites par les macrophages entraînent une différenciation des lymphocytes T qui transitent entre un état Th0 (non activé), Th1 ou Th2, conditionnant leurs caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles. En retour, ces

lymphocytes vont produire des cytokines particulières qui vont activer des cellules phagocytaires et des cellules B.

Au cours d'une infection par *C. albicans*, il est généralement accepté que les défenses de l'hôte sont principalement de type Th1, médiées par des cytokines telles que l'IL-12 et l'interféron-gamma (Romani, 2000). Ces cytokines sont impliquées dans l'activation des fonctions microbicides des cellules de l'immunité innée (sécrétion d'agents oxydants, dégranulation), et favorisent aussi la production d'anticorps anti-*Candida* (Johansen and Brandtzaeg, 2004). A l'inverse, une réponse de type Th2 est associée à une susceptibilité accrue à l'infection.

L'importance de l'immunité à médiation T-cellulaire est illustrée par la prévalence des infections orales chez les sujets à faible taux de lymphocytes T CD4+ (Fidel, 2002) mais également chez des souris CD4-KO montrant une susceptibilité importante aux candidoses chroniques, résolues lors d'une réversion de leur statut immunitaire par transfert adoptif avec une population de lymphocytes T CD4+ naïfs (Farah, *et al.*, 2002).

L'immunité à médiation cellulaire fait intervenir les cellules NK (Natural Killer) qui semblent jouer un rôle central dans l'immunité anti-*Candida*, en délivrant des signaux activateurs aux autres cellules immunitaires via la sécrétion de cytokines. Bien que ces cellules soient incapables de détruire directement *C. albicans in vitro*, il a été montré qu'elles pouvaient se substituer aux autres populations de cellules T en induisant l'activation des cellules phagocytaires et ainsi protéger l'animal d'une infection létale (Balish, *et al.*, 2001).

L'immunité à médiation humorale anti-Candida

La synthèse d'anticorps anti-*Candida* a été démontrée comme jouant un rôle central dans le contrôle de l'infection des muqueuses mais également lors des infections systémiques (Matthews and Burnie, 2001). En effet, ces anticorps seraient protecteurs vis-à-vis des pathologies candidosiques (Casadevall, 1995). Il est clairement établi que la grande majorité de ces anticorps fait partie de la classe des immunoglobulines G (IgG), mais la présence d'IgA a été également montrée au niveau des muqueuses (Johansen and Brandtzaeg, 2004). Néanmoins le rôle des anticorps dans la résistance aux candidoses reste très controversé en particulier en

raison de la difficulté à définir clairement leur spécificité antigénique (Cassone, *et al.*, 2005). En effet, des expériences de protection passive utilisant des sérums polyclonaux ont démontré que des anticorps spécifiques étaient protecteurs dans certaines études et non dans d'autres (Casadevall, 1995). Néanmoins, les mécanismes exacts par lesquels ces anticorps protègent l'hôte de l'infection sont encore mal connus. Le caractère protecteur de ces anticorps serait lié à leur capacité à inhiber la formation de tube germinatif, à favoriser l'opsonisation des pathogènes, ou à participer à la neutralisation des facteurs de virulence sécrétés par la levure tels que des enzymes (Casadevall, 1995). Ils seraient également impliqués dans l'inhibition de l'adhésion de *C. albicans* aux surfaces de l'hôte, et dans une moindre mesure le contrôle direct de la multiplication du pathogène.

Deuxième partie : contribution personnelle

Comme présenté précédemment, les espèces *Candida*, par leur aptitude à coloniser la muqueuse digestive des patients et à déterminer un processus infectieux souvent sévère, sont associées à une importante morbi-mortalité. Ces infections, qui touchent principalement les patients immunodéprimés et ceux des services de soins intensifs, constituent un réel problème de santé et un défi pour la médecine moderne qui utilise des techniques invasives ou des thérapeutiques immunosuppressives.

Pour pallier les complications induites par ces infections, la recherche d'outils susceptibles d'identifier précocement les patients à haut risque pourrait permettre une meilleure prise en charge des patients. En effet, le taux de survie aux candidoses invasives est fortement conditionné par le délai d'instauration du traitement antifongique. Dans ce contexte, toute amélioration des techniques alternatives à la culture aurait un impact direct sur l'issue de la maladie. De nombreuses études ont d'ailleurs été publiées ces dernières années sur l'utilisation de biomarqueurs fondées sur la détection des polysaccharides circulants ou d'anticorps dirigés envers des cibles de nature glycanique ou protéique. Ces molécules purifiées de cellules fongiques ou obtenues par génie génétique sont la cible d'une réponse humorale spécifique. Les tests développés sur ces bases permettent de pallier le manque de sensibilité des hémocultures et d'améliorer les performances diagnostiques de la détection d'antigènes circulants.

Outre ces médiateurs de l'immunité humorale, l'exploration des relations hôte/*Candida* pourrait également permettre d'identifier de nouveaux facteurs de risque permettant de stratifier les patients selon leur statut génétique vis-à-vis des gènes de l'immunité innée. Dans notre étude, cette exploration a concerné plus particulièrement le polymorphisme du gène MBL-2 codant pour une protéine impliquée dans la perception précoce des levures.

Les mutations survenant sur ce gène ont un impact variable sur la concentration de la MBL sérique et un déficit quantitatif de cette protéine a été rapporté comme facteur prédisposant aux candidoses vulvo-vaginales ou péritonéales. Cependant, l'étude cinétique des taux sériques de cette collectine au cours des candidoses invasives n'a jamais été envisagée. Les aspects fonctionnels de la protéine en particulier en présence de la cellule fongique restent encore inconnus. Ces travaux ont été abordés dans les différents manuscrits présentés ci-après.

Article 1 :
Antibody response against Candida albicans recombinant proteins and mannan antigenemia as sensitive and specific markers for invasive Candida infections

Inventeurs:

Damiens Sébastien

Fradin Chantal

Poulain Daniel

Sendid Boualem

Tabouret Marc

Cette étude a fait l'objet d'un dépôt de brevet européen (N°12305778.8 - 2404) intitulé « Method for diagnosing invasive Candida infections » conjointement déposé par Bio-Rad Innovations, le CHRU de Lille et l'Université Lille 2.

Article 2 :
**Mannose-Binding Lectin Levels and Variation During Invasive
Candidiasis**

**Sébastien Damiens, Julien Poissy, Nadine François, Julia Salleron, Samir
Jawhara, Thierry Jouault, Daniel Poulain et Boualem Sendid.**

Cet axe de recherche est présenté dans l'article suivant qui a fait l'objet d'une publication dans « the Journal of Clinical Immunology ».

Article 3 :

**Characterization of the recognition of *Candida* species by
mannose-binding lectin using surface plasmon resonance**

**Sébastien Damiens, Pierre Marie Danze, Anne-Sophie Drucbert, Thierry
Jouault, Daniel Poulain and Boualem Sendid**

Préambule

A ce jour, quelques études ont porté sur la reconnaissance des levures par la MBL en utilisant la microscopie (Lillegard, *et al.*, 2006) ou la cytométrie en flux (Jack, *et al.*, 2001, Neth, *et al.*, 2000) cependant aucune de ces techniques ne permet une mesure de l'intensité de cette interaction.

Ce type d'analyse est envisageable par résonance plasmonique de surface (SPR) qui a pour intérêt (i) de permettre l'utilisation de ligands/analytes non marqués, (ii) de mimer au mieux les conditions physiologiques d'interaction des protéines, (iii) de récupérer l'analyte après régénération de la sensor chip.

Principe de la SPR

Cette technologie en temps réel est fondée sur un principe d'optique. Un faisceau de lumière polarisée monochromatique est émis à travers un prisme situé sur une interface entre deux milieux d'indices de réfraction différents. Dans certaines conditions angulaires, il y a réfraction totale du faisceau lumineux. Le fait d'insérer un nanofilm d'or au niveau de l'interface aboutit à une capture de l'énergie qui est transmise à l'or sous forme d'agitation moléculaire associée à une onde dite « évanescente ». Cette onde se propage de façon perpendiculaire à l'interface sur une distance qui va définir la profondeur de détection. La capture d'énergie est vue par un « trou énergétique » en un angle précis de l'onde de réfraction. Cet angle, exprimé en RU (résonance unit) dépend de l'indice de réfraction du milieu ou toute modification de ce dernier (interactions moléculaires) pourra induire des variations d'angle quantifiables (Figure 10).

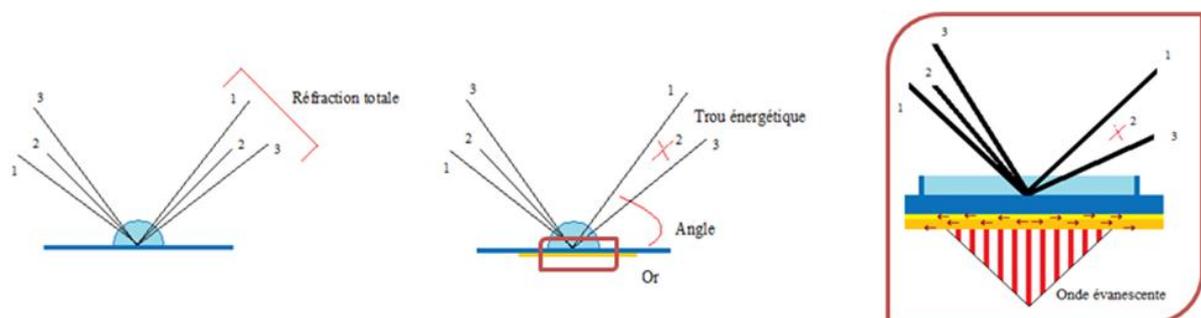


Figure 10. Principe de la SPR

Exemple de réponse SPR

Les étapes de l'analyse par SPR sont totalement analogues à celles des techniques de chromatographie : phase d'équilibration en tampon, phase d'association (injection), phase de dissociation (lavage) et phase de régénération (élution).

A partir d'un flux de tampon de course (étape 1), une injection d'un analyte permet un contact avec la molécule immobilisée sur la sensor chip (étape 2). En cas d'interaction, comme montré dans la figure 11, une augmentation du signal SPR est observée. La phase de dissociation consiste en un retour au tampon de course, permettant de visualiser la perte d'interaction non spécifique ligand/analyte (étape 3). La dernière étape permet de régénérer la sensor chip et de réutiliser ultérieurement la surface (étape 4).

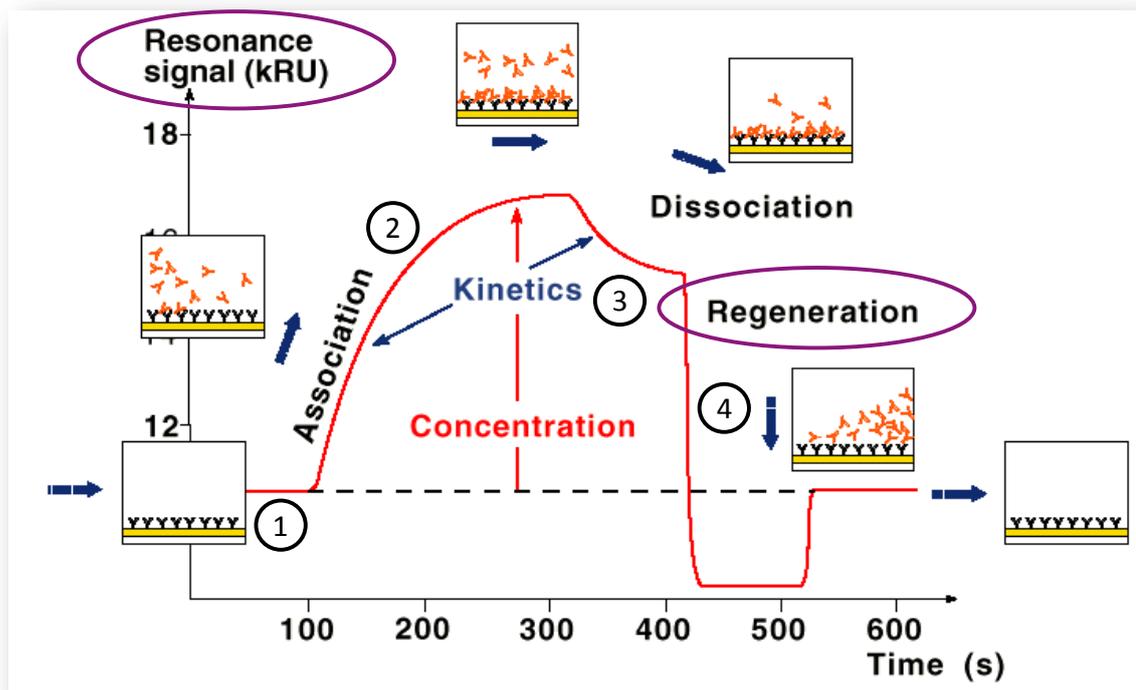


Figure 11. Sensorgramme d'une interaction ligands/analytes

Le signal de résonance est exprimé en RU, il est proportionnel à la quantité d'analyte fixée sur la molécule immobilisée. L'enregistrement de ce signal s'appelle le sensorgramme.

Test fonctionnel de la MBL

Dans cette étude, une sensor chip a été fonctionnalisée par de la MBL purifiée directement d'un sérum humain par chromatographie d'affinité en batch. En effet l'utilisation d'un gel d'agarose couplé au mannane a permis de purifier la MBL sérique en utilisant sa dépendance au calcium pour son élution (Figure 12).

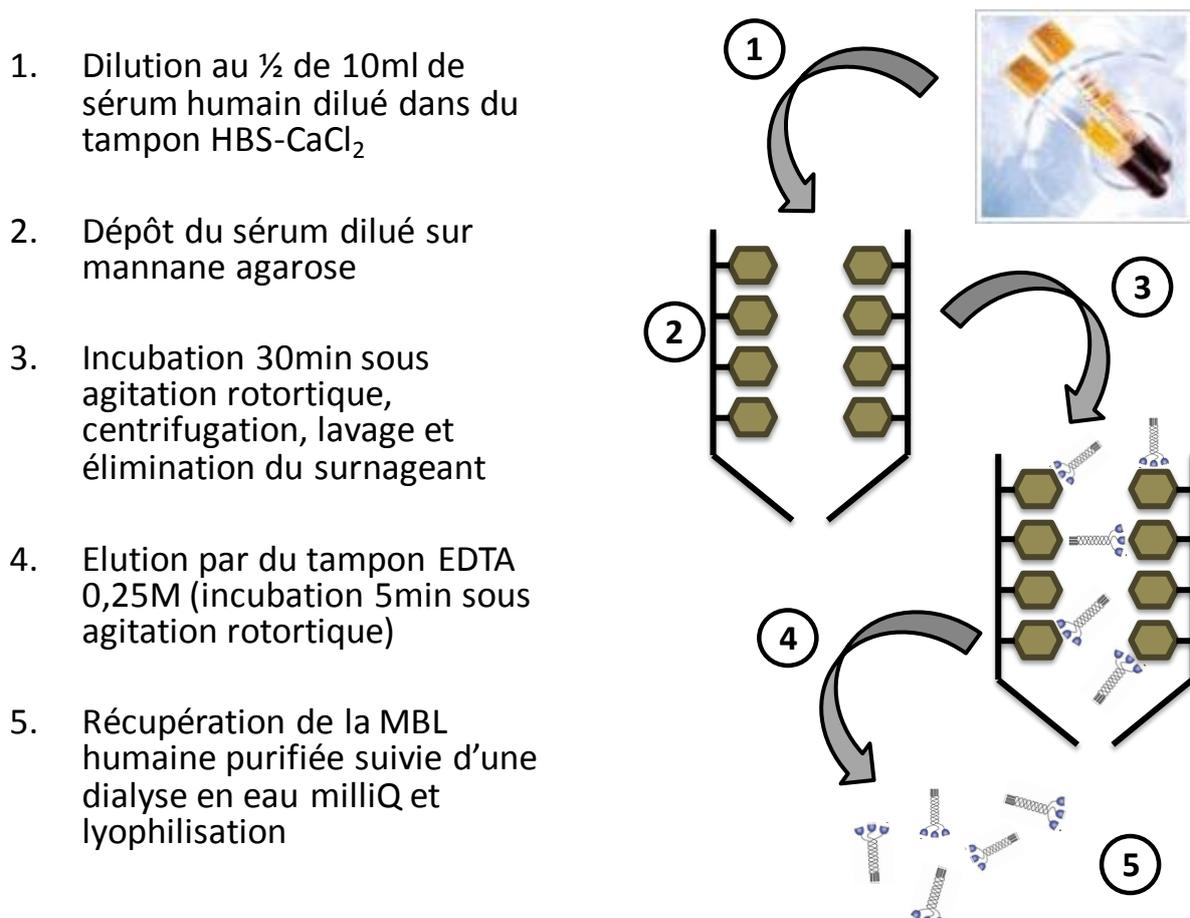


Figure 12. Schématisation de la technique de purification de la MBL sérique.

Cette lectine purifiée a été par la suite fixée de manière covalente sur une sensor chip par couplage amine (protocole NHS-EDC). Après stabilisation de la lame, différentes injections de levures vivantes non dénaturées issues de prélèvements biologiques humains ont été réalisées (Figure 13).

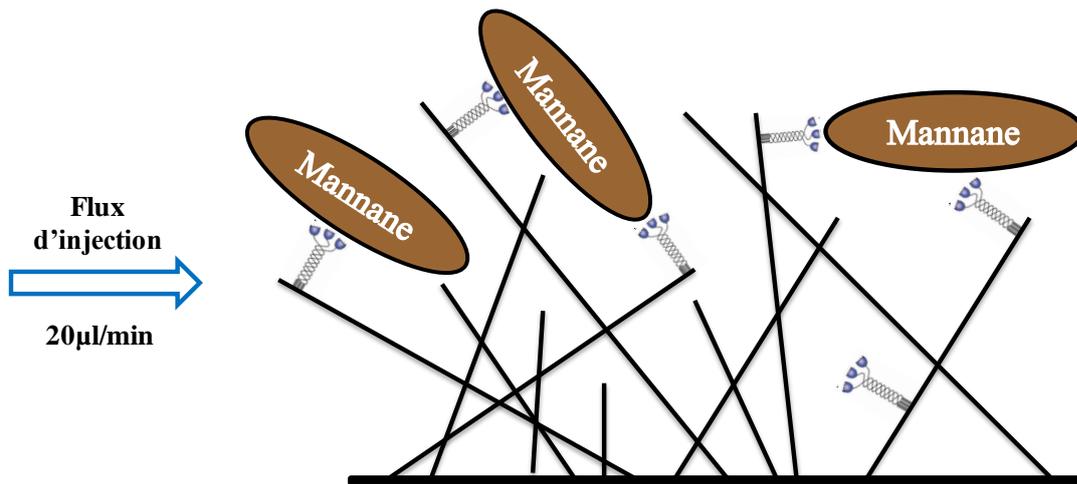


Figure 13. Schématisation d'une injection de levures sur la sensor chip fonctionnalisée par la MBL.

Cette étude, mimant les conditions physiologiques par l'utilisation de MBL native et de levures vivantes non marquées, avait pour but d'objectiver l'hypothèse émise par l'article précédent d'une complexation sérique de la MBL et des glycanes pariétaux de levures. De plus, la mise au point d'un test fonctionnel de la MBL apportait la possibilité de réaliser des analyses comparatives d'interaction entre différentes espèces de *Candida*.

L'ensemble de ces résultats est présenté dans l'article ci-dessous, soumis pour publication dans « Analyst ».

Résultats complémentaires

La paroi de *C. albicans* consiste en un réseau tridimensionnel complexe constitué de trois strates distinctes. Comme décrit précédemment, de l'extérieur vers l'intérieur, elle est respectivement composée de mannanes, de glucanes et de N-acetylglucosamines. Afin d'explorer plus finement l'interaction MBL/paroi de *Candida*, une étude comparative d'interaction avec ces différents types de sucres a été réalisée (Figure 14).

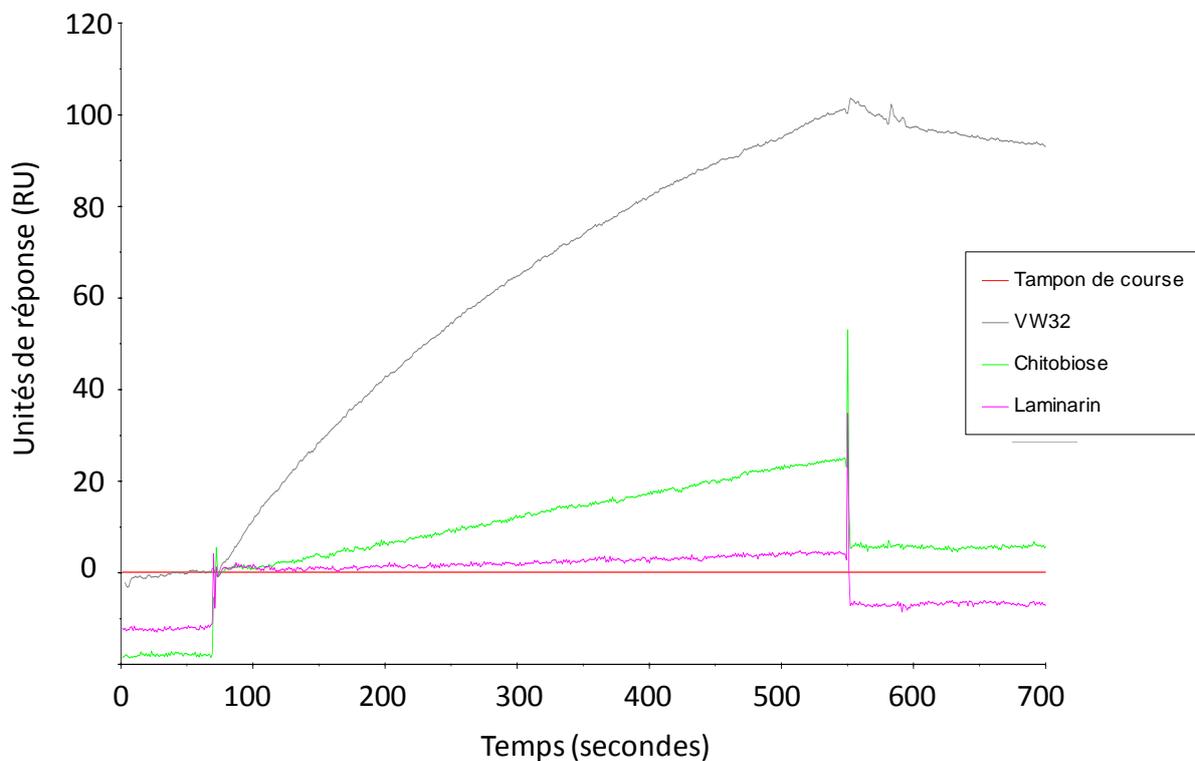


Figure 14. Cartographie pariétale de *C. albicans* par la MBL

Comme attendu, les profils obtenus montrent une interaction spécifique avec le mannane (97,6RU) et la chitine (10,2RU) et une absence totale d'interaction avec les

glucanes (0,3RU). L'interaction avec la chitine est faible montrant ainsi une reconnaissance préférentielle de la MBL vis-à-vis des groupements mannosylés.

Cependant le mannane reste un polymère saccharidique complexe et la reconnaissance épitopique précise de la MBL reste inconnue. Afin de répondre à cette question, des BSTOs (biotin sulfone targeted oligomannosides), obtenus par synthèse chimique, ont été impliqués à nouveau dans les expériences de SPR.

Ces oligomères de mannose liés en alpha ou en bêta ont permis d'affiner la caractérisation de l'interaction MBL-oligomannosides en termes de degré de polymérisation et d'anométrie de liaison. Le $\text{Man}\beta(1\rightarrow2)\text{Man}$, le $\text{Man}\beta(1\rightarrow2)\text{Man}\beta(1\rightarrow2)\text{Man}$, le $\text{Man}\beta(1\rightarrow2)\text{Man}\beta(1\rightarrow2)\text{Man}\beta(1\rightarrow2)\text{Man}$, le $\text{Man}\alpha(1\rightarrow2)\text{Man}$ et le $\text{Man}\alpha(1\rightarrow2)\text{Man}\alpha(1\rightarrow2)\text{Man}\alpha(1\rightarrow2)\text{Man}$, respectivement appelés Di- β , Tri- β , Tetra- β , Di- α et Tetra- α ont donc été injectés comme analytes (Figure 15).

Compte tenu de l'influence de la masse sur les réponses SPR, l'ensemble des signaux ont été normalisés en fonction du poids moléculaire de sucres (Figure 15a).

Des différences de réponse ont été observées entre les anomères α et β . A concentration identique, les Di et Tetra- α ont montré une réponse supérieure (12,2 et 9,5RU respectivement) aux Di et Tetra- β (1,3 et 6,4RU respectivement). L'anométrie et le degré de polymérisation ont donc un impact sur la reconnaissance par la MBL. Un sensorgramme type de l'interaction MBLh/BSTO sans normalisation est représenté dans la Figure 15b. Les différences de réponses obtenues entre les différents BSTOs sont également représentées sous forme de courbes de régressions suggérant une reconnaissance optimale du Di- α et d'une manière inattendue celle du tri-Man- β (Figure 15c).

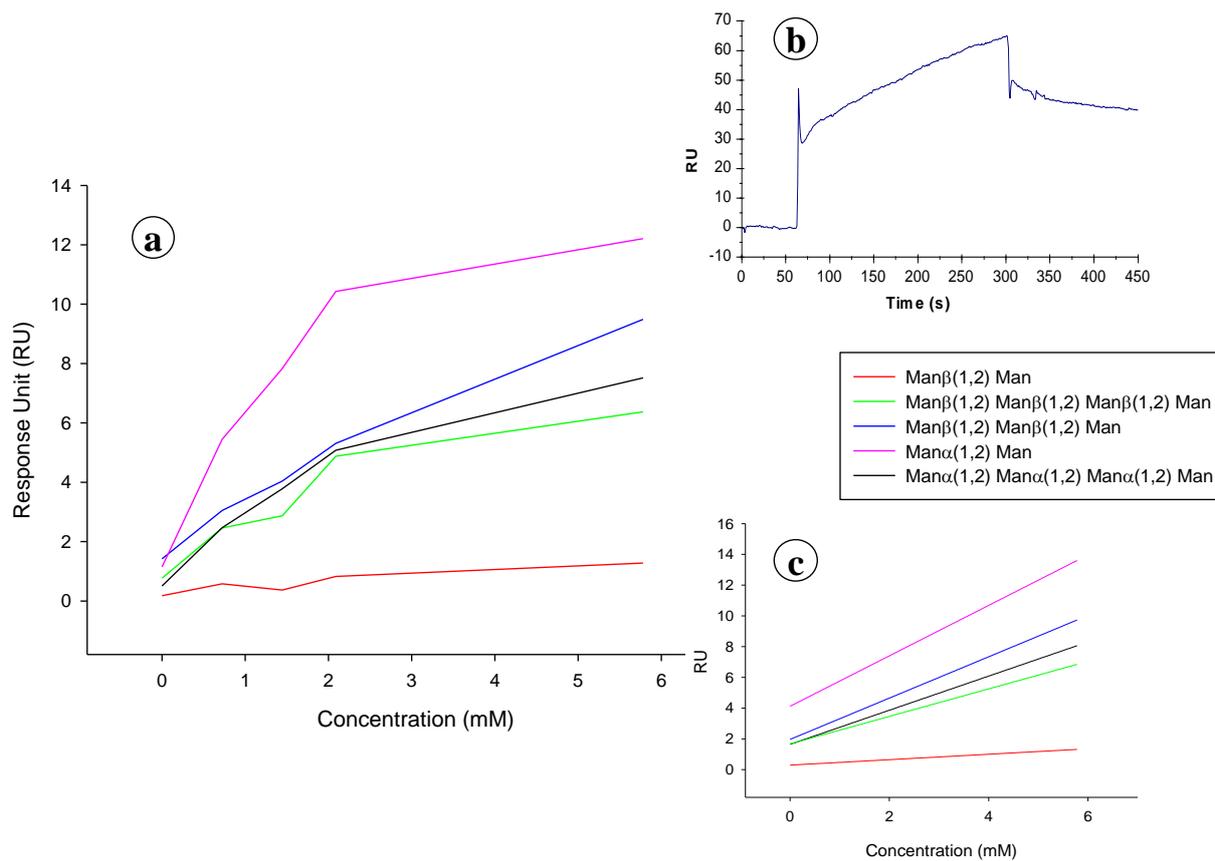


Figure 15. Détermination de l'anométrie et du degré de polymérisation optimale pour l'interaction MBL/sucres

Discussion

L'initiation d'un processus infectieux par un pathogène strict repose sur la rencontre fortuite entre le microorganisme et l'hôte. La présence directe du pathogène ou de certaines de ses molécules spécifiques permet donc de poser un diagnostic de certitude. Dans le cas d'une pathologie opportuniste, la cohabitation hôte/pathogène implique une certaine tolérance du système immunitaire vis-à-vis de la flore commensale et rend donc complexe la discrimination des patients colonisés des patients contractant une infection.

C. albicans, endosapprophyte et opportuniste de nature, fait partie de ces microorganismes tolérés par le système immunitaire mais pourtant responsable d'infections sévères avec une morbi-mortalité parmi les plus élevées en pathologie infectieuses. Les stratégies actuelles de diagnostic ont un rendement perfectible tant au niveau de la sensibilité qu'au niveau de la spécificité. Cette situation rend également difficile l'identification précoce des patients justifiant d'une prise en charge thérapeutique garantissant une issue favorable de l'infection. Devant le manque de méthodes fiables et sensibles, cette situation a incité les cliniciens confrontés à ces pathologies à envisager des stratégies prophylactiques ou préemptives pour réduire l'incidence de ces infections. Le développement de nouveaux outils diagnostiques s'est imposé comme une priorité pour guider la décision médicale en termes thérapeutique et parfois pronostique.

Notre laboratoire s'intéresse aux relations hôte/*Candida* avec une expertise dans l'exploration des relations structure/activité des glycanes de levures et une longue expérience dans l'étude de la structure pariétale de *C. albicans*. Les glycoconjugués étudiés au sein du laboratoire constituent des cibles privilégiées pour la réponse immunitaire et dans le « cross-talk » permanent entre *Candida* et son hôte. Les études pionnières sur les mannoglycoconjugués ont permis, en collaboration avec Bio-Rad, le développement de deux tests EIA permettant la détection du mannane circulant (Platelia® *Candida* Ag) et les AMn (Platelia® *Candida* Ab). Bien que perfectibles, ces tests sont aujourd'hui largement recommandés par les conférences de consensus en particulier dans le diagnostic précoce des candidémies, des candidoses hépato-spléniques et d'une manière générale, des candidoses invasives (Marchetti, et al., 2012, Pappas and Silveira, 2009).

Nos recherches se sont ensuite focalisées sur l'amélioration de la spécificité du diagnostic sérologique en identifiant de nouvelles cibles permettant de différencier la colonisation d'une infection évolutive. Nos travaux se sont enrichis de quelques études transcriptomiques portant sur le dimorphisme de *C. albicans* montrant une surexpression protéique au cours de son développement pathogène (de Groot, et al., 2004, Martinez-Gomariz, et al., 2009). D'autres observations ont montré la surexpression de certaines protéines fongiques en présence des polynucléaires neutrophiles (Fradin, et al., 2005). Ces variations transcriptionnelles ont donc ouvert une nouvelle piste d'exploration pour l'identification de nouveaux antigènes impliqués de manière préférentielle durant le processus pathogène lié à *C. albicans*.

Il apparaît donc pertinent d'utiliser la détection d'anticorps dirigés envers ces protéines pour améliorer les performances du diagnostic sérologique. Notre contribution dans ce domaine était i) d'identifier Hwp1, Fba1 et Hsp90 comme cibles privilégiées de la réponse humorale humaine capable de différencier les patients colonisés des patients infectés ; ii) de montrer que l'utilisation combinée des anticorps anti-protéines (APR) et de la Mn permet un gain significatif en termes de sensibilité et de spécificité. Comparée à la combinaison Mn/AMn, l'association Mn/APR permet une précocité diagnostique équivalente (5 jours avant l'isolement de *Candida spp* d'hémoculture) mais une meilleure sensibilité (globalement de 20%) et est associée à un odds ratio beaucoup plus important (65,5-108,3 *versus* 17,5). La définition d'un odds ratio pour la combinaison antigène-anticorps est une notion utile pour l'estimation du risque infectieux qui pourrait être générée sur chaque compte rendu de résultats. Cette information pourrait servir également à stratifier les patients de manière rationnelle pour la mise en route d'une prophylaxie dans les services à risque.

Il est important de souligner ici que le gain de précocité de 5 jours pourrait être déterminant dans la réduction du délai d'instauration du traitement antifongique conditionnant l'issue de l'infection (Morrell, et al., 2005). Cependant, nos résultats préliminaires obtenus avec ces mêmes marqueurs sur une cohorte de patients ayant des perforations gastro-intestinales récurrentes/ fuites anastomotiques, une pancréatite aiguë nécrosante ou des patients ayant une colonisation à *Candida* après une chirurgie digestive associée à un séjour de plus de 72h en soins intensifs montrent des sensibilités variant de 70% à 80% avec cependant des spécificités n'excédant pas 65%. Ces résultats décevants soulignent la difficulté d'utiliser les

marqueurs sérologiques pour révéler une infection localisée « cryptique » où la frontière entre colonisation et infection est très souvent difficile à définir. Ceci est parfaitement illustré par la faible spécificité des tests, probablement liée au haut niveau de colonisation des sujets contrôles.

La mise au point de ces nouveaux biomarqueurs constitue néanmoins une alternative fiable aux tests sérologiques actuels. Ils devraient permettre de compléter les méthodes de mycologie conventionnelle en particulier chez le patient à haut risque mais dont les hémocultures demeurent négatives. Il s'agit bien évidemment d'une preuve de concept qui mérite d'être évaluée au moyen d'études prospectives incluant des populations homogènes de patients à risque.

En conclusion, le développement des tests sérologiques immunoenzymatiques impliquant des protéines recombinantes a permis d'obtenir des performances analytiques notables par rapport aux techniques d'immunoprécipitation qui restent chronophages et consommatrices d'antigène. La disponibilité des tests immunoenzymatiques automatisés offre également la possibilité d'étendre le suivi sérologique au plus grand nombre de patients. Pour être contributif au diagnostic, ce suivi doit être réalisé de manière cinétique et régulière dès l'admission des patients puis de manière bihebdomadaire dans les unités à haut risque d'infection invasive. La valeur prédictive positive des tests étant perfectible (65%), les informations issues de ce monitoring doivent être confrontées aux données cliniques, radiologiques et mycologiques pour en évaluer la pertinence en termes de prise en charge thérapeutique des patients.

En plus de la sérologie, plusieurs observations cliniques plaident en faveur d'une « inégalité immunogénétique » des patients en ce qui concerne le risque d'infections fongiques à *Candida sp.* En effet, Plantinga *et al.* ont montré qu'une mutation du gène DECTIN-1 (variant Y238 X) était significativement associée à la colonisation par *Candida sp.* chez le patient neutropénique (Plantinga, *et al.*, 2009). En plus des lectines membranaires, il a été rapporté le rôle prépondérant de certaines lectines solubles telles que la MBL dans la susceptibilité génétique aux candidoses vulvovaginales (Donders, *et al.*, 2008), endophtalmiques (Oliva, *et al.*, 2009) ou encore péritonéales (van Till, *et al.*, 2008). Cependant, aucune étude n'avait traitée des candidoses invasives. De manière inattendue, nous avons montré que non seulement le taux de MBL augmentait durant la CI et qu'il variait au cours de la

phase candidémique de l'infection avec une corrélation inverse au taux de mannane circulant. Cette étude a permis également de mettre en évidence une plus forte proportion de patients déficients en MBL (<100ng/ml) chez les sujets colonisés. Ces données laissent suggérer une prédisposition à la colonisation chez les patients déficients en MBL contrastant avec les taux élevés retrouvés chez les patients CI. Bien que ces deux résultats semblent paradoxaux, l'hypothèse d'un emballement du système immunitaire lors de la CI pourrait expliquer ces données contradictoires. Il est trop tôt pour conclure quant à l'origine de l'hyperproduction de la MBL au cours des CI, ces mécanismes devraient être analysés d'une part en relation avec la réaction inflammatoire associée aux CI, et les médiateurs moléculaires de cette régulation d'autre part.

Le second point qui mérite d'être également analysé est celui des profils en miroir de l'évolution de la Mn et celle de la MBL sérique. L'hypothèse mise en avant serait une complexation entre cette lectine et les antigènes glycaniques circulants. Cependant, la preuve d'une reconnaissance des sucres pariétaux de *Candida* par la MBL reste indirecte car limitée aux profils sérologiques des deux marqueurs indépendants. Afin d'étayer cette hypothèse, la technologie SPR a été utilisée dans le but de développer une technique d'analyse directe de l'interaction MBL/levures. Après validation de la reproductibilité, de la robustesse de la méthode en termes de sensibilité et de spécificité, une reconnaissance différentielle de la MBL vis-à-vis des différentes espèces de *Candida* les plus fréquemment isolées de prélèvements biologiques humains a été objectivée. En effet, un gradient d'intensité de réponse a été observé pour 5 espèces différentes et ce quelque soit la charge fongique utilisée. Les affinités mises en évidence s'échelonnent de la façon suivante : *C. albicans* > *C. parapsilosis* > *C. krusei* > *C. tropicalis* > *C. glabrata*. Ces observations suggèrent une expression/organisation différentielle des épitopes pariétaux en fonction de l'espèce considérée. Parallèlement, une caractérisation plus fine de l'interaction MBL/sucres pariétaux de *Candida* a été effectuée, montrant une reconnaissance optimale avec le mannane, faible pour la chitine et nulle avec les β -glucanes. Grâce à l'utilisation des BSTOs, l'épitope optimal de la MBL a même pu être identifié comme étant un mannobioside lié en α . De manière analogue aux techniques EIA, western-blot ou encore luminex, la technique de SPR a également montré une interaction forte de la MBL avec le Tri- β . Cette observation laisse suggérer que cet épitope pariétal

mimerait les oligomannosides d'anomérisation α afin de leurrer les différents composants du système immunitaire.

Nous avons donc développé un outil d'analyse de la MBL permettant d'évaluer le caractère fonctionnel de cette protéine. Cette technologie laisse place à de nombreuses perspectives comme la génération de MBL recombinante mutée sur des sites connus pour avoir un impact majeur sur la concentration sérique de MBL (exon 1 codon 52, 54, 57) ainsi que d'autres régions subissant des polymorphismes moins fréquents (exons 2, 3 et 4). L'objectif étant d'étudier, en plus de l'impact de ces polymorphismes sur les taux sériques de la MBL, l'influence de ces mêmes mutations sur la fonctionnalité de la protéine sécrétée.

De plus, l'utilisation de cet outil pourrait permettre de caractériser finement les mutants de *Candida* invalidés pour les gènes de mannosylation et d'en déduire les séquences glycaniques clé reconnues préférentiellement par cette lectine.

Le développement de lames multi-lectines (dectine1, dectine 2 et galectine 3) est également envisageable afin d'accroître l'éventail des récepteurs étudiés et de permettre une cartographie des différents acteurs de la reconnaissance de *Candida* chez l'homme.

En effet, contrairement aux stratégies précédemment décrites ayant tendance à isoler les mécanismes physiologiques pour simplifier leurs caractérisations, notre démarche innove par l'analyse de processus « *ex vivo* » dans leur intégralité en utilisant les molécules humaines natives et des cellules fongiques vivantes. Cette approche explorant l'interface hôte-*Candida*, pourrait être étendue à l'analyse de l'interaction des C-lectines avec d'autres microorganismes vivants.

Au total, ce travail de thèse portant sur une recherche translationnelle a donc permis, de disposer de nouveaux outils diagnostiques susceptibles d'améliorer notre compréhension de la physiopathologie des candidoses ainsi que d'étoffer nos connaissances sur les interactions hôte/*Candida*. L'ensemble de ces données pourrait conduire, à long terme, à une nouvelle stratégie de prise en charge des patients candidosiques incluant des facteurs de risque cliniques (scores de gravité), sérologiques (antigènes+anticorps) et génétiques (taux sériques et mutations des gènes de l'immunité innée comme les C-lectines). Cette démarche devrait avoir un impact sur les pratiques médicales et une meilleure rationalisation des traitements antifongiques.

Bibliographie

- Abe, S., Tsunashima, R., Iijima, R., Yamada, T., Maruyama, N., Hisajima, T., Abe, Y., Oshima, H., and Yamazaki, M. 2009. Suppression of anti-candida activity of macrophages by a quorum-sensing molecule, farnesol, through induction of oxidative stress. *Microbiology and immunology*. 53, 323-330.
- Alsan, M. M., Issa, N. C., Hammond, S. P., Milner, D. A., Jr., DeAngelo, D. J., and Baden, L. R. 2011. Candida albicans cervical lymphadenitis in patients who have acute myeloid leukemia. *Clinical lymphoma, myeloma & leukemia*. 11, 375-377.
- Anders, E. M., Hartley, C. A., and Jackson, D. C. 1990. Bovine and mouse serum beta inhibitors of influenza A viruses are mannose-binding lectins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 87, 4485-4489.
- Andrutis, K. A., Riggle, P. J., Kumamoto, C. A., and Tzipori, S. 2000. Intestinal lesions associated with disseminated candidiasis in an experimental animal model. *Journal of clinical microbiology*. 38, 2317-2323.
- Annaix, V., Bouchara, J. P., Tronchin, G., Senet, J. M., and Robert, R. 1990. Structures involved in the binding of human fibrinogen to candida albicans germ tubes. *FEMS microbiology immunology*. 2, 147-153.
- Antachopoulos, C., Walsh, T. J., and Roilides, E. 2007. Fungal infections in primary immunodeficiencies. *European journal of pediatrics*. 166, 1099-1117.
- Anttila, V. J., Ruutu, P., Bondestam, S., Jansson, S. E., Nordling, S., Farkkila, M., Sivonen, A., Castren, M., and Ruutu, T. 1994. Hepatosplenic yeast infection in patients with acute leukemia: A diagnostic problem. *Clin Infect Dis*. 18, 979-981.
- Aratani, Y., Koyama, H., Nyui, S., Suzuki, K., Kura, F., and Maeda, N. 1999. Severe impairment in early host defense against candida albicans in mice deficient in myeloperoxidase. *Infection and immunity*. 67, 1828-1836.
- Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M. C., Maeda, N., and Koyama, H. 2002. Critical role of myeloperoxidase and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase in high-burden systemic infection of mice with candida albicans. *The Journal of infectious diseases*. 185, 1833-1837.
- Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M. C., Maeda, N., and Koyama, H. 2002. Relative contributions of myeloperoxidase and nadph-oxidase to the early host defense against pulmonary infections with candida albicans and aspergillus fumigatus. *Med Mycol*. 40, 557-563.
- Arnaud, M. B., Costanzo, M. C., Shah, P., Skrzypek, M. S., and Sherlock, G. 2009. Gene ontology and the annotation of pathogen genomes: The case of candida albicans. *Trends in microbiology*. 17, 295-303.
- Atochina, E. N., Beck, J. M., Preston, A. M., Haczku, A., Tomer, Y., Scanlon, S. T., Fusaro, T., Casey, J., Hawgood, S., Gow, A. J., and Beers, M. F. 2004. Enhanced lung injury and delayed clearance of pneumocystis carinii in surfactant protein A-deficient mice: Attenuation of cytokine responses and reactive oxygen-nitrogen species. *Infection and immunity*. 72, 6002-6011.
- Avni, T., Leibovici, L., and Paul, M. 2011. Pcr diagnosis of invasive candidiasis: Systematic review and meta-analysis. *Journal of clinical microbiology*. 49, 665-670.
- Babula, O., Lazdane, G., Kroica, J., Ledger, W. J., and Witkin, S. S. 2003. Relation between recurrent vulvovaginal candidiasis, vaginal concentrations of

- mannose-binding lectin, and a mannose-binding lectin gene polymorphism in latvian women. *Clin Infect Dis.* 37, 733-737.
- Baillie, G. S. and Douglas, L. J. 1999. Role of dimorphism in the development of candida albicans biofilms. *Journal of medical microbiology.* 48, 671-679.
- Balish, E. 1973. Chlamydospore production and germ-tube formation by auxotrophs of candida albicans. *Applied microbiology.* 25, 615-620.
- Balish, E., Warner, T., Pierson, C. J., Bock, D. M., and Wagner, R. D. 2001. Orosophageal candidiasis is lethal for transgenic mice with combined natural killer and t-cell defects. *Med Mycol.* 39, 261-268.
- Bartels, H. A., Cohen, G., and Scopp, I. W. 1969. Germ-tube formation by candida albicans. *Journal of dental research.* 48, 230-235.
- Bellocchio, S., Montagnoli, C., Bozza, S., Gaziano, R., Rossi, G., Mambula, S. S., Vecchi, A., Mantovani, A., Levitz, S. M., and Romani, L. 2004. The contribution of the toll-like/il-1 receptor superfamily to innate and adaptive immunity to fungal pathogens in vivo. *J Immunol.* 172, 3059-3069.
- Bernal, S., Martin Mazuelos, E., Chavez, M., Coronilla, J., and Valverde, A. 1998. Evaluation of the new api candida system for identification of the most clinically important yeast species. *Diagnostic microbiology and infectious disease.* 32, 217-221.
- Berzaghi, R., Colombo, A. L., Machado, A. M., and de Camargo, Z. P. 2009. New approach for diagnosis of candidemia based on detection of a 65-kilodalton antigen. *Clin Vaccine Immunol.* 16, 1538-1545.
- Blasi, E., Mucci, A., Neglia, R., Pezzini, F., Colombari, B., Radzioch, D., Cossarizza, A., Lugli, E., Volpini, G., Del Giudice, G., and Peppoloni, S. 2005. Biological importance of the two toll-like receptors, tlr2 and tlr4, in macrophage response to infection with candida albicans. *FEMS immunology and medical microbiology.* 44, 69-79.
- Bodey, G. P., Mardani, M., Hanna, H. A., Boktour, M., Abbas, J., Girgawy, E., Hachem, R. Y., Kontoyiannis, D. P., and Raad, II. 2002. The epidemiology of candida glabrata and candida albicans fungemia in immunocompromised patients with cancer. *The American journal of medicine.* 112, 380-385.
- Boirivant, M., Amendola, A., and Butera, A. 2008. Intestinal microflora and immunoregulation. *Mucosal immunology.* 1 Suppl 1, S47-49.
- Bonifazi, P., Zelante, T., D'Angelo, C., De Luca, A., Moretti, S., Bozza, S., Perruccio, K., Iannitti, R. G., Giovannini, G., Volpi, C., Fallarino, F., Puccetti, P., and Romani, L. 2009. Balancing inflammation and tolerance in vivo through dendritic cells by the commensal candida albicans. *Mucosal immunology.* 2, 362-374.
- Boone, C., Sdicu, A., Laroche, M., and Bussey, H. 1991. Isolation from candida albicans of a functional homolog of the saccharomyces cerevisiae kre1 gene, which is involved in cell wall beta-glucan synthesis. *Journal of bacteriology.* 173, 6859-6864.
- Bottazzi, B., Vouret-Craviari, V., Bastone, A., De Gioia, L., Matteucci, C., Peri, G., Spreafico, F., Pausa, M., D'Etto, C., Gianazza, E., Tagliabue, A., Salmona, M., Tedesco, F., Introna, M., and Mantovani, A. 1997. Multimer formation and ligand recognition by the long pentraxin ptx3. Similarities and differences with the short pentraxins c-reactive protein and serum amyloid p component. *The Journal of biological chemistry.* 272, 32817-32823.

- Brown, G. D., Herre, J., Williams, D. L., Willment, J. A., Marshall, A. S., and Gordon, S. 2003. Dectin-1 mediates the biological effects of beta-glucans. *The Journal of experimental medicine*. 197, 1119-1124.
- Brummer, E. and Stevens, D. A. 2010. Collectins and fungal pathogens: Roles of surfactant proteins and mannose binding lectin in host resistance. *Med Mycol*. 48, 16-28.
- Bulla, R., De Seta, F., Radillo, O., Agostinis, C., Durigutto, P., Pellis, V., De Santo, D., Crovella, S., and Tedesco, F. 2010. Mannose-binding lectin is produced by vaginal epithelial cells and its level in the vaginal fluid is influenced by progesterone. *Molecular immunology*. 48, 281-286.
- Burnet, F. M. 1948. Mucins and mucoids in relation to influenza virus action; the destruction of francis inhibitor activity in a purified mucoid by virus action. *The Australian journal of experimental biology and medical science*. 26, 389-402.
- Burnie, J. P., Carter, T. L., Hodgetts, S. J., and Matthews, R. C. 2006. Fungal heat-shock proteins in human disease. *FEMS microbiology reviews*. 30, 53-88.
- Cabib, E., Farkas, V., Kosik, O., Blanco, N., Arroyo, J., and McPhie, P. 2008. Assembly of the yeast cell wall. Crh1p and crh2p act as transglycosylases in vivo and in vitro. *The Journal of biological chemistry*. 283, 29859-29872.
- Calderone, R. A. and Braun, P. C. 1991. Adherence and receptor relationships of candida albicans. *Microbiological reviews*. 55, 1-20.
- Calderone, R. A. and Fonzi, W. A. 2001. Virulence factors of candida albicans. *Trends in microbiology*. 9, 327-335.
- Calich, V. L., Pina, A., Felonato, M., Bernardino, S., Costa, T. A., and Loures, F. V. 2008. Toll-like receptors and fungal infections: The role of tlr2, tlr4 and myd88 in paracoccidioidomycosis. *FEMS immunology and medical microbiology*. 53, 1-7.
- Carter, T., Sumiya, M., Reilly, K., Ahmed, R., Sobieszczuk, P., Summerfield, J. A., and Lawrence, R. A. 2007. Mannose-binding lectin a-deficient mice have abrogated antigen-specific igm responses and increased susceptibility to a nematode infection. *J Immunol*. 178, 5116-5123.
- Carvalho, A., Cunha, C., Pasqualotto, A. C., Pitzurra, L., Denning, D. W., and Romani, L. Genetic variability of innate immunity impacts human susceptibility to fungal diseases. *Int J Infect Dis*. 14, e460-468.
- Carvalho, M., Guimaraes, C. M., Mayer, J. R., Jr., Bordignon, G. P., and Queiroz-Telles, F. 2001. Hospital-associated funguria: Analysis of risk factors, clinical presentation and outcome. *Braz J Infect Dis*. 5, 313-318.
- Casadevall, A. 1995. Antibody immunity and invasive fungal infections. *Infection and immunity*. 63, 4211-4218.
- Cassone, A., De Bernardis, F., and Torososantucci, A. 2005. An outline of the role of anti-candida antibodies within the context of passive immunization and protection from candidiasis. *Current molecular medicine*. 5, 377-382.
- Chaffin, W. L., Lopez-Ribot, J. L., Casanova, M., Gozalbo, D., and Martinez, J. P. 1998. Cell wall and secreted proteins of candida albicans: Identification, function, and expression. *Microbiol Mol Biol Rev*. 62, 130-180.
- Chai, L. Y., de Boer, M. G., van der Velden, W. J., Plantinga, T. S., van Spriel, A. B., Jacobs, C., Halkes, C. J., Vonk, A. G., Blijlevens, N. M., van Dissel, J. T., Donnelly, P. J., Kullberg, B. J., Maertens, J., and Netea, M. G. 2011. The y238x stop codon polymorphism in the human beta-glucan receptor dectin-1 and susceptibility to invasive aspergillosis. *The Journal of infectious diseases*. 203, 736-743.

- Chaka, W., Verheul, A. F., Vaishnav, V. V., Cherniak, R., Scharringa, J., Verhoef, J., Snippe, H., and Hoepelman, A. I. 1997. Induction of tnf-alpha in human peripheral blood mononuclear cells by the mannoprotein of cryptococcus neoformans involves human mannose binding protein. *J Immunol.* 159, 2979-2985.
- Chandra, J., Kuhn, D. M., Mukherjee, P. K., Hoyer, L. L., McCormick, T., and Ghannoum, M. A. 2001. Biofilm formation by the fungal pathogen candida albicans: Development, architecture, and drug resistance. *Journal of bacteriology.* 183, 5385-5394.
- Chang, W. C., White, M. R., Moyo, P., McClear, S., Thiel, S., Hartshorn, K. L., and Takahashi, K. 2010. Lack of the pattern recognition molecule mannose-binding lectin increases susceptibility to influenza a virus infection. *BMC immunology.* 11, 64.
- Chang, W. C., White, M. R., Moyo, P., McClear, S., Thiel, S., Hartshorn, K. L., and Takahashi, K. Lack of the pattern recognition molecule mannose-binding lectin increases susceptibility to influenza a virus infection. *BMC immunology.* 11, 64.
- Chen, H., Fujita, M., Feng, Q., Clardy, J., and Fink, G. R. 2004. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in candida albicans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 101, 5048-5052.
- Cheng, S. C., van de Veerdonk, F. L., Lenardon, M., Stoffels, M., Plantinga, T., Smeekens, S., Rizzetto, L., Mukaremera, L., Preechasuth, K., Cavalieri, D., Kanneganti, T. D., van der Meer, J. W., Kullberg, B. J., Joosten, L. A., Gow, N. A., and Netea, M. G. 2011. The dectin-1/inflammasome pathway is responsible for the induction of protective t-helper 17 responses that discriminate between yeasts and hyphae of candida albicans. *Journal of leukocyte biology.* 90, 357-366.
- Chromek, M., Slamova, Z., Bergman, P., Kovacs, L., Podracka, L., Ehren, I., Hokfelt, T., Gudmundsson, G. H., Gallo, R. L., Agerberth, B., and Brauner, A. 2006. The antimicrobial peptide cathelicidin protects the urinary tract against invasive bacterial infection. *Nature medicine.* 12, 636-641.
- Chu, H., Pazgier, M., Jung, G., Nuccio, S. P., Castillo, P. A., de Jong, M. F., Winter, M. G., Winter, S. E., Wehkamp, J., Shen, B., Salzman, N. H., Underwood, M. A., Tsolis, R. M., Young, G. M., Lu, W., Lehrer, R. I., Baumler, A. J., and Bevins, C. L. 2012. Human alpha-defensin 6 promotes mucosal innate immunity through self-assembled peptide nanonets. *Science (New York, N.Y.)* 337, 477-481.
- Citiulo, F., Moran, G. P., Coleman, D. C., and Sullivan, D. J. 2009. Purification and germination of candida albicans and candida dubliniensis chlamydospores cultured in liquid media. *FEMS yeast research.* 9, 1051-1060.
- Clancy, C. J., Nguyen, M. L., Cheng, S., Huang, H., Fan, G., Jaber, R. A., Wingard, J. R., Cline, C., and Nguyen, M. H. 2008. Immunoglobulin g responses to a panel of candida albicans antigens as accurate and early markers for the presence of systemic candidiasis. *Journal of clinical microbiology.* 46, 1647-1654.
- Coldiron, B. M. and Manders, S. M. 1991. Persistent candida intertrigo treated with fluconazole. *Archives of dermatology.* 127, 165-166.
- Cottle, L. and Riordan, T. 2008. Infectious spondylodiscitis. *The Journal of infection.* 56, 401-412.

- Crosdale, D. J., Poulton, K. V., Ollier, W. E., Thomson, W., and Denning, D. W. 2001. Mannose-binding lectin gene polymorphisms as a susceptibility factor for chronic necrotizing pulmonary aspergillosis. *The Journal of infectious diseases*. 184, 653-656.
- d'Ostiani, C. F., Del Sero, G., Bacci, A., Montagnoli, C., Spreca, A., Mencacci, A., Ricciardi-Castagnoli, P., and Romani, L. 2000. Dendritic cells discriminate between yeasts and hyphae of the fungus candida albicans. Implications for initiation of t helper cell immunity in vitro and in vivo. *The Journal of experimental medicine*. 191, 1661-1674.
- Damiens, S., Poissy, J., Francois, N., Salleron, J., Jawhara, S., Jouault, T., Poulain, D., and Sendid, B. 2012. Mannose-binding lectin levels and variation during invasive candidiasis. *Journal of clinical immunology*.
- Daniels, W., Glover, D. D., Essmann, M., and Larsen, B. 2001. Candidiasis during pregnancy may result from isogenic commensal strains. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*. 9, 65-73.
- Darwazah, A., Berg, G., and Faris, B. 1999. Candida parapsilosis: An unusual organism causing prosthetic heart valve infective endocarditis. *The Journal of infection*. 38, 130-131.
- de Groot, P. W., de Boer, A. D., Cunningham, J., Dekker, H. L., de Jong, L., Hellingwerf, K. J., de Koster, C., and Klis, F. M. 2004. Proteomic analysis of candida albicans cell walls reveals covalently bound carbohydrate-active enzymes and adhesins. *Eukaryotic cell*. 3, 955-965.
- De Groot, P. W., Ram, A. F., and Klis, F. M. 2005. Features and functions of covalently linked proteins in fungal cell walls. *Fungal genetics and biology : FG & B*. 42, 657-675.
- Deban, L., Jarva, H., Lehtinen, M. J., Bottazzi, B., Bastone, A., Doni, A., Jokiranta, T. S., Mantovani, A., and Meri, S. 2008. Binding of the long pentraxin ptx3 to factor h: Interacting domains and function in the regulation of complement activation. *J Immunol*. 181, 8433-8440.
- Deelstra, J. J., Neut, D., and Jutte, P. C. 2012. Successful treatment of candida albicans-infected total hip prosthesis with staged procedure using an antifungal-loaded cement spacer. *The Journal of arthroplasty*.
- Dhiman, N., Hall, L., Wohlfiel, S. L., Buckwalter, S. P., and Wengenack, N. L. 2011. Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast. *Journal of clinical microbiology*. 49, 1614-1616.
- Donders, G. G., Babula, O., Bellen, G., Linhares, I. M., and Witkin, S. S. 2008. Mannose-binding lectin gene polymorphism and resistance to therapy in women with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Bjog*. 115, 1225-1231.
- Dongari-Bagtzoglou, A. and Fidel, P. L., Jr. 2005. The host cytokine responses and protective immunity in oropharyngeal candidiasis. *Journal of dental research*. 84, 966-977.
- Douglas, L. J. 2003. Candida biofilms and their role in infection. *Trends in microbiology*. 11, 30-36.
- Drickamer, K. 1992. Engineering galactose-binding activity into a c-type mannose-binding protein. *Nature*. 360, 183-186.
- Du, C. and Calderone, R. A. 2009. Phagocytosis and killing assays for candida species. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J)*. 499, 17-26.

- Dunkler, A., Walther, A., Specht, C. A., and Wendland, J. 2005. *Candida albicans* cht3 encodes the functional homolog of the cts1 chitinase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Fungal genetics and biology : FG & B.* 42, 935-947.
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S. R., Nelson, K. E., and Relman, D. A. 2005. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science (New York, N.Y.)* 308, 1635-1638.
- Eggimann, P. and Marchetti, O. 2011. Is (1->3)-beta-d-glucan the missing link from bedside assessment to pre-emptive therapy of invasive candidiasis? *Critical care (London, England)*. 15, 1017.
- Eisen, D. P. and Minchinton, R. M. 2003. Impact of mannose-binding lectin on susceptibility to infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 37, 1496-1505.
- Eisenhaber, B., Schneider, G., Wildpaner, M., and Eisenhaber, F. 2004. A sensitive predictor for potential GPI lipid modification sites in fungal protein sequences and its application to genome-wide studies for *Aspergillus nidulans*, *Candida albicans*, *Neurospora crassa*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*. *Journal of molecular biology.* 337, 243-253.
- Elangovan, S., Srinivasan, S., and Allareddy, V. 2012. Hospital-based emergency department visits with oral candidiasis in the USA. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology.* 114, e26-31.
- Ellis, M., Al-Ramadi, B., Bernsen, R., Kristensen, J., Alizadeh, H., and Hedstrom, U. 2009. Prospective evaluation of mannan and anti-mannan antibodies for diagnosis of invasive *Candida* infections in patients with neutropenic fever. *Journal of medical microbiology.* 58, 606-615.
- Endo, Y., Matsushita, M., and Fujita, T. 2007. Role of ficolin in innate immunity and its molecular basis. *Immunobiology.* 212, 371-379.
- Endo, Y., Takahashi, M., and Fujita, T. 2006. Lectin complement system and pattern recognition. *Immunobiology.* 211, 283-293.
- Esteban, A., Popp, M. W., Vyas, V. K., Strijbis, K., Ploegh, H. L., and Fink, G. R. 2011. Fungal recognition is mediated by the association of dectin-1 and galectin-3 in macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 108, 14270-14275.
- Evans, D., Maskew, M., and Sanne, I. 2012. Increased risk of mortality and loss to follow-up among HIV-positive patients with oropharyngeal candidiasis and malnutrition before antiretroviral therapy initiation: A retrospective analysis from a large urban cohort in Johannesburg, South Africa. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology.* 113, 362-372.
- Ezekowitz, R. A. 2003. Role of the mannose-binding lectin in innate immunity. *The Journal of infectious diseases.* 187 Suppl 2, S335-339.
- Farah, C. S., Elahi, S., Drysdale, K., Pang, G., Gotjamanos, T., Seymour, G. J., Clancy, R. L., and Ashman, R. B. 2002. Primary role for CD4(+) T lymphocytes in recovery from oropharyngeal candidiasis. *Infection and immunity.* 70, 724-731.
- Faurschou, M. and Borregaard, N. 2003. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes and infection / Institut Pasteur.* 5, 1317-1327.
- Fernandez-Arenas, E., Bleck, C. K., Nombela, C., Gil, C., Griffiths, G., and Diez-Orejas, R. 2009. *Candida albicans* actively modulates intracellular membrane trafficking in mouse macrophage phagosomes. *Cellular microbiology.* 11, 560-589.
- Ferrante, A. 1989. Tumor necrosis factor alpha potentiates neutrophil antimicrobial activity: Increased fungicidal activity against *Torulopsis glabrata* and *Candida*

- albicans and associated increases in oxygen radical production and lysosomal enzyme release. *Infection and immunity*. 57, 2115-2122.
- Ferwerda, B., Ferwerda, G., Plantinga, T. S., Willment, J. A., van Sriel, A. B., Venselaar, H., Elbers, C. C., Johnson, M. D., Cambi, A., Huysamen, C., Jacobs, L., Jansen, T., Verheijen, K., Masthoff, L., Morre, S. A., Vriend, G., Williams, D. L., Perfect, J. R., Joosten, L. A., Wijmenga, C., van der Meer, J. W., Adema, G. J., Kullberg, B. J., Brown, G. D., and Netea, M. G. 2009. Human dectin-1 deficiency and mucocutaneous fungal infections. *The New England journal of medicine*. 361, 1760-1767.
- Fidel, P. L., Jr. 2002. Distinct protective host defenses against oral and vaginal candidiasis. *Med Mycol*. 40, 359-375.
- Fidel, P. L., Jr. and Cutler, J. E. 2011. Prospects for development of a vaccine to prevent and control vaginal candidiasis. *Current infectious disease reports*. 13, 102-107.
- Finkel, J. S. and Mitchell, A. P. 2011. Genetic control of candida albicans biofilm development. *Nature reviews. Microbiology*. 9, 109-118.
- Fisher, J. F., Kavanagh, K., Sobel, J. D., Kauffman, C. A., and Newman, C. A. 2011. Candida urinary tract infection: Pathogenesis. *Clin Infect Dis*. 52 Suppl 6, S437-451.
- Fradin, C., De Groot, P., MacCallum, D., Schaller, M., Klis, F., Odds, F. C., and Hube, B. 2005. Granulocytes govern the transcriptional response, morphology and proliferation of candida albicans in human blood. *Molecular microbiology*. 56, 397-415.
- Fradin, C., Poulain, D., and Jouault, T. 2000. Beta-1,2-linked oligomannosides from candida albicans bind to a 32-kilodalton macrophage membrane protein homologous to the mammalian lectin galectin-3. *Infection and immunity*. 68, 4391-4398.
- Frederiksen, P. D., Thiel, S., Larsen, C. B., and Jensenius, J. C. 2005. M-ficolin, an innate immune defence molecule, binds patterns of acetyl groups and activates complement. *Scandinavian journal of immunology*. 62, 462-473.
- Fu, Y., Rieg, G., Fonzi, W. A., Belanger, P. H., Edwards, J. E., Jr., and Filler, S. G. 1998. Expression of the candida albicans gene als1 in saccharomyces cerevisiae induces adherence to endothelial and epithelial cells. *Infection and immunity*. 66, 1783-1786.
- Fukazawa, Y. and Kagaya, K. 1997. Molecular bases of adhesion of candida albicans. *J Med Vet Mycol*. 35, 87-99.
- Fung, J. C., Donta, S. T., and Tilton, R. C. 1986. Candida detection system (cand-tec) to differentiate between candida albicans colonization and disease. *Journal of clinical microbiology*. 24, 542-547.
- Garlanda, C., Bottazzi, B., Bastone, A., and Mantovani, A. 2005. Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annual review of immunology*. 23, 337-366.
- Gaur, N. K., Klotz, S. A., and Henderson, R. L. 1999. Overexpression of the candida albicans ala1 gene in saccharomyces cerevisiae results in aggregation following attachment of yeast cells to extracellular matrix proteins, adherence properties similar to those of candida albicans. *Infection and immunity*. 67, 6040-6047.
- Gazi, U., Rosas, M., Singh, S., Heinsbroek, S., Haq, I., Johnson, S., Brown, G. D., Williams, D. L., Taylor, P. R., and Martinez-Pomares, L. 2011. Fungal

- recognition enhances mannose receptor shedding through dectin-1 engagement. *The Journal of biological chemistry*. 286, 7822-7829.
- Gaziano, R., Bozza, S., Bellocchio, S., Perruccio, K., Montagnoli, C., Pitzurra, L., Salvatori, G., De Santis, R., Carminati, P., Mantovani, A., and Romani, L. 2004. Anti-aspergillus fumigatus efficacy of pentraxin 3 alone and in combination with antifungals. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 48, 4414-4421.
- Geraldino, T. H., de Vito, E., Custodio, L. A., Conchon-Costa, I., Gaziri, L. C., Felipe, I., Loyola, W., and Bonifacio, K. L. 2010. Increased tumour necrosis factor- α production, higher mannose receptor activity and ability to kill candida by concanavalin-a-activated macrophages. *FEMS immunology and medical microbiology*. 59, 11-17.
- Ghannoum, M. A. 2000. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clinical microbiology reviews*. 13, 122-143, table of contents.
- Ghannoum, M. A., Burns, G. R., Elteen, K. A., and Radwan, S. S. 1986. Experimental evidence for the role of lipids in adherence of candida spp. To human buccal epithelial cells. *Infection and immunity*. 54, 189-193.
- Gil, M. L. and Gozalbo, D. 2009. Role of toll-like receptors in systemic candida albicans infections. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. 14, 570-582.
- Giles, S. S., Dagenais, T. R., Botts, M. R., Keller, N. P., and Hull, C. M. 2009. Elucidating the pathogenesis of spores from the human fungal pathogen cryptococcus neoformans. *Infection and immunity*. 77, 3491-3500.
- Gilmore, B. J., Retsinas, E. M., Lorenz, J. S., and Hostetter, M. K. 1988. An ic3b receptor on candida albicans: Structure, function, and correlates for pathogenicity. *The Journal of infectious diseases*. 157, 38-46.
- Gligorov, J., Bastit, L., Gervais, H., Henni, M., Kahila, W., Lepille, D., Luporsi, E., Sasso, G., Varette, C., and Azria, D. 2011. Prevalence and treatment management of oropharyngeal candidiasis in cancer patients: Results of the french candidoscope study. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 80, 532-539.
- Glocker, E. O., Hennigs, A., Nabavi, M., Schaffer, A. A., Woellner, C., Salzer, U., Pfeifer, D., Veelken, H., Warnatz, K., Tahami, F., Jamal, S., Manguiat, A., Rezaei, N., Amirzargar, A. A., Plebani, A., Hanneschlager, N., Gross, O., Ruland, J., and Grimbacher, B. 2009. A homozygous card9 mutation in a family with susceptibility to fungal infections. *The New England journal of medicine*. 361, 1727-1735.
- Gokce, G., Cerikcioglu, N., and Yagci, A. 2007. Acid proteinase, phospholipase, and biofilm production of candida species isolated from blood cultures. *Mycopathologia*. 164, 265-269.
- Gold, J. A., Hoshino, Y., Tanaka, N., Rom, W. N., Raju, B., Condos, R., and Weiden, M. D. 2004. Surfactant protein a modulates the inflammatory response in macrophages during tuberculosis. *Infection and immunity*. 72, 645-650.
- Goodridge, H. S., Shimada, T., Wolf, A. J., Hsu, Y. M., Becker, C. A., Lin, X., and Underhill, D. M. 2009. Differential use of card9 by dectin-1 in macrophages and dendritic cells. *J Immunol*. 182, 1146-1154.
- Gow, N. A. 1997. Germ tube growth of candida albicans. *Current topics in medical mycology*. 8, 43-55.
- Gow, N. A., Robbins, P. W., Lester, J. W., Brown, A. J., Fonzi, W. A., Chapman, T., and Kinsman, O. S. 1994. A hyphal-specific chitin synthase gene (chs2) is not

- essential for growth, dimorphism, or virulence of candida albicans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91, 6216-6220.
- Gow, N. A., van de Veerdonk, F. L., Brown, A. J., and Netea, M. G. 2011. Candida albicans morphogenesis and host defence: Discriminating invasion from colonization. *Nature reviews. Microbiology*. 10, 112-122.
- Green, C. B., Zhao, X., and Hoyer, L. L. 2005. Use of green fluorescent protein and reverse transcription-pcr to monitor candida albicans agglutinin-like sequence gene expression in a murine model of disseminated candidiasis. *Infection and immunity*. 73, 1852-1855.
- Greenblatt, M. B., Aliprantis, A., Hu, B., and Glimcher, L. H. Calcineurin regulates innate antifungal immunity in neutrophils. *The Journal of experimental medicine*. 207, 923-931.
- Gringhuis, S. I., den Dunnen, J., Litjens, M., van Het Hof, B., van Kooyk, Y., and Geijtenbeek, T. B. 2007. C-type lectin dc-sign modulates toll-like receptor signaling via raf-1 kinase-dependent acetylation of transcription factor nf-kappab. *Immunity*. 26, 605-616.
- Gudlaugsson, O., Gillespie, S., Lee, K., Vande Berg, J., Hu, J., Messer, S., Herwaldt, L., Pfaller, M., and Diekema, D. 2003. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin Infect Dis*. 37, 1172-1177.
- Guo, N., Mogue, T., Weremowicz, S., Morton, C. C., and Sastry, K. N. 1998. The human ortholog of rhesus mannose-binding protein-a gene is an expressed pseudogene that localizes to chromosome 10. *Mamm Genome*. 9, 246-249.
- Gupta, G. and Surolia, A. 2007. Collectins: Sentinels of innate immunity. *Bioessays*. 29, 452-464.
- Gupta, K. L., Ghosh, A. K., Kochhar, R., Jha, V., Chakrabarti, A., and Sakhuja, V. 1994. Esophageal candidiasis after renal transplantation: Comparative study in patients on different immunosuppressive protocols. *The American journal of gastroenterology*. 89, 1062-1065.
- Gurcuoglu, E., Akalin, H., Ener, B., and Gedikoglu, S. 2012. Colonisation in adult patients with nosocomial candidemia. *Mycoses*. 55, 269-275.
- Hage, C. A., Goldman, M., and Wheat, L. J. 2002. Mucosal and invasive fungal infections in hiv/aids. *European journal of medical research*. 7, 236-241.
- Hart, M. L., Ceonzo, K. A., Shaffer, L. A., Takahashi, K., Rother, R. P., Reenstra, W. R., Buras, J. A., and Stahl, G. L. 2005. Gastrointestinal ischemia-reperfusion injury is lectin complement pathway dependent without involving c1q. *J Immunol*. 174, 6373-6380.
- Hartshorn, K., Chang, D., Rust, K., White, M., Heuser, J., and Crouch, E. 1996. Interactions of recombinant human pulmonary surfactant protein d and sp-d multimers with influenza a. *The American journal of physiology*. 271, L753-762.
- Hazan, I., Sepulveda-Becerra, M., and Liu, H. 2002. Hyphal elongation is regulated independently of cell cycle in candida albicans. *Molecular biology of the cell*. 13, 134-145.
- Hazen, K. C. and Cutler, J. E. 1983. Isolation and purification of morphogenic autoregulatory substance produced by candida albicans. *Journal of biochemistry*. 94, 777-783.
- He, X., Han, B., and Liu, M. 2007. Long pentraxin 3 in pulmonary infection and acute lung injury. *American journal of physiology*. 292, L1039-1049.

- Heinsbroek, S. E., Taylor, P. R., Martinez, F. O., Martinez-Pomares, L., Brown, G. D., and Gordon, S. 2008. Stage-specific sampling by pattern recognition receptors during candida albicans phagocytosis. *PLoS pathogens*. 4, e1000218.
- Heitzeneder, S., Seidel, M., Forster-Waldl, E., and Heitger, A. 2012. Mannan-binding lectin deficiency - good news, bad news, doesn't matter? *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* 143, 22-38.
- Held, K., Thiel, S., Loos, M., and Petry, F. 2008. Increased susceptibility of complement factor b/c2 double knockout mice and mannan-binding lectin knockout mice to systemic infection with candida albicans. *Molecular immunology*. 45, 3934-3941.
- Henzel, W. J., Watanabe, C., and Stults, J. T. 2003. Protein identification: The origins of peptide mass fingerprinting. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 14, 931-942.
- Herent, P., Styren, D., Hernando, F., Fruit, J., and Poulain, D. 1992. Retrospective evaluation of two latex agglutination tests for detection of circulating antigens during invasive candidosis. *Journal of clinical microbiology*. 30, 2158-2164.
- Hernando, F. L., Calvo, E., Abad, A., Ramirez, A., Rementeria, A., Sevilla, M. J., and Ponton, J. 2007. Identification of protein and mannoprotein antigens of candida albicans of relevance for the serodiagnosis of invasive candidiasis. *Int Microbiol*. 10, 103-108.
- Herrero, A. B., Magnelli, P., Mansour, M. K., Levitz, S. M., Bussey, H., and Abeijon, C. 2004. Kre5 gene null mutant strains of candida albicans are avirulent and have altered cell wall composition and hypha formation properties. *Eukaryotic cell*. 3, 1423-1432.
- Hoffmann, J. A., Kafatos, F. C., Janeway, C. A., and Ezekowitz, R. A. 1999. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science (New York, N.Y.)* 284, 1313-1318.
- Hogan, D. A., Vik, A., and Kolter, R. 2004. A pseudomonas aeruginosa quorum-sensing molecule influences candida albicans morphology. *Molecular microbiology*. 54, 1212-1223.
- Hollifield, M., Bou Ghanem, E., de Villiers, W. J., and Garvy, B. A. 2007. Scavenger receptor a dampens induction of inflammation in response to the fungal pathogen pneumocystis carinii. *Infection and immunity*. 75, 3999-4005.
- Holmskov, U., Thiel, S., and Jensenius, J. C. 2003. Collections and ficolins: Humoral lectins of the innate immune defense. *Annual review of immunology*. 21, 547-578.
- Honore, C., Rorvig, S., Munthe-Fog, L., Hummelshoj, T., Madsen, H. O., Borregaard, N., and Garred, P. 2008. The innate pattern recognition molecule ficolin-1 is secreted by monocytes/macrophages and is circulating in human plasma. *Molecular immunology*. 45, 2782-2789.
- Hope, W. W., Walsh, T. J., and Denning, D. W. 2005. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *The Lancet infectious diseases*. 5, 609-622.
- Hornby, J. M., Jensen, E. C., Lisek, A. D., Tasto, J. J., Jahnke, B., Shoemaker, R., Dussault, P., and Nickerson, K. W. 2001. Quorum sensing in the dimorphic fungus candida albicans is mediated by farnesol. *Applied and environmental microbiology*. 67, 2982-2992.
- Horvath, L. L., George, B. J., Murray, C. K., Harrison, L. S., and Hospenthal, D. R. 2004. Direct comparison of the bactec 9240 and bact/alert 3d automated blood culture systems for candida growth detection. *Journal of clinical microbiology*. 42, 115-118.

- Horvath, L. L., Hospenthal, D. R., Murray, C. K., and Dooley, D. P. 2003. Detection of simulated candidemia by the bactec 9240 system with plus aerobic/f and anaerobic/f blood culture bottles. *Journal of clinical microbiology*. 41, 4714-4717.
- Hossain, M. A., Miyazaki, T., Mitsutake, K., Takeya, H., Yamamoto, Y., Yanagihara, K., Kawamura, S., Otsubo, T., Hirakata, Y., Tashiro, T., and Kohno, S. 1997. Comparison between wako-wb003 and fungitec g tests for detection of (1-->3)-beta-d-glucan in systemic mycosis. *Journal of clinical laboratory analysis*. 11, 73-77.
- Hot, A., Maunoury, C., Poiree, S., Lanternier, F., Viard, J. P., Loulergue, P., Coignard, H., Bougnoux, M. E., Suarez, F., Rubio, M. T., Mahlaoui, N., Dupont, B., Lecuit, M., Faraggi, M., and Lortholary, O. 2011. Diagnostic contribution of positron emission tomography with [18f]fluorodeoxyglucose for invasive fungal infections. *Clin Microbiol Infect*. 17, 409-417.
- Hsu, F. C., Lin, P. C., Chi, C. Y., Ho, M. W., Ho, C. M., and Wang, J. H. 2009. Prognostic factors for patients with culture-positive candida infection undergoing abdominal surgery. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*. 42, 378-384.
- Hummelshoj, T., Fog, L. M., Madsen, H. O., Sim, R. B., and Garred, P. 2008. Comparative study of the human ficolins reveals unique features of ficolin-3 (hakata antigen). *Molecular immunology*. 45, 1623-1632.
- Ibata-Ombetta, S., Jouault, T., Trinel, P. A., and Poulain, D. 2001. Role of extracellular signal-regulated protein kinase cascade in macrophage killing of candida albicans. *Journal of leukocyte biology*. 70, 149-154.
- Inforzato, A., Riviaccio, V., Morreale, A. P., Bastone, A., Salustri, A., Scarchilli, L., Verdoliva, A., Vincenti, S., Gallo, G., Chiapparino, C., Pacello, L., Nucera, E., Serlupi-Crescenzi, O., Day, A. J., Bottazzi, B., Mantovani, A., De Santis, R., and Salvatori, G. 2008. Structural characterization of ptx3 disulfide bond network and its multimeric status in cumulus matrix organization. *The Journal of biological chemistry*. 283, 10147-10161.
- Iorio, E., Torosantucci, A., Bromuro, C., Chiani, P., Ferretti, A., Giannini, M., Cassone, A., and Podo, F. 2008. Candida albicans cell wall comprises a branched beta-d-(1-->6)-glucan with beta-d-(1-->3)-side chains. *Carbohydrate research*. 343, 1050-1061.
- Ip, W. K., Takahashi, K., Ezekowitz, R. A., and Stuart, L. M. 2009. Mannose-binding lectin and innate immunity. *Immunological reviews*. 230, 9-21.
- Ip, W. K., Takahashi, K., Moore, K. J., Stuart, L. M., and Ezekowitz, R. A. 2008. Mannose-binding lectin enhances toll-like receptors 2 and 6 signaling from the phagosome. *The Journal of experimental medicine*. 205, 169-181.
- Jack, D. L., Dodds, A. W., Anwar, N., Ison, C. A., Law, A., Frosch, M., Turner, M. W., and Klein, N. J. 1998. Activation of complement by mannose-binding lectin on isogenic mutants of neisseria meningitidis serogroup b. *J Immunol*. 160, 1346-1353.
- Jack, D. L., Klein, N. J., and Turner, M. W. 2001. Mannose-binding lectin: Targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis. *Immunological reviews*. 180, 86-99.
- Jack, D. L., Read, R. C., Tenner, A. J., Frosch, M., Turner, M. W., and Klein, N. J. 2001. Mannose-binding lectin regulates the inflammatory response of human professional phagocytes to neisseria meningitidis serogroup b. *The Journal of infectious diseases*. 184, 1152-1162.

- Jaijakul, S., Vazquez, J. A., Swanson, R. N., and Ostrosky-Zeichner, L. 2012. (1,3)-beta-d-glucan as a prognostic marker of treatment response in invasive candidiasis. *Clin Infect Dis.* 55, 521-526.
- Jiang, B., Sheraton, J., Ram, A. F., Dijkgraaf, G. J., Klis, F. M., and Bussey, H. 1996. Cwh41 encodes a novel endoplasmic reticulum membrane n-glycoprotein involved in beta 1,6-glucan assembly. *Journal of bacteriology.* 178, 1162-1171.
- Johansen, F. E. and Brandtzaeg, P. 2004. Transcriptional regulation of the mucosal iga system. *Trends in immunology.* 25, 150-157.
- Joossens, S., Pierik, M., Rector, A., Vermeire, S., Ranst, M. V., Rutgeerts, P., and Bossuyt, X. 2006. Mannan binding lectin (mbl) gene polymorphisms are not associated with anti-saccharomyces cerevisiae (asca) in patients with crohn's disease. *Gut.* 55, 746.
- Jouault, T., El Abed-El Behi, M., Martinez-Esparza, M., Breuilh, L., Trinel, P. A., Chamaillard, M., Trottein, F., and Poulain, D. 2006. Specific recognition of candida albicans by macrophages requires galectin-3 to discriminate saccharomyces cerevisiae and needs association with tlr2 for signaling. *J Immunol.* 177, 4679-4687.
- Jouault, T., Ibata-Ombetta, S., Takeuchi, O., Trinel, P. A., Sacchetti, P., Lefebvre, P., Akira, S., and Poulain, D. 2003. Candida albicans phospholipomannan is sensed through toll-like receptors. *The Journal of infectious diseases.* 188, 165-172.
- Jouault, T., Sarazin, A., Martinez-Esparza, M., Fradin, C., Sendid, B., and Poulain, D. 2009. Host responses to a versatile commensal: Pamps and prrs interplay leading to tolerance or infection by candida albicans. *Cellular microbiology.* 11, 1007-1015.
- Kandasamy, R., VEDIYAPPAN, G., and Chaffin, W. L. 2000. Evidence for the presence of pir-like proteins in candida albicans. *FEMS microbiology letters.* 186, 239-243.
- Kapteyn, J. C., Hoyer, L. L., Hecht, J. E., Muller, W. H., Andel, A., Verkleij, A. J., Makarow, M., Van Den Ende, H., and Klis, F. M. 2000. The cell wall architecture of candida albicans wild-type cells and cell wall-defective mutants. *Molecular microbiology.* 35, 601-611.
- Kapteyn, J. C., Montijn, R. C., Dijkgraaf, G. J., Van den Ende, H., and Klis, F. M. 1995. Covalent association of beta-1,3-glucan with beta-1,6-glucosylated mannoproteins in cell walls of candida albicans. *Journal of bacteriology.* 177, 3788-3792.
- Kapteyn, J. C., Van Den Ende, H., and Klis, F. M. 1999. The contribution of cell wall proteins to the organization of the yeast cell wall. *Biochimica et biophysica acta.* 1426, 373-383.
- Kapteyn, J. C., Van Egmond, P., Sievi, E., Van Den Ende, H., Makarow, M., and Klis, F. M. 1999. The contribution of the o-glycosylated protein pir2p/hsp150 to the construction of the yeast cell wall in wild-type cells and beta 1,6-glucan-deficient mutants. *Molecular microbiology.* 31, 1835-1844.
- Kasperkovitz, P. V., Khan, N. S., Tam, J. M., Mansour, M. K., Davids, P. J., and Vyas, J. M. 2011. Toll-like receptor 9 modulates macrophage antifungal effector function during innate recognition of candida albicans and saccharomyces cerevisiae. *Infection and immunity.* 79, 4858-4867.

- Kaur, S., Gupta, V. K., Thiel, S., Sarma, P. U., and Madan, T. 2007. Protective role of mannan-binding lectin in a murine model of invasive pulmonary aspergillosis. *Clinical and experimental immunology*. 148, 382-389.
- Khlif, M., Mary, C., Sellami, H., Sellami, A., Dumon, H., Ayadi, A., and Ranque, S. 2009. Evaluation of nested and real-time pcr assays in the diagnosis of candidaemia. *Clin Microbiol Infect*. 15, 656-661.
- Kilpatrick, D. C. 2002. Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *Transfusion medicine (Oxford, England)*. 12, 335-352.
- Kilpatrick, D. C. 1998. Phospholipid-binding activity of human mannan-binding lectin. *Immunology letters*. 61, 191-195.
- Kirkpatrick, C. H. 1994. Chronic mucocutaneous candidiasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 31, S14-17.
- Klis, F. M., de Groot, P., and Hellingwerf, K. 2001. Molecular organization of the cell wall of candida albicans. *Med Mycol*. 39 Suppl 1, 1-8.
- Koh, A. Y., Kohler, J. R., Coggshall, K. T., Van Rooijen, N., and Pier, G. B. 2008. Mucosal damage and neutropenia are required for candida albicans dissemination. *PLoS pathogens*. 4, e35.
- Kojic, E. M. and Darouiche, R. O. 2004. Candida infections of medical devices. *Clinical microbiology reviews*. 17, 255-267.
- Kondoh, O., Tachibana, Y., Ohya, Y., Arisawa, M., and Watanabe, T. 1997. Cloning of the rho1 gene from candida albicans and its regulation of beta-1,3-glucan synthesis. *Journal of bacteriology*. 179, 7734-7741.
- Krarup, A., Sorensen, U. B., Matsushita, M., Jensenius, J. C., and Thiel, S. 2005. Effect of capsulation of opportunistic pathogenic bacteria on binding of the pattern recognition molecules mannan-binding lectin, I-ficolin, and h-ficolin. *Infection and immunity*. 73, 1052-1060.
- Kratzer, C., Graninger, W., Lassnigg, A., and Presterl, E. 2011. Design and use of candida scores at the intensive care unit. *Mycoses*. 54, 467-474.
- Kuroki, Y., Takahashi, M., and Nishitani, C. 2007. Pulmonary collectins in innate immunity of the lung. *Cellular microbiology*. 9, 1871-1879.
- Kuroki, Y. and Voelker, D. R. 1994. Pulmonary surfactant proteins. *The Journal of biological chemistry*. 269, 25943-25946.
- La Valle, R., Bromuro, C., Ranucci, L., Muller, H. M., Crisanti, A., and Cassone, A. 1995. Molecular cloning and expression of a 70-kilodalton heat shock protein of candida albicans. *Infection and immunity*. 63, 4039-4045.
- Lain, A., Elguezabal, N., Brena, S., Garcia-Ruiz, J. C., Del Palacio, A., Moragues, M. D., and Ponton, J. 2007. Diagnosis of invasive candidiasis by enzyme-linked immunosorbent assay using the n-terminal fragment of candida albicans hyphal wall protein 1. *BMC microbiology*. 7, 35.
- Lambourne, J., Agranoff, D., Herbrecht, R., Troke, P. F., Buchbinder, A., Willis, F., Letscher-Bru, V., Agrawal, S., Doffman, S., Johnson, E., White, P. L., Barnes, R. A., Griffin, G., Lindsay, J. A., and Harrison, T. S. 2009. Association of mannose-binding lectin deficiency with acute invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis*. 49, 1486-1491.
- Lamoth, F., Cruciani, M., Mengoli, C., Castagnola, E., Lortholary, O., Richardson, M., and Marchetti, O. 2012. Beta-glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: A systematic review and meta-analysis of cohort studies from the third european conference on infections in leukemia (ecil-3). *Clin Infect Dis*. 54, 633-643.

- Lane, S., Birse, C., Zhou, S., Matson, R., and Liu, H. 2001. DNA array studies demonstrate convergent regulation of virulence factors by *cph1*, *cph2*, and *efg1* in *Candida albicans*. *The Journal of biological chemistry*. 276, 48988-48996.
- Latge, J. P. 2007. The cell wall: A carbohydrate armour for the fungal cell. *Molecular microbiology*. 66, 279-290.
- Laurent, M., Gogly, B., Tahmasebi, F., and Paillaud, E. 2011. [oropharyngeal candidiasis in elderly patients]. *Geriatric et psychologie neuropsychiatrie du vieillissement*. 9, 21-28.
- Lee, S. J., Gonzalez-Aseguinolaza, G., and Nussenzweig, M. C. 2002. Disseminated candidiasis and hepatic malarial infection in mannose-binding-lectin-a-deficient mice. *Molecular and cellular biology*. 22, 8199-8203.
- Lee, S. J., Zheng, N. Y., Clavijo, M., and Nussenzweig, M. C. 2003. Normal host defense during systemic candidiasis in mannose receptor-deficient mice. *Infection and immunity*. 71, 437-445.
- Lefort, A., Chartier, L., Sendid, B., Wolff, M., Mainardi, J. L., Podglajen, I., Desnos-Ollivier, M., Fontanet, A., Bretagne, S., and Lortholary, O. 2012. Diagnosis, management and outcome of candida endocarditis. *Clin Microbiol Infect*. 18, E99-E109.
- Lemaitre, B., Nicolas, E., Michaut, L., Reichhart, J. M., and Hoffmann, J. A. 1996. The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle/toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 86, 973-983.
- Lenardon, M. D., Whitton, R. K., Munro, C. A., Marshall, D., and Gow, N. A. 2007. Individual chitin synthase enzymes synthesize microfibrils of differing structure at specific locations in the *Candida albicans* cell wall. *Molecular microbiology*. 66, 1164-1173.
- Leon, C., Ruiz-Santana, S., Saavedra, P., Almirante, B., Nolla-Salas, J., Alvarez-Lerma, F., Garnacho-Montero, J., and Leon, M. A. 2006. A bedside scoring system ("candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with candida colonization. *Critical care medicine*. 34, 730-737.
- Leroy, O., Gangneux, J. P., Montravers, P., Mira, J. P., Gouin, F., Sollet, J. P., Carlet, J., Reynes, J., Rosenheim, M., Regnier, B., and Lortholary, O. 2009. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive candida infections in critical care: A multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). *Critical care medicine*. 37, 1612-1618.
- Lewis, L. E., Bain, J. M., Lowes, C., Gillespie, C., Rudkin, F. M., Gow, N. A., and Erwig, L. P. Stage specific assessment of candida albicans phagocytosis by macrophages identifies cell wall composition and morphogenesis as key determinants. *PLoS pathogens*. 8, e1002578.
- Lewis, L. E., Bain, J. M., Lowes, C., Gillespie, C., Rudkin, F. M., Gow, N. A., and Erwig, L. P. 2012. Stage specific assessment of candida albicans phagocytosis by macrophages identifies cell wall composition and morphogenesis as key determinants. *PLoS pathogens*. 8, e1002578.
- Lillegard, J. B., Sim, R. B., Thorkildson, P., Gates, M. A., and Kozel, T. R. 2006. Recognition of *Candida albicans* by mannan-binding lectin in vitro and in vivo. *The Journal of infectious diseases*. 193, 1589-1597.
- Linehan, L., Wadsworth, E., and Calderone, R. 1988. *Candida albicans* C3D receptor, isolated by using a monoclonal antibody. *Infection and immunity*. 56, 1981-1986.

- Lipscombe, R. J., Sumiya, M., Hill, A. V., Lau, Y. L., Levinsky, R. J., Summerfield, J. A., and Turner, M. W. 1992. High frequencies in african and non-african populations of independent mutations in the mannose binding protein gene. *Human molecular genetics*. 1, 709-715.
- Liu, Y. and Filler, S. G. 2011. Candida albicans als3, a multifunctional adhesin and invasin. *Eukaryotic cell*. 10, 168-173.
- Lo, H. J., Kohler, J. R., DiDomenico, B., Loebenberg, D., Cacciapuoti, A., and Fink, G. R. 1997. Nonfilamentous c. Albicans mutants are avirulent. *Cell*. 90, 939-949.
- Lopez-Ribot, J. L., Casanova, M., Monteagudo, C., Sepulveda, P., and Martinez, J. P. 1994. Evidence for the presence of a high-affinity laminin receptor-like molecule on the surface of candida albicans yeast cells. *Infection and immunity*. 62, 742-746.
- Lopez-Ribot, J. L., Casanova, M., Murgui, A., and Martinez, J. P. 2004. Antibody response to candida albicans cell wall antigens. *FEMS immunology and medical microbiology*. 41, 187-196.
- Lu, J. H., Thiel, S., Wiedemann, H., Timpl, R., and Reid, K. B. 1990. Binding of the pentamer/hexamer forms of mannan-binding protein to zymosan activates the proenzyme c1r2c1s2 complex, of the classical pathway of complement, without involvement of c1q. *J Immunol*. 144, 2287-2294.
- Lussier, M., Sdicu, A. M., Shahinian, S., and Bussey, H. 1998. The candida albicans kre9 gene is required for cell wall beta-1, 6-glucan synthesis and is essential for growth on glucose. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95, 9825-9830.
- Ma, Y. G., Cho, M. Y., Zhao, M., Park, J. W., Matsushita, M., Fujita, T., and Lee, B. L. 2004. Human mannose-binding lectin and I-ficolin function as specific pattern recognition proteins in the lectin activation pathway of complement. *The Journal of biological chemistry*. 279, 25307-25312.
- Ma, Y. J., Doni, A., Hummelshoj, T., Honore, C., Bastone, A., Mantovani, A., Thielens, N. M., and Garred, P. 2009. Synergy between ficolin-2 and pentraxin 3 boosts innate immune recognition and complement deposition. *The Journal of biological chemistry*. 284, 28263-28275.
- Madan, T., Eggleton, P., Kishore, U., Strong, P., Aggrawal, S. S., Sarma, P. U., and Reid, K. B. 1997. Binding of pulmonary surfactant proteins a and d to aspergillus fumigatus conidia enhances phagocytosis and killing by human neutrophils and alveolar macrophages. *Infection and immunity*. 65, 3171-3179.
- Madsen, H. O., Garred, P., Kurtzhals, J. A., Lamm, L. U., Ryder, L. P., Thiel, S., and Svejgaard, A. 1994. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics*. 40, 37-44.
- Madsen, H. O., Garred, P., Thiel, S., Kurtzhals, J. A., Lamm, L. U., Ryder, L. P., and Svejgaard, A. 1995. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol*. 155, 3013-3020.
- Mansour, M. K., Latz, E., and Levitz, S. M. 2006. Cryptococcus neoformans glycoantigens are captured by multiple lectin receptors and presented by dendritic cells. *J Immunol*. 176, 3053-3061.
- Mansour, M. K. and Levitz, S. M. 2002. Interactions of fungi with phagocytes. *Current opinion in microbiology*. 5, 359-365.

- Mantovani, A., Garlanda, C., Doni, A., and Bottazzi, B. 2008. Pentraxins in innate immunity: From c-reactive protein to the long pentraxin ptx3. *Journal of clinical immunology*. 28, 1-13.
- Marchetti, O., Lamoth, F., Mikulska, M., Viscoli, C., Verweij, P., and Bretagne, S. 2012. Ecol recommendations for the use of biological markers for the diagnosis of invasive fungal diseases in leukemic patients and hematopoietic sct recipients. *Bone marrow transplantation*. 47, 846-854.
- Marklein, G., Josten, M., Klanke, U., Muller, E., Horre, R., Maier, T., Wenzel, T., Kostrzewa, M., Bierbaum, G., Hoerauf, A., and Sahl, H. G. 2009. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *Journal of clinical microbiology*. 47, 2912-2917.
- Marodi, L., Forehand, J. R., and Johnston, R. B., Jr. 1991. Mechanisms of host defense against candida species. II. Biochemical basis for the killing of candida by mononuclear phagocytes. *J Immunol*. 146, 2790-2794.
- Marodi, L., Korchak, H. M., and Johnston, R. B., Jr. 1991. Mechanisms of host defense against candida species. I. Phagocytosis by monocytes and monocyte-derived macrophages. *J Immunol*. 146, 2783-2789.
- Martin, R., Wachtler, B., Schaller, M., Wilson, D., and Hube, B. Host-pathogen interactions and virulence-associated genes during candida albicans oral infections. *Int J Med Microbiol*. 301, 417-422.
- Martinez-Gomariz, M., Perumal, P., Mekala, S., Nombela, C., Chaffin, W. L., and Gil, C. 2009. Proteomic analysis of cytoplasmic and surface proteins from yeast cells, hyphae, and biofilms of candida albicans. *Proteomics*. 9, 2230-2252.
- Masuoka, J. 2004. Surface glycans of candida albicans and other pathogenic fungi: Physiological roles, clinical uses, and experimental challenges. *Clinical microbiology reviews*. 17, 281-310.
- Matsushita, M., Thiel, S., Jensenius, J. C., Terai, I., and Fujita, T. 2000. Proteolytic activities of two types of mannose-binding lectin-associated serine protease. *J Immunol*. 165, 2637-2642.
- Matthews, R. and Burnie, J. 2001. Antifungal antibodies: A new approach to the treatment of systemic candidiasis. *Curr Opin Investig Drugs*. 2, 472-476.
- Matthews, R. and Burnie, J. 1989. Cloning of a DNA sequence encoding a major fragment of the 47 kilodalton stress protein homologue of candida albicans. *FEMS microbiology letters*. 51, 25-30.
- Matthews, R., Burnie, J. P., and Lee, W. 1991. The application of epitope mapping in the development of a new serological test for systemic candidosis. *Journal of immunological methods*. 143, 73-79.
- Matthews, R. C. 1992. The 14th c. L. Oakley lecture. Candida albicans hsp 90: Link between protective and auto immunity. *Journal of medical microbiology*. 36, 367-370.
- Mc, C. J. 1948. Mucins and mucoids in relation to influenza virus action; isolation and characterization of the serum mucoid inhibitor of heated influenza virus. *The Australian journal of experimental biology and medical science*. 26, 355-370.
- Means, T. K., Mylonakis, E., Tampakakis, E., Colvin, R. A., Seung, E., Puckett, L., Tai, M. F., Stewart, C. R., Pukkila-Worley, R., Hickman, S. E., Moore, K. J., Calderwood, S. B., Hachohen, N., Luster, A. D., and El Khoury, J. 2009. Evolutionarily conserved recognition and innate immunity to fungal pathogens by the scavenger receptors scarf1 and cd36. *The Journal of experimental medicine*. 206, 637-653.

- Mikulska, M., Calandra, T., Sanguinetti, M., Poulain, D., and Viscoli, C. 2010. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: Recommendations from the third european conference on infections in leukemia. *Critical care (London, England)*. 14, R222.
- Mille, C., Fradin, C., Delplace, F., Trinel, P. A., Masset, A., Francois, N., Coddeville, B., Bobrowicz, P., Jouault, T., Guerardel, Y., Wildt, S., Janbon, G., and Poulain, D. 2012. Members 5 and 6 of the candida albicans bmt family encode enzymes acting specifically on beta-mannosylation of the phospholipomannan cell-wall glycosphingolipid. *Glycobiology*. 22, 1332-1342.
- Mille, C., Janbon, G., Delplace, F., Ibata-Ombetta, S., Gaillardin, C., Strecker, G., Jouault, T., Trinel, P. A., and Poulain, D. 2004. Inactivation of camit1 inhibits candida albicans phospholipomannan beta-mannosylation, reduces virulence, and alters cell wall protein beta-mannosylation. *The Journal of biological chemistry*. 279, 47952-47960.
- Millon, L., Drobacheff, C., Piarroux, R., Monod, M., Reboux, G., Laurent, R., and Meillet, D. 2001. Longitudinal study of anti-candida albicans mucosal immunity against aspartic proteinases in hiv-infected patients. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 26, 137-144.
- Mio, T., Yabe, T., Sudoh, M., Satoh, Y., Nakajima, T., Arisawa, M., and Yamada-Okabe, H. 1996. Role of three chitin synthase genes in the growth of candida albicans. *Journal of bacteriology*. 178, 2416-2419.
- Mio, T., Yamada-Okabe, T., Yabe, T., Nakajima, T., Arisawa, M., and Yamada-Okabe, H. 1997. Isolation of the candida albicans homologs of saccharomyces cerevisiae kre6 and skn1: Expression and physiological function. *Journal of bacteriology*. 179, 2363-2372.
- Mishra, P., Bolard, J., and Prasad, R. 1992. Emerging role of lipids of candida albicans, a pathogenic dimorphic yeast. *Biochimica et biophysica acta*. 1127, 1-14.
- Mitsutake, K., Kohno, S., Miyazaki, T., Miyazaki, H., Maesaki, S., and Koga, H. 1994. Detection of candida enolase antibody in patients with candidiasis. *Journal of clinical laboratory analysis*. 8, 207-210.
- Mitsutake, K., Miyazaki, T., Tashiro, T., Yamamoto, Y., Kakeya, H., Otsubo, T., Kawamura, S., Hossain, M. A., Noda, T., Hirakata, Y., and Kohno, S. 1996. Enolase antigen, mannan antigen, cand-tec antigen, and beta-glucan in patients with candidemia. *Journal of clinical microbiology*. 34, 1918-1921.
- Moens, E. and Veldhoen, M. 2012. Epithelial barrier biology: Good fences make good neighbours. *Immunology*. 135, 1-8.
- Molano, J., Bowers, B., and Cabib, E. 1980. Distribution of chitin in the yeast cell wall. An ultrastructural and chemical study. *The Journal of cell biology*. 85, 199-212.
- Moller-Kristensen, M., Ip, W. K., Shi, L., Gowda, L. D., Hamblin, M. R., Thiel, S., Jensenius, J. C., Ezekowitz, R. A., and Takahashi, K. 2006. Deficiency of mannose-binding lectin greatly increases susceptibility to postburn infection with pseudomonas aeruginosa. *J Immunol*. 176, 1769-1775.
- Monod, M., Hube, B., Hess, D., and Sanglard, D. 1998. Differential regulation of sap8 and sap9, which encode two new members of the secreted aspartic proteinase family in candida albicans. *Microbiology (Reading, England)*. 144 (Pt 10), 2731-2737.

- Mora-Montes, H. M., McKenzie, C., Bain, J. M., Lewis, L. E., Erwig, L. P., and Gow, N. A. 2012. Interactions between macrophages and cell wall oligosaccharides of *Candida albicans*. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 845, 247-260.
- Morrell, M., Fraser, V. J., and Kollef, M. H. 2005. Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: A potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 49, 3640-3645.
- Mouyna, I., Monod, M., Fontaine, T., Henrissat, B., Lechenne, B., and Latge, J. P. 2000. Identification of the catalytic residues of the first family of beta(1-3)glucanosyltransferases identified in fungi. *The Biochemical journal*. 347 Pt 3, 741-747.
- Muller, S., Schaffer, T., Flogerzi, B., Seibold-Schmid, B., Schnider, J., Takahashi, K., Darfeuille-Michaud, A., Vazeille, E., Schoepfer, A. M., and Seibold, F. 2010. Mannan-binding lectin deficiency results in unusual antibody production and excessive experimental colitis in response to mannose-expressing mild gut pathogens. *Gut*. 59, 1493-1500.
- Munoz, P., Bouza, E., San Juan, R., Voss, A., Pascau, J., and Desco, M. 2004. Clinical-epidemiological characteristics and outcome of patients with catheter-related bloodstream infections in Europe (ESGNI-006 study). *Clin Microbiol Infect*. 10, 843-845.
- Munro, C. A. and Gow, N. A. 2001. Chitin synthesis in human pathogenic fungi. *Med Mycol*. 39 Suppl 1, 41-53.
- Munro, C. A., Schofield, D. A., Gooday, G. W., and Gow, N. A. 1998. Regulation of chitin synthesis during dimorphic growth of *Candida albicans*. *Microbiology (Reading, England)*. 144 (Pt 2), 391-401.
- Munro, C. A., Whitton, R. K., Hughes, H. B., Rella, M., Selvaggini, S., and Gow, N. A. 2003. Chs8-a fourth chitin synthase gene of *Candida albicans* contributes to in vitro chitin synthase activity, but is dispensable for growth. *Fungal genetics and biology : FG & B*. 40, 146-158.
- Munro, C. A., Winter, K., Buchan, A., Henry, K., Becker, J. M., Brown, A. J., Bulawa, C. E., and Gow, N. A. 2001. Chs1 of *Candida albicans* is an essential chitin synthase required for synthesis of the septum and for cell integrity. *Molecular microbiology*. 39, 1414-1426.
- Murciano, C., Villamon, E., Gozalbo, D., Roig, P., O'Connor, J. E., and Gil, M. L. 2006. Toll-like receptor 4 defective mice carrying point or null mutations do not show increased susceptibility to *Candida albicans* in a model of hematogenously disseminated infection. *Med Mycol*. 44, 149-157.
- Muto, S., Sakuma, K., Taniguchi, A., and Matsumoto, K. 1999. Human mannose-binding lectin preferentially binds to human colon adenocarcinoma cell lines expressing high amount of Lewis a and Lewis b antigens. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 22, 347-352.
- Muto, S., Takada, T., and Matsumoto, K. 2001. Biological activities of human mannose-binding lectin bound to two different ligand sugar structures, Lewis a and Lewis b antigens and high-mannose type oligosaccharides. *Biochimica et biophysica acta*. 1527, 39-46.
- Naglik, J. R., Challacombe, S. J., and Hube, B. 2003. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*. 67, 400-428, table of contents.
- Nakao, A., Kato, H., Kanbe, T., Tanaka, K., Tamura, H., Tanaka, S., and Takagi, H. 1994. Quantitative assay of (1-3)-beta-D-glucan in culture media of *Candida*

- albicans using the g-test. *European surgical research. Europäische chirurgische Forschung.* 26, 194-200.
- Nauta, A. J., Bottazzi, B., Mantovani, A., Salvatori, G., Kishore, U., Schwaeble, W. J., Gingras, A. R., Tzima, S., Vivanco, F., Egido, J., Tijmsa, O., Hack, E. C., Daha, M. R., and Roos, A. 2003. Biochemical and functional characterization of the interaction between pentraxin 3 and c1q. *European journal of immunology.* 33, 465-473.
- Navarathna, D. H., Hornby, J. M., Hoerrmann, N., Parkhurst, A. M., Duhamel, G. E., and Nickerson, K. W. 2005. Enhanced pathogenicity of candida albicans pre-treated with subinhibitory concentrations of fluconazole in a mouse model of disseminated candidiasis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy.* 56, 1156-1159.
- Netea, M. G., Brown, G. D., Kullberg, B. J., and Gow, N. A. 2008. An integrated model of the recognition of candida albicans by the innate immune system. *Nature reviews. Microbiology.* 6, 67-78.
- Netea, M. G., Ferwerda, G., de Jong, D. J., Jansen, T., Jacobs, L., Kramer, M., Naber, T. H., Drenth, J. P., Girardin, S. E., Kullberg, B. J., Adema, G. J., and Van der Meer, J. W. 2005. Nucleotide-binding oligomerization domain-2 modulates specific tlr pathways for the induction of cytokine release. *J Immunol.* 174, 6518-6523.
- Netea, M. G., Gow, N. A., Munro, C. A., Bates, S., Collins, C., Ferwerda, G., Hobson, R. P., Bertram, G., Hughes, H. B., Jansen, T., Jacobs, L., Buurman, E. T., Gijzen, K., Williams, D. L., Torensma, R., McKinnon, A., MacCallum, D. M., Odds, F. C., Van der Meer, J. W., Brown, A. J., and Kullberg, B. J. 2006. Immune sensing of candida albicans requires cooperative recognition of mannans and glucans by lectin and toll-like receptors. *The Journal of clinical investigation.* 116, 1642-1650.
- Netea, M. G., Suttmuller, R., Hermann, C., Van der Graaf, C. A., Van der Meer, J. W., van Krieken, J. H., Hartung, T., Adema, G., and Kullberg, B. J. 2004. Toll-like receptor 2 suppresses immunity against candida albicans through induction of il-10 and regulatory t cells. *J Immunol.* 172, 3712-3718.
- Neth, O., Jack, D. L., Dodds, A. W., Holzel, H., Klein, N. J., and Turner, M. W. 2000. Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infection and immunity.* 68, 688-693.
- Nieminen, J., St-Pierre, C., Bhaumik, P., Poirier, F., and Sato, S. 2008. Role of galectin-3 in leukocyte recruitment in a murine model of lung infection by streptococcus pneumoniae. *J Immunol.* 180, 2466-2473.
- Nonaka, M., Ma, B. Y., Ohtani, M., Yamamoto, A., Murata, M., Totani, K., Ito, Y., Miwa, K., Nogami, W., Kawasaki, N., and Kawasaki, T. 2007. Subcellular localization and physiological significance of intracellular mannan-binding protein. *The Journal of biological chemistry.* 282, 17908-17920.
- Nucci, M. 2000. Candiduria in hospitalized patients: A review. *Braz J Infect Dis.* 4, 168-172.
- Nucci, M. and Anaissie, E. 2001. Revisiting the source of candidemia: Skin or gut? *Clin Infect Dis.* 33, 1959-1967.
- Obayashi, T., Yoshida, M., Mori, T., Goto, H., Yasuoka, A., Iwasaki, H., Teshima, H., Kohno, S., Horiuchi, A., Ito, A., and et al. 1995. Plasma (1-->3)-beta-d-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet.* 345, 17-20.

- Ogden, C. A., deCathelineau, A., Hoffmann, P. R., Bratton, D., Ghebrehiwet, B., Fadok, V. A., and Henson, P. M. 2001. C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and cd91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells. *The Journal of experimental medicine*. 194, 781-795.
- Oliva, A. M., Pavan, P. R., Margo, C. E., and Pautler, S. E. 2009. Recalcitrant candida endophthalmitis associated with mannose-binding lectin deficiency. *Archives of ophthalmology*. 127, 822-823.
- Oliveira, F. L., Chammas, R., Ricon, L., Fermino, M. L., Bernardes, E. S., Hsu, D. K., Liu, F. T., Borojevic, R., and El-Cheikh, M. C. 2009. Galectin-3 regulates peritoneal b1-cell differentiation into plasma cells. *Glycobiology*. 19, 1248-1258.
- Ostrosky-Zeichner, L., Alexander, B. D., Kett, D. H., Vazquez, J., Pappas, P. G., Saeki, F., Ketchum, P. A., Wingard, J., Schiff, R., Tamura, H., Finkelman, M. A., and Rex, J. H. 2005. Multicenter clinical evaluation of the (1-->3) beta-d-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis*. 41, 654-659.
- Ouellette, A. J. and Selsted, M. E. 2012. Immunology. Hd6 defensin nanonets. *Science (New York, N.Y.)* 337, 420-421.
- Ozcan, K., Ilkit, M., Ates, A., Turac-Bicer, A., and Demirhindi, H. 2010. Performance of chromogenic candida agar and chromagar candida in recovery and presumptive identification of monofungal and polyfungal vaginal isolates. *Med Mycol*. 48, 29-34.
- Pachl, J., Svoboda, P., Jacobs, F., Vandewoude, K., van der Hoven, B., Spronk, P., Masterson, G., Malbrain, M., Aoun, M., Garbino, J., Takala, J., Drgona, L., Burnie, J., and Matthews, R. 2006. A randomized, blinded, multicenter trial of lipid-associated amphotericin b alone versus in combination with an antibody-based inhibitor of heat shock protein 90 in patients with invasive candidiasis. *Clin Infect Dis*. 42, 1404-1413.
- Pagano, L., Caira, M., Candoni, A., Offidani, M., Fianchi, L., Martino, B., Pastore, D., Picardi, M., Bonini, A., Chierichini, A., Fanci, R., Caramatti, C., Invernizzi, R., Mattei, D., Mitra, M. E., Melillo, L., Aversa, F., Van Lint, M. T., Falcucci, P., Valentini, C. G., Girmenia, C., and Nosari, A. 2006. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: The seifem-2004 study. *Haematologica*. 91, 1068-1075.
- Palaniyar, N., Nadesalingam, J., Clark, H., Shih, M. J., Dodds, A. W., and Reid, K. B. 2004. Nucleic acid is a novel ligand for innate, immune pattern recognition collectins surfactant proteins a and d and mannose-binding lectin. *The Journal of biological chemistry*. 279, 32728-32736.
- Pamer, E. G. 2007. Immune responses to commensal and environmental microbes. *Nature immunology*. 8, 1173-1178.
- Pappas, P. G. and Silveira, F. P. 2009. Candida in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 9 Suppl 4, S173-179.
- Park, B. R., Kim, T. H., Kim, H. R., and Lee, M. K. 2011. Comparative analysis of simulated candidemia using two different blood culture systems and the rapid identification of candida albicans. *Annals of clinical and laboratory science*. 41, 251-256.
- Parra-Herran, C. E., Pelaez, L., Sola, J. E., Urbiztondo, A. K., and Rodriguez, M. M. 2010. Intestinal candidiasis: An uncommon cause of necrotizing enterocolitis (nec) in neonates. *Fetal and pediatric pathology*. 29, 172-180.

- Paya, C. V. 2001. Prevention of fungal and hepatitis virus infections in liver transplantation. *Clin Infect Dis.* 33 Suppl 1, S47-52.
- Pelletier, I. and Sato, S. 2002. Specific recognition and cleavage of galectin-3 by leishmania major through species-specific polygalactose epitope. *The Journal of biological chemistry.* 277, 17663-17670.
- Perlroth, J., Choi, B., and Spellberg, B. 2007. Nosocomial fungal infections: Epidemiology, diagnosis, and treatment. *Med Mycol.* 45, 321-346.
- Pfaller, M. A. and Diekema, D. J. 2007. Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clinical microbiology reviews.* 20, 133-163.
- Pfeiffer, C. D., Samsa, G. P., Schell, W. A., Reller, L. B., Perfect, J. R., and Alexander, B. D. 2011. Quantitation of candida cfu in initial positive blood cultures. *Journal of clinical microbiology.* 49, 2879-2883.
- Piarroux, R., Grenouillet, F., Balvay, P., Tran, V., Blasco, G., Millon, L., and Boillot, A. 2004. Assessment of preemptive treatment to prevent severe candidiasis in critically ill surgical patients. *Critical care medicine.* 32, 2443-2449.
- Pihet, M., Poulain, D., De Seze, J., Camus, D., and Sendid, B. 2005. [candida albicans meningo-encephalo-myelo-radicalitis at an addict]. *Annales de biologie clinique.* 63, 547-552.
- Pitarch, A., Diez-Orejas, R., Molero, G., Pardo, M., Sanchez, M., Gil, C., and Nombela, C. 2001. Analysis of the serologic response to systemic candida albicans infection in a murine model. *Proteomics.* 1, 550-559.
- Pittet, D., Monod, M., Suter, P. M., Frenk, E., and Auckenthaler, R. 1994. Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Annals of surgery.* 220, 751-758.
- Plantinga, T. S., Johnson, M. D., Scott, W. K., van de Vosse, E., Velez Edwards, D. R., Smith, P. B., Alexander, B. D., Yang, J. C., Kremer, D., Laird, G. M., Oosting, M., Joosten, L. A., van der Meer, J. W., van Dissel, J. T., Walsh, T. J., Perfect, J. R., Kullberg, B. J., and Netea, M. G. 2012. Toll-like receptor 1 polymorphisms increase susceptibility to candidemia. *The Journal of infectious diseases.* 205, 934-943.
- Plantinga, T. S., van der Velden, W. J., Ferwerda, B., van Spruiel, A. B., Adema, G., Feuth, T., Donnelly, J. P., Brown, G. D., Kullberg, B. J., Blijlevens, N. M., and Netea, M. G. 2009. Early stop polymorphism in human dectin-1 is associated with increased candida colonization in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 49, 724-732.
- Porubcin, S., Porubcinova, I., Kristian, P., Virag, L., Stammova, E., Vyhnankova, V., and Paralicova, Z. 2012. [invasive pulmonary aspergillosis and esophageal candidiasis in a patient with decompensated liver cirrhosis due to chronic hepatitis c and alcohol]. *Klinicka mikrobiologie a infekcni lekarstvi.* 18, 17-21.
- Poulain, D., Robert, R., Mesnard, F., Sendid, B., Lepage, G., and Camus, D. 1997. Clearances of candida albicans-derived alpha- and beta-linked mannose residues in sera from patients with candidiasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 16, 16-20.
- Qing, C., Min, L., Rong-Cai, T., Wei-Da, L., Wu-Qing, Z., Yong-Nian, S., and Gui-Xia, L. 2011. Effect of phospholipomannan of candida albicans on the production of interleukin 6 and interleukin 8 in monocytes. *Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae.* 33, 371-374.
- Quindos, G., Fernandez-Rodriguez, M., Burgos, A., Tellaetxe, M., Cisterna, R., and Ponton, J. 1992. Colony morphotype on sabouraud-triphenyltetrazolium agar:

- A simple and inexpensive method for candida subspecies discrimination. *Journal of clinical microbiology*. 30, 2748-2752.
- Rabinovich, G. A. and Toscano, M. A. 2009. Turning 'sweet' on immunity: Galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation. *Nature reviews*. 9, 338-352.
- Ramage, G., Saville, S. P., Thomas, D. P., and Lopez-Ribot, J. L. 2005. Candida biofilms: An update. *Eukaryotic cell*. 4, 633-638.
- Ramage, G., Vandewalle, K., Wickes, B. L., and Lopez-Ribot, J. L. 2001. Characteristics of biofilm formation by candida albicans. *Rev Iberoam Micol*. 18, 163-170.
- Reid, D. M., Gow, N. A., and Brown, G. D. 2009. Pattern recognition: Recent insights from dectin-1. *Current opinion in immunology*. 21, 30-37.
- Richardson, M. and Rautemaa, R. 2009. How the host fights against candida infections. *Front Biosci (Schol Ed)*. 1, 246-257.
- Risch, M., Radjenovic, D., Han, J. N., Wydler, M., Nydegger, U., and Risch, L. 2010. Comparison of maldi tof with conventional identification of clinically relevant bacteria. *Swiss medical weekly*. 140, w13095.
- Roilides, E. 2011. Invasive candidiasis in neonates and children. *Early human development*. 87 Suppl 1, S75-76.
- Romani, L. 2004. Immunity to fungal infections. *Nature reviews*. 4, 1-23.
- Romani, L. 2000. Innate and adaptive immunity in candida albicans infections and saprophytism. *Journal of leukocyte biology*. 68, 175-179.
- Romero, A., Garces, R., Luengo, J., Gomar, S., Fernandez, J. A., and Gregori, J. 2012. Invasive candidiasis: Candida parapsilosis endocarditis over aortic valve prosthesis. *Medicina intensiva / Sociedad Espanola de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias*.
- Ruas, L. P., Bernardes, E. S., Fermino, M. L., de Oliveira, L. L., Hsu, D. K., Liu, F. T., Chammas, R., and Roque-Barreira, M. C. 2009. Lack of galectin-3 drives response to paracoccidioides brasiliensis toward a th2-biased immunity. *PloS one*. 4, e4519.
- Ruiz-Herrera, J., Elorza, M. V., Valentin, E., and Sentandreu, R. 2006. Molecular organization of the cell wall of candida albicans and its relation to pathogenicity. *FEMS yeast research*. 6, 14-29.
- Runza, V. L., Schwaebler, W., and Mannel, D. N. 2008. Ficolins: Novel pattern recognition molecules of the innate immune response. *Immunobiology*. 213, 297-306.
- Saijo, S., Fujikado, N., Furuta, T., Chung, S. H., Kotaki, H., Seki, K., Sudo, K., Akira, S., Adachi, Y., Ohno, N., Kinjo, T., Nakamura, K., Kawakami, K., and Iwakura, Y. 2007. Dectin-1 is required for host defense against pneumocystis carinii but not against candida albicans. *Nature immunology*. 8, 39-46.
- Sainz, J., Lupianez, C. B., Segura-Catena, J., Vazquez, L., Rios, R., Oyonarte, S., Hemminki, K., Forsti, A., and Jurado, M. 2012. Dectin-1 and dc-sign polymorphisms associated with invasive pulmonary aspergillus infection. *PloS one*. 7, e32273.
- Santoni, G., Gismondi, A., Liu, J. H., Punturieri, A., Santoni, A., Frati, L., Piccoli, M., and Djeu, J. Y. 1994. Candida albicans expresses a fibronectin receptor antigenically related to alpha 5 beta 1 integrin. *Microbiology (Reading, England)*. 140 (Pt 11), 2971-2979.
- Sarthy, A. V., McGonigal, T., Coen, M., Frost, D. J., Meulbroek, J. A., and Goldman, R. C. 1997. Phenotype in candida albicans of a disruption of the bgl2 gene

- encoding a 1,3-beta-glucosyltransferase. *Microbiology (Reading, England)*. 143 (Pt 2), 367-376.
- Sastry, K., Herman, G. A., Day, L., Deignan, E., Bruns, G., Morton, C. C., and Ezekowitz, R. A. 1989. The human mannose-binding protein gene. Exon structure reveals its evolutionary relationship to a human pulmonary surfactant gene and localization to chromosome 10. *The Journal of experimental medicine*. 170, 1175-1189.
- Sastry, R., Wang, J. S., Brown, D. C., Ezekowitz, R. A., Tauber, A. I., and Sastry, K. N. 1995. Characterization of murine mannose-binding protein genes mbl1 and mbl2 reveals features common to other collectin genes. *Mamm Genome*. 6, 103-110.
- Schaeffer, L. M., McCormack, F. X., Wu, H., and Weiss, A. A. 2004. Bordetella pertussis lipopolysaccharide resists the bactericidal effects of pulmonary surfactant protein a. *J Immunol*. 173, 1959-1965.
- Schneider, J. J., Unholzer, A., Schaller, M., Schafer-Korting, M., and Korting, H. C. 2005. Human defensins. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*. 83, 587-595.
- Seibold, F., Konrad, A., Flogerzi, B., Seibold-Schmid, B., Arni, S., Juliger, S., and Kun, J. F. 2004. Genetic variants of the mannan-binding lectin are associated with immune reactivity to mannans in crohn's disease. *Gastroenterology*. 127, 1076-1084.
- Selvaggini, S., Munro, C. A., Paschoud, S., Sanglard, D., and Gow, N. A. 2004. Independent regulation of chitin synthase and chitinase activity in candida albicans and saccharomyces cerevisiae. *Microbiology (Reading, England)*. 150, 921-928.
- Sendid, B., Ducoroy, P., Francois, N., Lucchi, G., Spinali, S., Vagner, O., Damiens, S., Bonnin, A., Poulain, D., and Dalle, F. Evaluation of maldi-tof mass spectrometry for the identification of medically-important yeasts in the clinical laboratories of dijon and lille hospitals. *Med Mycol*.
- Sendid, B., Francois, N., Standaert, A., Dehecq, E., Zerimech, F., Camus, D., and Poulain, D. 2007. Prospective evaluation of the new chromogenic medium candiselect 4 for differentiation and presumptive identification of the major pathogenic candida species. *Journal of medical microbiology*. 56, 495-499.
- Sendid, B., Poirot, J. L., Tabouret, M., Bonnin, A., Caillot, D., Camus, D., and Poulain, D. 2002. Combined detection of mannanaemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic candida species. *Journal of medical microbiology*. 51, 433-442.
- Senn, L., Robinson, J. O., Schmidt, S., Knaup, M., Asahi, N., Satomura, S., Matsuura, S., Duvoisin, B., Bille, J., Calandra, T., and Marchetti, O. 2008. 1,3-beta-d-glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia. *Clin Infect Dis*. 46, 878-885.
- Seppanen, M., Lokki, M. L., Lappalainen, M., Hiltunen-Back, E., Rovio, A. T., Kares, S., Hurme, M., and Aittoniemi, J. 2009. Mannose-binding lectin 2 gene polymorphism in recurrent herpes simplex virus 2 infection. *Human immunology*. 70, 218-221.
- Seyfarth, F., Wiegand, C., Erhard, M., Graser, Y., Elsner, P., and Hipler, U. C. 2012. Identification of yeast isolated from dermatological patients by maldi-tof mass spectrometry. *Mycoses*. 55, 276-280.
- Shahinian, S., Dijkgraaf, G. J., Sdicu, A. M., Thomas, D. Y., Jakob, C. A., Aebi, M., and Bussey, H. 1998. Involvement of protein n-glycosyl chain glucosylation

- and processing in the biosynthesis of cell wall beta-1,6-glucan of *saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*. 149, 843-856.
- Shepherd, M. G. 1987. Cell envelope of *candida albicans*. *Critical reviews in microbiology*. 15, 7-25.
- Sheriff, S., Chang, C. Y., and Ezekowitz, R. A. 1994. Human mannose-binding protein carbohydrate recognition domain trimerizes through a triple alpha-helical coiled-coil. *Nature structural biology*. 1, 789-794.
- Shi, L., Takahashi, K., Dundee, J., Shahroor-Karni, S., Thiel, S., Jensenius, J. C., Gad, F., Hamblin, M. R., Sastry, K. N., and Ezekowitz, R. A. 2004. Mannose-binding lectin-deficient mice are susceptible to infection with *staphylococcus aureus*. *The Journal of experimental medicine*. 199, 1379-1390.
- Shinozaki, S., Moriyama, M., Hayashida, J. N., Tanaka, A., Maehara, T., Ieda, S., and Nakamura, S. 2012. Close association between oral *candida* species and oral mucosal disorders in patients with xerostomia. *Oral diseases*.
- Smithson, A., Perello, R., Horcajada, J. P., Nicolas, J. M., and Lozano, F. 2008. Is mannose-binding lectin deficiency associated with infection due to gram-positive bacteria? *Clin Infect Dis*. 47, 1492-1493; author reply 1493.
- Smits, G. J., Kapteyn, J. C., van den Ende, H., and Klis, F. M. 1999. Cell wall dynamics in yeast. *Current opinion in microbiology*. 2, 348-352.
- Staab, J. F., Bradway, S. D., Fidel, P. L., and Sundstrom, P. 1999. Adhesive and mammalian transglutaminase substrate properties of *candida albicans* hwp1. *Science (New York, N.Y.)* 283, 1535-1538.
- Stowell, S. R., Qian, Y., Karmakar, S., Koyama, N. S., Dias-Baruffi, M., Leffler, H., McEver, R. P., and Cummings, R. D. 2008. Differential roles of galectin-1 and galectin-3 in regulating leukocyte viability and cytokine secretion. *J Immunol*. 180, 3091-3102.
- Stuart, L. M., Takahashi, K., Shi, L., Savill, J., and Ezekowitz, R. A. 2005. Mannose-binding lectin-deficient mice display defective apoptotic cell clearance but no autoimmune phenotype. *J Immunol*. 174, 3220-3226.
- Stubbs, H. J., Brasch, D. J., Emerson, G. W., and Sullivan, P. A. 1999. Hydrolase and transferase activities of the beta-1,3-exoglucanase of *candida albicans*. *European journal of biochemistry / FEBS*. 263, 889-895.
- Sumiya, M., Super, M., Tabona, P., Levinsky, R. J., Arai, T., Turner, M. W., and Summerfield, J. A. 1991. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet*. 337, 1569-1570.
- Super, M., Gillies, S. D., Foley, S., Sastry, K., Schweinle, J. E., Silverman, V. J., and Ezekowitz, R. A. 1992. Distinct and overlapping functions of allelic forms of human mannose binding protein. *Nature genetics*. 2, 50-55.
- Surarit, R., Gopal, P. K., and Shepherd, M. G. 1988. Evidence for a glycosidic linkage between chitin and glucan in the cell wall of *candida albicans*. *Journal of general microbiology*. 134, 1723-1730.
- Swain, S. D., Lee, S. J., Nussenzweig, M. C., and Harmsen, A. G. 2003. Absence of the macrophage mannose receptor in mice does not increase susceptibility to *pneumocystis carinii* infection in vivo. *Infection and immunity*. 71, 6213-6221.
- Switchenko, A. C., Miyada, C. G., Goodman, T. C., Walsh, T. J., Wong, B., Becker, M. J., and Ullman, E. F. 1994. An automated enzymatic method for measurement of d-arabinitol, a metabolite of pathogenic *candida* species. *Journal of clinical microbiology*. 32, 92-97.

- Swoboda, R. K., Bertram, G., Budge, S., Gooday, G. W., Gow, N. A., and Brown, A. J. 1995. Structure and regulation of the hsp90 gene from the pathogenic fungus *Candida albicans*. *Infection and immunity*. 63, 4506-4514.
- Tada, H., Nemoto, E., Shimauchi, H., Watanabe, T., Mikami, T., Matsumoto, T., Ohno, N., Tamura, H., Shibata, K., Akashi, S., Miyake, K., Sugawara, S., and Takada, H. 2002. *Saccharomyces cerevisiae*- and *Candida albicans*-derived mannan induced production of tumor necrosis factor alpha by human monocytes in a cd14- and toll-like receptor 4-dependent manner. *Microbiology and immunology*. 46, 503-512.
- Takahara, K., Yashima, Y., Omatsu, Y., Yoshida, H., Kimura, Y., Kang, Y. S., Steinman, R. M., Park, C. G., and Inaba, K. 2004. Functional comparison of the mouse dc-sign, signr1, signr3 and langerin, c-type lectins. *International immunology*. 16, 819-829.
- Takahashi, K., Chang, W. C., Takahashi, M., Pavlov, V., Ishida, Y., La Bonte, L., Shi, L., Fujita, T., Stahl, G. L., and Van Cott, E. M. 2011. Mannose-binding lectin and its associated proteases (masps) mediate coagulation and its deficiency is a risk factor in developing complications from infection, including disseminated intravascular coagulation. *Immunobiology*. 216, 96-102.
- Takaki, Y., Seki, N., Kawabata Si, S., Iwanaga, S., and Muta, T. 2002. Duplicated binding sites for (1->3)-beta-d-glucan in the horseshoe crab coagulation factor g: Implications for a molecular basis of the pattern recognition in innate immunity. *The Journal of biological chemistry*. 277, 14281-14287.
- Teh, C., Le, Y., Lee, S. H., and Lu, J. 2000. M-ficolin is expressed on monocytes and is a lectin binding to n-acetyl-d-glucosamine and mediates monocyte adhesion and phagocytosis of *Escherichia coli*. *Immunology*. 101, 225-232.
- Thiel, S., Holmskov, U., Hviid, L., Laursen, S. B., and Jensenius, J. C. 1992. The concentration of the c-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. *Clinical and experimental immunology*. 90, 31-35.
- Toh-e, A., Yasunaga, S., Nisogi, H., Tanaka, K., Oguchi, T., and Matsui, Y. 1993. Three yeast genes, *pir1*, *pir2* and *pir3*, containing internal tandem repeats, are related to each other, and *pir1* and *pir2* are required for tolerance to heat shock. *Yeast*. 9, 481-494.
- Tortorano, A. M., Peman, J., Bernhardt, H., Klingspor, L., Kibbler, C. C., Faure, O., Biraghi, E., Canton, E., Zimmermann, K., Seaton, S., and Grillot, R. 2004. Epidemiology of candidaemia in Europe: Results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 23, 317-322.
- Toscano, M. A., Tongren, J. E., De Souza, J. B., Liu, F. T., Riley, E. M., and Rabinovich, G. A. Endogenous galectin-3 controls experimental malaria in a species-specific manner. *Parasite immunology*. 34, 383-387.
- Trinel, P. A., Borg-von-Zepelin, M., Lepage, G., Jouault, T., Mackenzie, D., and Poulain, D. 1993. Isolation and preliminary characterization of the 14- to 18-kilodalton *Candida albicans* antigen as a phospholipomannan containing beta-1,2-linked oligomannosides. *Infection and immunity*. 61, 4398-4405.
- Trinel, P. A., Delplace, F., Maes, E., Zanetta, J. P., Mille, C., Coddeville, B., Jouault, T., Strecker, G., and Poulain, D. 2005. *Candida albicans* serotype b strains synthesize a serotype-specific phospholipomannan overexpressing a beta-1,2-linked mannotriose. *Molecular microbiology*. 58, 984-998.

- Trinel, P. A., Husson, M. O., Izard, D., Gavini, F., and Leclerc, H. 1987. [comparative immunological study of glyceraldehydephosphate dehydrogenase in enterobacteriaceae: Contribution of an anti-glyceraldehydephosphate dehydrogenase antiserum of enterobacter intermedium]. *Annales de l'Institut Pasteur. Microbiology*. 138, 201-212.
- Tronchin, G., Poulain, D., Herbaut, J., and Biguet, J. 1981. Localization of chitin in the cell wall of candida albicans by means of wheat germ agglutinin. Fluorescence and ultrastructural studies. *European journal of cell biology*. 26, 121-128.
- Tumbarello, M., Tacconelli, E., de Gaetano Donati, K., Morace, G., Fadda, G., and Cauda, R. 1999. Candidemia in hiv-infected subjects. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 18, 478-483.
- Turner, M. W. 2003. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Molecular immunology*. 40, 423-429.
- Urban, C. and Zychlinsky, A. 2007. Netting bacteria in sepsis. *Nature medicine*. 13, 403-404.
- Urban, C. F., Ermert, D., Schmid, M., Abu-Abed, U., Goosmann, C., Nacken, W., Brinkmann, V., Jungblut, P. R., and Zychlinsky, A. 2009. Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against candida albicans. *PLoS pathogens*. 5, e1000639.
- Urban, C. F., Lourido, S., and Zychlinsky, A. 2006. How do microbes evade neutrophil killing? *Cellular microbiology*. 8, 1687-1696.
- van Asbeck, E. C., Hoepelman, A. I., Scharringa, J., Herpers, B. L., and Verhoef, J. 2008. Mannose binding lectin plays a crucial role in innate immunity against yeast by enhanced complement activation and enhanced uptake of polymorphonuclear cells. *BMC microbiology*. 8, 229.
- van den Berg, T. K., Honing, H., Franke, N., van Remoortere, A., Schiphorst, W. E., Liu, F. T., Deelder, A. M., Cummings, R. D., Hokke, C. H., and van Die, I. 2004. Lacdinac-glycans constitute a parasite pattern for galectin-3-mediated immune recognition. *J Immunol*. 173, 1902-1907.
- van der Graaf, C. A., Netea, M. G., Franke, B., Girardin, S. E., van der Meer, J. W., and Kullberg, B. J. 2006. Nucleotide oligomerization domain 2 (nod2) is not involved in the pattern recognition of candida albicans. *Clin Vaccine Immunol*. 13, 423-425.
- Van der Graaf, C. A., Netea, M. G., Morre, S. A., Den Heijer, M., Verweij, P. E., Van der Meer, J. W., and Kullberg, B. J. 2006. Toll-like receptor 4 asp299gly/thr399ile polymorphisms are a risk factor for candida bloodstream infection. *European cytokine network*. 17, 29-34.
- van Rozendaal, B. A., van Spruiel, A. B., van De Winkel, J. G., and Haagsman, H. P. 2000. Role of pulmonary surfactant protein d in innate defense against candida albicans. *The Journal of infectious diseases*. 182, 917-922.
- van Till, J. W., Modderman, P. W., de Boer, M., Hart, M. H., Beld, M. G., and Boermeester, M. A. 2008. Mannose-binding lectin deficiency facilitates abdominal candida infections in patients with secondary peritonitis. *Clin Vaccine Immunol*. 15, 65-70.
- Vardakas, K. Z., Michalopoulos, A., Kiriakidou, K. G., Siampili, E. P., Samonis, G., and Falagas, M. E. 2009. Candidaemia: Incidence, risk factors, characteristics and outcomes in immunocompetent critically ill patients. *Clin Microbiol Infect*. 15, 289-292.

- Vasta, G. R. 2009. Roles of galectins in infection. *Nature reviews. Microbiology.* 7, 424-438.
- Villamon, E., Gozalbo, D., Roig, P., O'Connor, J. E., Fradelizi, D., and Gil, M. L. 2004. Toll-like receptor-2 is essential in murine defenses against candida albicans infections. *Microbes and infection / Institut Pasteur.* 6, 1-7.
- Voss, A., Hollis, R. J., Pfaller, M. A., Wenzel, R. P., and Doebbeling, B. N. 1994. Investigation of the sequence of colonization and candidemia in nonneutropenic patients. *Journal of clinical microbiology.* 32, 975-980.
- Walker, L. A., Munro, C. A., de Bruijn, I., Lenardon, M. D., McKinnon, A., and Gow, N. A. 2008. Stimulation of chitin synthesis rescues candida albicans from echinocandins. *PLoS pathogens.* 4, e1000040.
- Walport, M. J. 2001. Complement. First of two parts. *The New England journal of medicine.* 344, 1058-1066.
- Walport, M. J. 2001. Complement. Second of two parts. *The New England journal of medicine.* 344, 1140-1144.
- Walsh, T. J., Hathorn, J. W., Sobel, J. D., Merz, W. G., Sanchez, V., Maret, S. M., Buckley, H. R., Pfaller, M. A., Schaufele, R., Sliva, C., and et al. 1991. Detection of circulating candida enolase by immunoassay in patients with cancer and invasive candidiasis. *The New England journal of medicine.* 324, 1026-1031.
- Watanabe, H., Azuma, M., Igarashi, K., and Ooshima, H. 2005. Analysis of chitin at the hyphal tip of candida albicans using calcofluor white. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry.* 69, 1798-1801.
- Watanabe, T., Kitani, A., Murray, P. J., and Strober, W. 2004. Nod2 is a negative regulator of toll-like receptor 2-mediated t helper type 1 responses. *Nature immunology.* 5, 800-808.
- Weiner, M. H. and Yount, W. J. 1976. Mannan antigenemia in the diagnosis of invasive candida infections. *The Journal of clinical investigation.* 58, 1045-1053.
- Weis, W. I. and Drickamer, K. 1994. Trimeric structure of a c-type mannose-binding protein. *Structure.* 2, 1227-1240.
- Weis, W. I., Drickamer, K., and Hendrickson, W. A. 1992. Structure of a c-type mannose-binding protein complexed with an oligosaccharide. *Nature.* 360, 127-134.
- Werner, J. L., Metz, A. E., Horn, D., Schoeb, T. R., Hewitt, M. M., Schwiebert, L. M., Faro-Trindade, I., Brown, G. D., and Steele, C. 2009. Requisite role for the dectin-1 beta-glucan receptor in pulmonary defense against aspergillus fumigatus. *J Immunol.* 182, 4938-4946.
- White, R. A., Dowler, L. L., Adkison, L. R., Ezekowitz, R. A., and Sastry, K. N. 1994. The murine mannose-binding protein genes (mbl 1 and mbl 2) localize to chromosomes 14 and 19. *Mamm Genome.* 5, 807-809.
- Whitsett, J. A. and Weaver, T. E. 2002. Hydrophobic surfactant proteins in lung function and disease. *The New England journal of medicine.* 347, 2141-2148.
- Willment, J. A. and Brown, G. D. 2008. C-type lectin receptors in antifungal immunity. *Trends in microbiology.* 16, 27-32.
- Wisplinghoff, H., Bischoff, T., Tallent, S. M., Seifert, H., Wenzel, R. P., and Edmond, M. B. 2004. Nosocomial bloodstream infections in us hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis.* 39, 309-317.

- Xie, L. X., Liu, S. Y., Chen, Y. S., Liu, K., and Xue, F. 2011. An animal experiment about early pulmonary candidiasis in immunosuppressive rabbits: Thin-section ct images dynamically observed and proved by histopathological results. *Acta Radiol.* 52, 743-749.
- Xu, S., Huo, J., Lee, K. G., Kurosaki, T., and Lam, K. P. 2009. Phospholipase cgamma2 is critical for dectin-1-mediated ca²⁺ flux and cytokine production in dendritic cells. *The Journal of biological chemistry.* 284, 7038-7046.
- Xu, X. L., Lee, R. T., Fang, H. M., Wang, Y. M., Li, R., Zou, H., Zhu, Y., and Wang, Y. 2008. Bacterial peptidoglycan triggers candida albicans hyphal growth by directly activating the adenylyl cyclase *cyr1p*. *Cell host & microbe.* 4, 28-39.
- Yeo, S. F. and Wong, B. 2002. Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clinical microbiology reviews.* 15, 465-484.
- Yokota, Y., Arai, T., and Kawasaki, T. 1995. Oligomeric structures required for complement activation of serum mannan-binding proteins. *Journal of biochemistry.* 117, 414-419.
- Zaluzec, E. J., Gage, D. A., and Watson, J. T. 1995. Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry: Applications in peptide and protein characterization. *Protein expression and purification.* 6, 109-123.
- Zaoutis, T. E., Argon, J., Chu, J., Berlin, J. A., Walsh, T. J., and Feudtner, C. 2005. The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the united states: A propensity analysis. *Clin Infect Dis.* 41, 1232-1239.