

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

THEME

***Etude de l'inhibition de la formation de biofilm de
Candida albicans par les extraits d'algues marines***

Présenté par :

M^{lle}. TAIBI Zineb
M^{lle}. HORRI Khadîdja
M^{lle}. BESSAS Sarah

Encadrée par :

Rapporteur : Gouzi Hicham, Professeur, Université de Laghouat.
Co-rapportrice : MESAHLI Ilhem, Doctorante, Université de Laghouat

Année Universitaire 2019-2020

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

THEME

***Etude d'inhibition de la formation de biofilm de
Candida albicans par les extraits d'algues marines***

Présenté par :

M^{lle}. TAIBI Zineb
M^{lle}. HORRI Khadîdja
M^{lle}. BESSAS Sarah

Encadrée par :

Président : BENACEUR Farouk, Maitre de Conférences Classe A, Université de Laghouat
Examineur : ZERROUKI Mohamed El Houcine, Maitre Assistant Classe A
Rapporteur : GOUZI Hicham, Professeur, Université de Laghouat.
Co-rapporteuse : MESSAHLI Ilhem, Doctorante, Université de Laghouat

Année Universitaire 2019-2020

Dédicace

Grace à Allah le tout puissant

*Au nom de dieu le clément et le miséricordieux, dont la grâce m'a permis
de présenter mes Travaux.*

Je dédie ce modeste travail

*à l'âme de ma défunte chère mère à tous des membres de ma famille et à
tous ceux qui m'as aidé.*

Horri Khadîdja

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.

A mes frères et mes sœurs.

A toute ma famille

A mes amies et mes collègues.

*Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du
secondaire*

Et surtout les enseignants de la

Département de biologie.

Taibi zineb

Dédicace

Je remercie tout d'abord mon Dieu, tout puissant de m'avoir donné la force, le courage, la santé, les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail

*A ma mère source d'affection de courage et d'inspiration qui a
Autant sacrifié pour me voir atteindre ce jour.*

*A mon père source de respect, en témoignage de ma profonde
Reconnaissance pour tout l'effort et le soutien incessant qui m'a
toujours apporté.*

A mes frères,

A mes sœurs.

*Et a tous mes amies, une spéciale dédicace à ma camarade Cheknane
Mebarka.*

BESSAS SARAH

REMERCIEMENTS

Nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné la force Le courage et la volonté nécessaires pour atteindre notre objectif.

Premièrement, nous exprimons nos sincères et remerciements à M. gouzi Hicham et Mme msahli Ilham de l'Université Amar Tlidji de Laghouat et Soutien, conseils et compréhension qui nous ont guidés dans notre travail Aidez-nous à trouver des solutions pour avancer tout au long de la période l'œuvre.

Nous remercions sincèrement Messieurs Benaceur Farouk et Zerrouki Mohamed El Houcine d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

Nos remerciements aux personnes qui nous ont aidés Réaliser une thèse finale.

Enfin, mes remerciements à tous ceux qui ont contribué Bientôt bientôt.

Sommaire

	Page
Résumé.....	I.
Liste des tableaux.....	II.
Liste des figures.....	III.
Introduction.....	01
Chapitre 1. Généralités sur les algues	02
1. Généralités	03
2. Biologie des algues.....	03
3. Les conditions de vie.....	04
4. Rhodopytes ou algue rouges.....	04
5. Reproduction ou cycle de vie.....	05
Chapitre 2. Biofilm de <i>Candida albicans</i>.....	06
1. Définition de biofilm.....	06
2. Rôle du quorum sensing.....	06
3. Les mécanismes de formation de biofilm.....	06
4. Méthodes de détection de biofilm de <i>Candida albicans</i>	07
5. Méthode analyse de biofilms.....	07
6. Présentation de <i>Candida albicans</i>	08
7. Morphologie.....	08
8. Taxonomie.....	09
9. Ecologie.....	09
10. Facteurs de virulence.....	10
10.1 Dimorphisme.....	10
10.2 Adhésion.....	10
10.3 La formation des biofilms.....	10
10.4. Sécrétion des aspartyl-protéinases	11
11. Régulation de la croissance des biofilms.....	12
Chapitre 3. Activité anti-biofilm des extraits d'algues marines.....	13
1. Effet des extraits d'algues marines sur <i>Candida albicans</i>	13
2. Effet anti-biofilm des extraits d'algues marines sur <i>C. albicans</i>	15
Conclusion.....	17
Références bibliographiques.....	18

N°	Titre	Page
1	Figure 1: Le cycle de reproduction trigénétique des algues rouges rhodophytes.....	5
2	Figure 2: <i>Candida albicans</i> en milieu solide Sabouraud.....	8
3	Figure 3: diversité morphologique du pathogène humaine fongique <i>C. albicans</i>	9
4	Figure 4 : étapes de formation in Vito d'un biofilm à <i>Candida albicans</i>	11

N°	Titre	Page
1	Tableau 1 : Les résultats des valeurs des zones d'inhibitions (ZI) et des concentrations minimales inhibitrices de l'effet des extraits d'algues marines sur <i>C. albicans</i>	14

Introduction

Les candidoses sont des infections de la peau, des muqueuses ou des tissus profonds, provoquées par la prolifération de levures du genre *Candida*, la plus fréquemment isolée étant *Candida albicans* (Sebaa, 2017). Ces infections sont responsables d'une mortalité (40 %) et d'une morbidité importante (Govindsamy et al., 2011).

D'après la littérature, *C. albicans* a la capacité d'adhérer à différentes surfaces qu'elles soient et de former sur ces surfaces des communautés appelées "biofilms". Les *Candida* agrégés en biofilms sont plus résistants aux traitements antifongiques que leurs homologues planctoniques en suspension (Sebaa, 2017).

Les traitements antifongiques des candidoses systémiques consistent à l'utilisation de l'amphotéricine B classique et ses formulations lipidique ; la 5-fluorocytosine, le fluconazole, l'itraconazol et les nouveaux antifongiques notamment le voriconazole et caspofungine (Kettain et al., 2005).

Avec l'augmentation de la résistance clinique et microbiologique de *Candida albicans* aux agents antifongiques et les effets secondaires des antifongiques de synthèse il est nécessaire de trouver de nouveaux agents antimicrobiens capables d'inhiber ce champignon le plus souvent pathogène.

Les algues marines produisent une très grande variété de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les terpènes, les composés aromatiques caractérisés par leurs activités biologiques à large spectre pour le traitement des maladies humaines (Ganeshkumar et al., 2019).

Très peu de travaux ont été réalisés sur l'effet inhibiteur des extraits d'algues marines sur la formation du biofilm de *Candida albicans*. L'objectif de notre travail est de réaliser une revue de la littérature sur l'effet de quelques algues marines sur l'inhibition de la formation du biofilm de *Candida albicans*.

Ce travail se divise en trois parties : La première partie concerne des généralités sur les algues et leurs classifications. La deuxième partie est consacrée pour la pathogénicité de *Candida albicans* et leurs mécanismes de formation de biofilm. Dans la troisième partie, les travaux portant sur l'activité anti-biofilm des algues marines est reportée.

Chapitre 1.

Généralité des les algues

1. Généralités sur les algues

Le terme d'algue désigne un vaste groupe d'organismes hétérogènes qui n'ont pas actuellement une position taxonomique claire et bien tranchée. Comme le font les plantes ; les algues utilisent le soleil pour produire par photosynthèse des sucres et de l'énergie. Certains scientifiques suggèrent qu'il y en aurait entre un et dix millions d'espèces : parmi les quelque 35000 aujourd'hui connues, la moitié environ sont aquatique et les autres sont terrestres. Les algues aquatiques vivent dans l'eau douce ou dans l'eau salée : ce sont ces dernières, les algues marines.

On avait défini les algues comme des végétaux photosynthétique dont l'appareil végétatif relativement simple ; était nommé "thalle" ; on les regroupait alors ; au sein des thallophytes avec les champignons, dont l'appareil végétatif est également peu différencié.

Les algues ont des tailles variables. Les plus petites (microalgue) ; unicellulaire, forment ce que l'on appelle le phytoplancton et se mélangent au plancton animal, bactérien ou fongique dont elles sont voisines. Les plus grands sont des organismes multicellulaires qui peuvent former d'énormes forêts dans les océans ; ce sont ces grandes algues marines, les macroalgues , que l'on désigne souvent du simple mot " algue ".

Les algues marines vivent dans tous les zones littorales du monde et sous tous les climats des régions tropicales chaudes aux régions polaires glaciales. Il en existe environ 10000 espèces connues mais de nouvelles insoupçonnées jusqu'alors et qui endurent parfois des conditions de vie extrêmement difficiles, sont constamment découvertes (**Mouritsen, 2009**).

Les témoignages fossiles montrent que ces algues constituent une forme de vie apparue il y a au moins 500 millions d'années. Elles semblent n'avoir guère évolué depuis lors. .

Les algues se divisent en quatre grands types : les cyanobactéries (ex-cyanophyte), les chlorophytum ou algues vertes, les phaeophyceae ou algues brunes, et enfin les Rhodophyte ou algues Rouges (**CABIOTCH et al., 1992, 2006, 2014**).

2. Biologie des algues

Les microalgues sont pour l'essentiel des organismes unicellulaires microscopiques répartis en grand nombre de groupes : diatomées et algues bleu-vert sont probablement les mieux connues – quelque microalgues flottent passivement ou se meuvent librement dans les océans, particulièrement dans l'étage superficiel lumineux, alors que d'autres colonisent les roches ou la surface des frondes des macroalgues. Les diatomées appartiennent au groupe du phytoplancton, qui constitue la base de la pyramide de la chaîne alimentaire.

Les microalgues bleu-vert ne sont plus considérées comme des algues mais des bactéries photosynthétiques susceptible, dans certaines circonstances, de contenir des toxines : à certaines période, lorsque leur multiplication explose dans le milieu marin, elles peuvent mettre sérieusement en danger d'autres organismes vivants car elle sédimentent au fond de l'océan et leur décomposition absorbe l'oxygène dissous dans l'eau.

Les macroalgues sont, en gros, celles que l'on peut voir sans instrument optique : la plupart, dites benthique, vivent en s'accrochant à un support au fond de l'eau. Elles peuvent parfois se fixer à d'autres organismes comme des mollusques et certaines, comme la laitue de mer (*Ulva lactuca*) et le carragheen noir (*Furcellaria lumbricalis*) flottent en restant complètement libres (Mouritsen, 2009).

3. Les conditions de vie

Les algues tout comme l'ensemble des organismes marins sont soumises à un ensemble de conditions propre au milieu marin et qui constituent leur environnement. Elles présentent à l'égard de celui-ci d'une part des adaptations d'autre part des exigences. De la combinaison de tous ces facteurs résulte la physionomie du paysage algal que nous observons nous en évoquerons donc brièvement les traits marquants (CABIOC 'H et al., 1992, 2006, 2014).

4. Rhodopytes ou algues rouges

Les algues rouges regroupent des formes très diverses. A l'exception de quelques rares exemples unicellulaires, la plupart sont pluricellulaire allant de simples filaments microscopiques à des lames épaisses pouvant atteindre 1 à 3 m de long. La complexité morphologique n'atteint cependant jamais celle de l'algue brune. Malgré leurs formes extrêmement attractives, les algues rouges demeurent discrètes, leur recherche et leur identification, parfois délicates n'en étant que plus captivantes.

Malgré cette très grande diversité apparente des types d'organisation, elles se définissent par ensemble de caractères communs : caractères cytologique (structure des plastes) et biochimique (présence de chlorophylle à seule, masquée par des pigments surnuméraires que sont phycoérythrine et phycocyanine ; présence de d'un amidon extraplastidial particulier appelé amidon floridée ou rhodamylon). Leur couleur est extrêmement variable. Pour une même espèce, elle varie en fonction de l'intensité de l'éclairement, qui, lorsque, il devient excessif, peut entraîner une photodestruction des pigments surnuméraires ; elle varie également entre les espèces selon les proportions relatives des différents pigments et la construction de thalle.

Certains rhodophytes apparaissent ainsi noirâtres à la lumière du jour (*Ahnfeltia plicata*, *Bastrychio*, *Boergeseniella martensiana*) ; leur pigmentation rouge ne peut alors être mise en évidence que par l'usage d'une lumière artificielle (CABI OC 'H et al., 1992, 2006, 2014).

5. Reproduction ou cycle de vie

Dans la majorité des cas, le cycle est trigénétiq ue, donc caractérisé par la succession de trois générations. Un sporophyte diploïde produit des spores méiotiques généralement groupées en tétrades à l'intérieur de leur sporocyste (le thalle producteur est alors dénommé tétrasporophyte). Un gamétophyte haploïde, issu du développement d'une tétraspore ; produit des gamètes mâles ou femelles non mobiles, les thalles pouvant être, selon les genres et les espèces dioïques ou monoïques.

Le gamète femelle demeure hébergé par le gamétophyte et l'œuf issu de la fécondation engendre, sur le gamétophyte porteur, une génération parasite à développement réduit : le carposporophyte. Celui-ci produit des spores diploïdes, les carpospores, qui, après libération, vont se développer en un nouveau tétrasporophyte diploïde (CABI OC 'H et al., 1992, 2006, 2014).

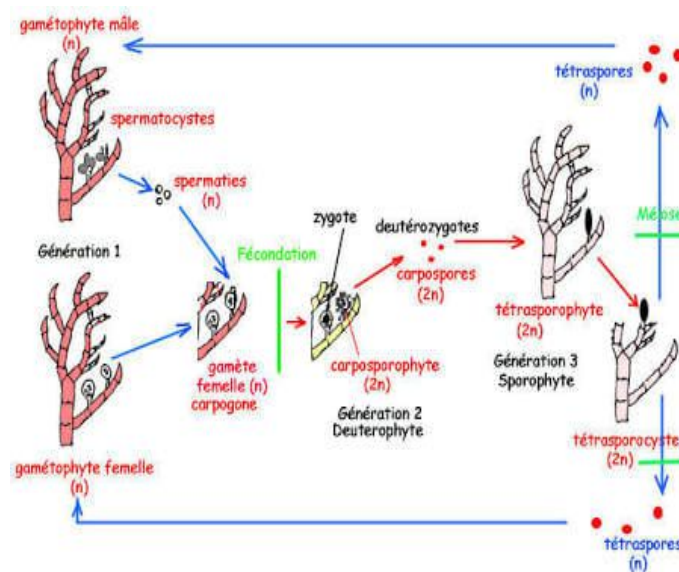


Figure 1 : Le cycle de reproduction trigénétiq ue des algues rouges rhodophytes (Otero et al., 2013) .

Chapitre 2.

Biofilm de *Candida albicans*

1. Définition de biofilm

Les biofilms sont des communautés multicellulaires des microorganismes adhérents à une surface ou interface en milieu humide ou aqueux par une matrice extracellulaire autoproduite. Les mécanismes employés pour former des biofilms se font par la mise en place d'un système de communication chimique (Quorum sensing) (**Parsek et Greenberg, 2000; Costerton et al., 1994**) et en fonction des conditions environnementales et des attributs spécifiques de la souche (**Lopez et Vlamakis, 2010**).

2. Rôle de Quorum sensing

Quorum sensing est un ensemble de mécanismes qui permettent à des micro-organismes d'adapter leur comportement en fonction de la densité de population cellulaire qu'ils libèrent et produisent des molécules de signaux chimiques appelées autoinducteurs (**Miller et Bassler, 2001**). Il y a quatre molécules de quorum sensing – le 2-phényléthanol et le tryptophol appelé auto-antibiotique (**Lingappa et al., 1967**) – molécule MARS- le farnésol- le tyrosol- ont été identifiés et leur rôle sur la formation de biofilm. Le tyrosol et le farnésol sont des molécules sensibles au quorum produit par *Candida albicans*. La synthèse de ces deux molécules se fait pendant la croissance à 37°C. Il existe une corrélation entre la production de ces molécules de quorum et la biomasse cellulaire. Le rôle principal de ce dernier est la transition morphologique de levure aux hyphes et le développement du biofilm (**Alem et al., 2006**).

3. Les mécanismes de formation de biofilm

Les mécanismes de formation de biofilm se déroulent en plusieurs étapes. Premièrement, l'étape d'adhésion des levures sur les surfaces par différents facteurs (spécifique et non spécifique) (**Chaffin, et al., 1994**). La formation du tube germinatif se fait d'après 24 à 48h d'attachement initial puis la prolifération des hyphes ; des pseudohyphes au cours de cette réaction la matrice polymérique extracellulaire (EPS) se forme. Ensuite, l'étape de maturation du biofilm au niveau du foyer infecté nécessitant des conditions nutritionnelles très spécifiques. Enfin, la dispersion cellulaire (les cellules des levures se libèrent) et déclenche un nouveau cycle (**Blankenship et Mitchell, 2006**).

4. Méthodes de détection de biofilm de *Candida albicans*

Plusieurs méthodes sont utilisées pour détecter la formation de biofilm. Ces méthodes varient considérablement en termes de temps et de coûts tels que la méthode de la gélose au rouge Congo, l'UFC, la détermination du poids sec, le microscope électronique à balayage (SEM), le dosage du cristal violet, le pourcentage de transmission fiable, le test de réduction XTT ; par exemple la méthode de pourcentage de transmission (% T).

La production de biofilm a été détectée en mesurant la densité optique (% T) dans une plaque de microtitration avec un lecteur ELISA. La méthode de réduction XTT : {XTT : (hydroxyde de 2,3- bis (2-méthoxy-4-nitro-5-sulfophényl) -5 - [(phénylamine) carbonyle] - 2H-tétrazolium)}. Il a été utilisé comme outil de routine pour la quantification des biofilms de *Candida* (Rahul p et al., 2014).

Parmi les méthodes les plus utilisés la méthode de dosage du cristal violet est un teste quantitatif de biofilm à basé de cristal violet cette méthode couramment utilisées pour détecter la variabilité cellulaire ou la cytotoxicité des médicaments. Le Crystal violet est un colorant triarylméthane qui peut se lier à des molécules de type ribose telles que l'ADN dans les noyaux donc peut être utilisée pour quantifier l'ADN total de la population et déterminer la viabilité cellulaire (www.clinisciences.com).

5. Méthode d'analyse de biofilm

Il y a plusieurs méthodes pour analyser les biofilms. Ces méthodes sont groupées en technique destructives (le comptage direct, analyse d'ATP, cristal violet) avec lesquelles le biofilm est détruit après l'application de ces techniques et d'autres qui sont non destructives (microscope optique, microscope confocal à balyage Laser MCBL, analyse d'images....etc) avec lesquelles le biofilm peut continuer son développement après l'application de ces techniques (Steven et al., 2000).

6. Présentation de *Candida albicans*

Candida albicans fait partie de notre microflore naturelle ou des micro-organismes qui vivent couramment dans ou sur notre corps-il peut être trouvé dans le tractus gastro-intestinal La bouche et le vagin. La plupart du temps cela ne pose aucun problème mais il est possible que des proliférations et des infections (**Govindsamy , et al , 2013**)

Candida albicans est la cause la plus fréquente d'infection fongique chez l'homme son nom d'espèce albicans vient du mot latin pour (blanc) la levure apparait blanche lorsqu' elle est cultivée sur un plaque et dans le cas de certaines infection comme le muguet il peut créer des taches blanches (**Bennett et Johnson.2005**).



Figure 2 : *Candida albicans* en milieu solide Sabouraud. (**Microbiologyinpictures.com**).

7. Morphologie

C. albicans est un mycète qui présente trois morphologies différentes ; levure pseudo hyphes et hyphes. D'autre forme morphologiques cellules en phase opaque plutôt que la forme ovale des cellules de levure

Le pseudo hyphes et les hyphes sont tous deux allongés et il y a parfois en peu de tentatives pour les distinguer car les deux sont formes filamenteuses du champignon nous passons en revue ici les différences entre eux qui suggèrent qu'il s'agit d'états morphologiques distincts. Nous soutenons que les études sur formes filamenteuses de varient tous jours inclure une analyse formelle pour déterminer si les cellules sont hyphes ou des pseudohyphes et nous suggérons quelques critères expérimentaux simple qui peuvent être appliqués pour parvenir (**Peter et al., 2004**).

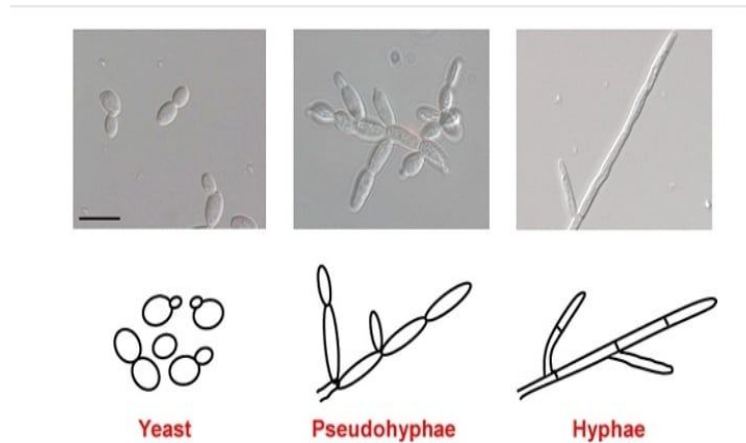


Figure 3 : Diversité morphologique du pathogène humaine fongique *C.albicans* .
(Delma et al., 2011) .

8.Taxonomie

Le genre *Candida* comprend environ 200 espèces . La classification de cette levure est comme suit :

Règne : *fungi*

Division : *Ascomycota*

Classe: *saccharomycètes*

Ordre: *saccharomycetales*

Famille: *saccharomycetaceae*

Genre: *candida*

Espèce : *candida albicans*

9. Ecologie

Candida albicans est un espèce commensale présente dans un milieu liquide riche en matière organique la déséquilibre entre la forme commensale et la défenses immunitaires transformés la symbiose en parasitisme; c'est le résultat d'une maladie infectieuse appelée candidose chez l'homme cette levure se répartit différemment en fonction des sites de prélèvement : peau (3%) , vagin (13%) , tracteur anorectal (15%) , cavité buccale (18 %) .etc.(Lebeau, 2004 ; Beaudy, 2008).

10. Facteurs de virulence

10.1. Dimorphisme : est la capacité de *C. albicans* à passer de la forme dite levure en blastoconidies à la forme filamenteuse en hyphes, ces deux formes se trouvent dans le site d'infection. Par contre la forme commensale se présente comme des blastoconidies (Ernst, 2000 ; Cottier et Muhlschegel, 2009). Trois observations que la filamentation est nécessaire pour la virulence. Tout d'abord ; certaines conditions de formation du filament (stimulation par une température à 37°C ; par du sérum ; par ph nutre ; deuxièmes les filaments.

Le filament nouvellement formés (tube germinatifs) sont plus adhérents aux cellules mammifères (cellule de la peau et muqueuses) ; troisièmes ; les blast conidies phagocyté par les macrophages prouvent produire de filaments capables de lyser les macrophages (Mitchell., 1998).

10.2. Adhésion : La croissance du pathogène fongique humain *candida albicans* nécessitant une interaction avec les cellules de l'hôte comme par exemple : les cellules épithéliales orales, les cellules de cavité gastro-intestinale...L'adhésion orale des levures se produit par la reconnaissance des récepteurs des cellules épithéliales orales et les adhesines de *candida albicans*. Exemple : la manoprotéine, le glucane, la chitine, les protéines de la paroi cellulaires et les lipides (Olsen, 1990 ; Naglik et al., 2011 ; Moyes et al., 2015 ; Wielen et al., 2015). D'autre interaction sont liées avec des surfaces abiotiques comme les dispositifs médicaux par exemple prothèse dentaire, caractère, les sondes (Ten cate et al, 2009).

10.3. La formation des biofilms : Les espèces de *Candida* provoquent des infections fréquentes en raison de leur capacité à former des biofilms - communautés microbiennes associées à la surface - principalement sur des dispositifs médicaux implantés. De plus en plus, des études mécanistes ont identifié les produits géniques qui participent directement à la formation du biofilm de *Candida albicans*, ainsi que les circuits de régulation et les réseaux qui contrôlent leur expression et leur activité.

Ces études ont révélé de nouveaux mécanismes et signaux qui régissent la formation du biofilm de *C. albicans* et la résistance aux médicaments associée, fournissant ainsi une vision biologique et une prospective thérapeutique (Jonathan et Mitchell, 2010).

10.4. Aperçu de la formation de biofilm de *C. albicans*

Les biofilms de *C. albicans* comprennent principalement deux types de cellules : les petites cellules ovales en forme de levure (également appelées blastospores) et les longues cellules hyphales tubulaires. Les biofilms cultivés in vitro ont souvent une fondation de cellules de levure, d'où émane une couche hyphale. Le matériau de la matrice extracellulaire est également clairement évident, lié à la fois à la levure et aux cellules hyphales.

Il est généralement disséminé dans tout le biofilm, bien qu'il apparaisse principalement au sommet de cet échantillon.

Les biofilms des modèles d'infection par cathéter in vivo semblent plus complexes, avec des levures et des hyphes entrecoupées. L'analyse génétique indique que les cellules de levure et les hyphes sont critiques pour la formation de biofilm, ce qui suggère que chaque type de cellule a des rôles uniques dans le processus.

Des expériences in vitro permettent de considérer la formation de biofilm de *C. albicans* comme une série d'étapes séquentielles. La formation de biofilm commence par l'adhésion des cellules de levure à un substrat (étape d'adhésion). Peu de temps après, les cellules de levure prolifèrent à la surface et produisent des projections allongées qui se transforment en formes filamenteuses, y compris des hyphes ou des pseudohyphes (étape d'initiation). La matrice extracellulaire s'accumule à mesure que le biofilm mûrit et une résistance élevée aux médicaments est également acquise (étape de maturation). Enfin, les cellules de levure non adhérentes sont libérées du biofilm dans le milieu environnant (étape de dispersion). Bien que ces étapes puissent se produire simultanément plutôt que séquentiellement pendant la formation de biofilm naturel in vivo, elles fournissent un cadre utile pour guider l'analyse mécanistique (Jonathan et Mitchell., 2010).

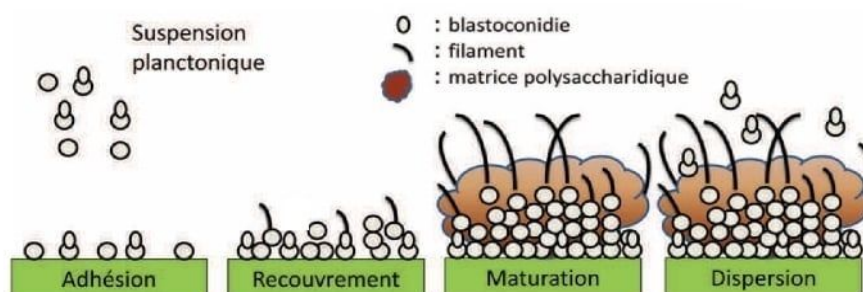


Figure 4 : Etapes de formation in Vito d'un biofilm à *candida albicans* (Finkel & Mitchell, 2011).

10.5. Sécrétion des aspartyl-protéinases (sap)

Activité protéinase de *Candida albicans* est associée à une famille de 10 isoenzymes aspartique protéinase sap (enzyme hydrolytique extracellulaire sécrétées). Ces enzymes impliquées dans ; l'adhésion, les dommages tissulaire et dans l'évasion à des réponses immunitaires de l'hôte (Bernardins et al., 2001; Naglik et al., 2003; Naglik et al., 2004; schaller et al., 2005).

Des études in vivo ont montré que *C. albicans* sécrète les sap dans salive. Les sap jouer un rôle actif dans la progression des candides orales (**Wu et Samaranayake, 1999**).

Cette activité d'observée dans des souches prélevées chez des personnes infectées plus élevée que celle observée chez personnes en bonne santé buccale. *C. albicans* en biofilms produit plus de sap qu'en suspension planctonique.

11. Régulation de la croissance des biofilms

La croissance du biofilm se contrôle par plusieurs factures très importante parmi lesquels on cite : les factures environnementaux qui joue un rôle principal sur l'adhésion physicochimique comme: pH, force ionique ,température (**Peman et al., 2008**) et la formation du biofilm nécessitant une mécanismes de communication intracellulaire appelée quorum sensing cette mécanismes se implique par la production des molécules de signalisation en fonction de la densité cellulaires on trouve : Tyrosol, Farnesol et le 2-phenyithanol (**Dolan, 2002**) et pour la régulation génétique de la formation de biofilm fait intervenir un groupe des gènes fonctionnels codent pour la transcription des protéines de la paroi, des protéines kinases , ainsi qu' un alcool déshydrogénases (**Ganguly et Mitchell, 2011**) .

Chapitre 3.

Activité anti-biofilm des extraits d'algues marines

1. Effet des extraits d'algues marines sur *C. albicans*

Les algues marines sont considérées comme des sources importantes de métabolites secondaires possédant de fortes activités biologiques (Kosanovic et al., 2015; Khairy et al., 2015; Patra et al., 2015). Pour l'extraction des métabolites secondaires des macroalgues, différents solvants tels que le méthanol, l'éthanol, le chloroforme, l'hexane, éther d'éthyle ont été utilisés (Pérez et al., 2016). Le choix du solvant pour l'extraction des métabolites bioactifs dépend principalement du type de composé à extraire, le méthanol est le plus souvent le solvant le plus efficace (Gadhi et al., 2018). *Candida albicans* est un micro-organisme normal pour l'homme mais devient pathogène dans certaines circonstances ce qui nécessite l'utilisation des agents antifongiques efficaces et moins toxiques.

De nombreuses études ont montré que les extraits des algues marines sont capables d'inhiber la croissance de *C. albicans* en milieu liquide ou en milieu solide. Arumugam et al. (2019) ont trouvé que l'extrait méthanolique de l'algue brune *Dictyota bartayresiana* (ZI = 17,4 mm) et de l'algue verte *Halimeda tuna* (ZI = 13,06 mm) ont un effet anticandidosique élevé par rapport au fluconazole.

De plus, El Zawawy et al. (2020) ont signalé que l'extrait acétonique de l'algue marine *Cladostephus spongiosus* inhibe fortement la croissance de *C. albicans* (ZI = 14,67 mm).

Les extraits éthanoliques de *Padina australis*, *Nizimudidnia zanardini*, et *Gracilaria arquata* exercent une activité antifongique significative sur *C. albicans* (ZI > 20 mm) (Taheri, 2020). Par ailleurs, les extraits dichlorométhane et éthanolique de *Padina gymnospora* ont une activité antifongique sur *C. albicans*, avec l'apparition d'un halo d'inhibition élevé (15,00 mm) (Guedes et al., 2012).

De plus, les zones d'inhibition des extraits d'algues marines de *Padina capillacea* et d'*Asparagopsis armata* sont respectivement 15,4 et 53,2 mm et (Salvador et al., 2007 ; Taheri, 2020). Pandithurai et al. (2015) ont trouvé que l'extrait méthanolique de l'algue brune *Spatoglossum asperum* a une activité antifongique puissante sur *C. albicans* (ZI = 14,67 mm).

D'après les résultats des travaux cités précédemment on constate que le solvant d'extraction a un effet significatif sur l'activité antifongique des algues marines. Les solvants d'extraction qui permettent d'extraire les composés responsables de l'activité anticandidosique sont le méthanol, l'éthanol, le dichlorométhane et l'acétone.

Saidani et al. (2012) ont trouvé que l'extrait méthanolique de l'algue marine brune *Padina pavonica* inhibe fortement la croissance de *Candida albicans* (ZI = 26 mm).

Activités anti-biofilm des extraits d'algues marines

Tableau 1 : Les résultats des valeurs des zones d'inhibitions (ZI) et des concentrations minimales inhibitrices de l'effet des extraits d'algues marines sur *C. albicans*.

Algue marine	Solvant d'extraction	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (mg/mL)	Référence bibliographique
<i>Dichyota bartayresiana</i>	Méthanol	17,4	50	Arumugam et al. (2019)
<i>Halimeda tuna</i>		13,06	50	
<i>Cladostephus spongiosus</i>	Acétone	14,67	0,45	El Zawawy et al. (2020)
<i>Gracilaria arguata</i>	Ethanol	21	7,12	Taheri (2020)
<i>Nizimudidnia zamardini</i>		23	4,75	
<i>Padina australis</i>		24	1,25	
<i>Padina gymnospora</i>	Ethanol	15	0,016	Guedes et al. (2012)
	Méthanol	10	0,016	
<i>Padina pavonica</i>	Méthanol	26	0,6	Saidani et al. (2012)

Activités anti-biofilm des extraits d'algues marines

Dans ce tableau ci-dessous sont consignés les résultats des CMI ($\mu\text{g/mL}$) des extraits des différentes algues marines étudiées (**Tableau 1**). A la lecture des résultats obtenus on remarque que l'extrait méthanolique et éthanolique de *Padina gymnospora* présenté une bonne activité sur l'ensemble des extraits d'algues marines testés. Nous constatons également que les extraits de *Cladostephus spongiosus* et *Padina pavonica* ont une activité antifongique plus ou moins élevées. Quant aux autres extraits d'algues marines, leurs activités restent faibles.

2. Effet antibiofilm des extraits d'algues marines sur *C. albicans*

La filamentation et la formation de biofilm sont les caractéristiques les plus importants d'un microorganisme pathogène. **Arumugam et al. (2019)** ont constaté que les extraits méthanoliques de *Padina* sp et *Dictyota bartayresiana* à une CMI de 50 mg/mL sont capables d'inhiber la formation de biofilm de *C. albicans* à 67,08 et 74,55% qui se traduit par l'absence de filaments.

L'activité antibiofilm des algues dépend de l'espèce étudiée et la nature du solvant d'extraction. L'activité antibiofilm des algues marines peut être due à la présence des lectines et des phlorotannins (**Lopes et al., 2013 ; Vasconcelos et al., 2014**).

Conclusion

Les candidoses sont des infections provoquées le plus souvent par la levure du genre *Candida*.

C. albicans a la capacité de former des biofilms et devienne de plus en plus résistantes aux traitements antifongiques.

Les traitements antifongiques des candidoses reposent sur l'utilisation surtout de l'amphotéricine B, de la 5-fluorocytosine, de l'éconazole, et le fluconazole.

Avec l'augmentation de la résistance clinique de *Candida albicans* aux agents antifongiques et les effets secondaires des antifongiques de synthèse, plusieurs travaux ont été menés dans l'espoir de trouver de nouveaux agents antifongiques à partir des algues marines comme source naturelle.

Nous avons pu montrer que les extraits méthanoïques et éthanoïques de l'algue marine *Padina* exercent une activité antifongique élevée par rapport aux extraits de plusieurs espèces algales.

Les algues marines *Padina* sp et *Dictyota bartayresiana* inhibent fortement la formation de biofilm de *C. albicans*.

On peu dire que les algues marines représentent une source naturelle d'excellent agent antifongiques capables d'être utilisé dans le traitement des candidoses cutanées et systémiques.

Références bibliographiques

- Alem M A. S., Oteef M D. Y, Flowers T. H, and Douglas L. J. (2006). Production of tyrosol by *Candida albicans* Biofilms and its role in Quorum sensing and biofilms development: 5:1770-1779.
- Anti-candidal and anti-virulence efficiency of selected seaweeds against azole resistance *Candida albicans* Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, Volume 20 2019,101195.
- Beaudy. (2008). La vaginité jamais plus solution et remèdes (edn) lanor.
- Bennet RJ. (2005). Mating in *Candida albicans* and the search for a sexual cycle.2005.10.1146/annurev.micro.59.030804.121310.
- Blankenship JR, Mitchell AP. How to build a biofilm: a fungal perspective. *Curr Opin Microbiol.* 2006 Dec;9(6):588-94. doi: 10.1016/j.mib.2006.10.003. Epub 2006 Oct 20. PMID: 17055772.
- Cabic'h, J- Y.Floc'h A .Letoquin J. F.Boudouresque, A.Meinesz, M.Verlaque.,(2014).Algue des mers d'europe.
- Chaffin WL., Lopez-Ribot JL, Casanova. M, Gozalbo. D , Martinez JP.,(1998). Cell Wall and Secreted Proteins of *Candida albicans*: Identification, Function, and Expression. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62(1):130-80
- Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D, Caldwell D, Korber D, James G. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol.* 1994; 176: 2137-2142.
- Cottier F,Muhlschlegel FA. (2009). Sensing the environment : reponse of *Candida albicans* to the X factor . *FEMS Microbiolo.Leh.*,295 :1-9.
- Dalon, R.M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infection Diseases*.8, 881-890.
- Daniel Lopez, Hera Vlamakis, Roberto Kolter, *Biofilms* 2010 Jul;2(7): a000398 .
- De Bernardis F, Sullivan PA, Cassone A. (2001). Aspartyl proteinases of *Candida albicans* and their role in pathogenicity.*Med.Mycol.*,39 :303-313.
- Dhale RP, Ghorpade MV, Dharmadhikari CA. Comparison of various methods used to detect biofilm production of *Candida* species. *J Clin Diagn Res.* 2014 Nov;8(11): DC18-c20.
- Ernst J.F. (2000). Transcription factors in *Candida albicans* environmental control of morphogenesis *Microbiologie* ,146 :1763-1774.
- Finkel JS, and Mitchell AP. (2011). Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nat. Rev. Microbiol*, 9: 109 -118 .
- Ganesh kumar Arumugam, R Rajendran, N Syedkhaleelullah, S Ramanathan. (2019). Anti-Candidal and anti –virulence efficiency of selected seaweeds against azole resistance *Candida albicans*., *Biocatalysis and agricul Biotechnology* :101195.
- Ganeshkumar Arumugam, Rajaram Rajendran, Nasreen Syed Khaleelullah, Sharmila Ramanathan,
- Ganguly S, Mitchell AP. Mucosal biofilms of *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol.* 2011; 14(4):380-385.
- Kettani, Z.H. Belkhadir, A. Mosadik, M. Faroudy, A. Ababou, C. Lazreq, A. Sbihi (2006). Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation, *Journal de Mycologie Médicale*, 16 : 16-25.
- Lebeau .J. chirurgie maxillo-faciale et stomatologie, (edn) Masson, Pris 2004.
- Lingappa, B.T., Prasad, M., Lingappa, Y., Hunt, D.F. and Biemann, K. (1969) Phenethyl Alcohol and Tryptophol: Autoantibiotics Produced by the Fungus *Candida albicans*. *Science*, 163, 192-194.
- Lopes G, Pinto E, Andrade PB, Valentão P. Antifungal activity of phlorotannins against dermatophytes and yeasts: approaches to the mechanism of action and influence on *Candida albicans* virulence factor. *PLoS One.* 2013 Aug 12;8: e72203.

- Miller MB, Bassler BL. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 55:165-99.
- Mitchell AP. (1998). Dimorphism and virulence in *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol.* 1:687-92.
- Moyes DL, Richardson JP, Naglik JR. (2015). *Candida albicans*-epithelial interactions and pathogenicity mechanisms: scratching the surface. *Virulence.* 6:338-46.
- Mubarak Z, Humaira A, Gani BA, Muchlisin ZA. (2018). Preliminary study on the inhibitory effect of seaweed *Gracilaria verrucosa* extract on biofilm formation of *Candida albicans* cultured from the saliva of a smoker. *F1000Res.* 7: 684.
- Naglik J, Albrecht A, Bader O, Hube B. *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cell Microbiol.* 2004 Oct;6(10):915-26.
- Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2003 Sep;67(3):400-28, table of contents.
- Naglik JR, Moyes DL, Wächtler B, Hube B. (2011). *Candida albicans* interactions with epithelial cells and mucosal immunity. *Microbes Infect.* 13: 963-76.
- Oleg, M. (2009). Algues marines propriétés, Usages, recettes.
- Olsen I. Oral adhesion of yeasts. *Acta Odontol Scand.* 1990 Feb;48(1):45-53
- Otero, M., Cebrian, E., Francour, P., Galil, B., Savini, D. (2013). Surveillance des espèces envahissantes marines dans les aires marines protégées (AMP) méditerranéennes : guide pratique et stratégique à l'attention des gestionnaires. UICN.136 pages.
- Parsek, Greenber Peter. (2000). *Matthew Acyl-Homoserine lactone Quorum sensing in Gram negative bacteria: A signaling mechanism involved in association with higher organisms*, 8789-8793.
- Peman J, Canton E, Valentin A. (2008). Actividad de la anidulafungina sorbe biopelículas de *Candida* *Revista Iberoamericana de Micología.*25,124-128.
- Sebaa S. (2016). Inhibition des biofilms à *Candida albicans* : recherché de nouvelles approches thérapeutiques.
- Schaller M, Borelli C, Korting H.C, Hube B. (2005). Hydrolutic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses.* 48 :365-377.
- Steven L, Percival James T, Hunter WP. (2000). *Microbiological Aspects of Bifilms and Drinking water.* CRC Press Boca Raton London New York Washington, D.C. p 61.
- Steven L, Percival James T, Walker Paul R. (2000). *Microbiological Aspects of Bifilms and Drinking water.* CRC Press Boca Raton London New York Washington, D.C. p 164-168.
- Sudbery P. (2004). The distinct morphogenic states of *candida albicans* 12 (7) :317-24.
- Ten cate J.M, Klis F.M, Pereir-cenci. T, Crielaard W. (2009). De Groot P.W.Moleculaire and cellular mechanisms that lead to *candida* biofilm formation *J.Dent.Res.* 88 :105-115.
- Thompson DS, Carlisle PL, Kadosh D. Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. *Eukaryot Cell.* 2011 Sep;10(9):1173-82.
- Vander Wielen P.A., Holmes A.R., Canon R.D. (2016). Secretory component médiate *Candida albicans* binding to epithelial cells. *Oral Dis.*22 :69-74.
- Vasconcelos MA, Arruda FV, Carneiro VA, Silva HC, Nascimento KS, Sampaio AH, Cavada B, Teixeira EH, Henriques M, Pereira MO. (2014). Effect of algae and plant lectins on planktonic growth and biofilm formation in clinically relevant bacteria and yeasts. *Biomed Res Int.* : 365272.
- Wu J, Samaranayake L.P. (1999). The expression of secreted aspartyl protienases of *Candida* species in human whole salive. *J. Med. Microbiol.*, 48 :711-720.

Résumé.

Candida albicans est un champignon pathogène responsable de la plupart des maladies fongiques à cause de sa capacité à former des biofilms. L'utilisation des antifongiques de synthèse telle que le fluconazole, l'amphotéricine B et myconazole est limitée à cause de leur toxicité et la résistance de *Candida albicans*.

Les études in vitro montrent que les extraits méthanoïques et éthanoïques de *Padina gymnospora* à une bonne activité antifongique par rapport à plusieurs espèces algales. Des zones d'inhibition en milieu solide comprises entre 10 et 26 mm ont été observées.

La détermination de la CMI par la méthode de microdilution montre que les extraits méthanoliques de *Padina sp* et *Dictyota bartayresiana* à une CMI de 50 mg/mL et inhibent la formation de biofilm de *C. albicans* à 67,08 et 74,55%.

Les algues marines représentent une source prometteuse de nouveaux agents anticandidosique.

Mots clés : *Candida albicans*, antifongique, biofilm, algues marines.

Abstract.

Candida albicans is a pathogenic champignon responsible for most fungal diseases because of its ability to form biofilms. The use of synthetic antifungal such as fluconazole, amphotericin B and myconazole is limited due to their toxicity and resistance to *Candida albicans*.

In vitro studies show that the methanoic and ethanoic extracts of *Padina gymnospora* have good antifungal activity compared to several algal species. Zones of inhibition in solid medium of between 10 and 26 mm were observed.

The determination of the MIC by the microdilution method shows that the methanolic extracts of *Padina sp* and *Dictyota bartayresiana* at an MIC of 50 mg / mL and inhibits the formation of *C. albicans* biofilm at 67.08 and 74.55%.

Marine algae represent a promising source of new anticandidosis agents

Keywords: *Candida albicans*, antifungal, biofilm, marine algae.

المخلص

المبييضات البيضاء هي فطريات ممرضة مسؤولة عن معظم الأمراض الفطرية بسبب قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية. استخدام مضادات الفطريات الاصطناعية مثل الفلوكونازول والأمفوتيريسين ب ومايكونازول محدود بسبب سميته ومقاومتها للمبييضات البيضاء.

تظهر الدراسات في المختبر أن المستخلصات الميثانوية والإيثانوية في *Padina gymnospora* لها نشاط مضاد للفطريات مقارنة بالعديد من أنواع الطحالب. لوحظت مناطق تثبيط في وسط صلب يتراوح بين 10 و 26 ملم.

يوضح تحديد MIC بواسطة طريقة microdilution أن المستخلصات الميثانولية لـ *Padina sp* و *Dictyota*

bartayresiana عند MIC تبلغ 50 مجم / مل وتمنع تكوين biofilm *C. albicans* عند 67.08 و 74.55%.

تمثل الطحالب البحرية مصدرًا واعدًا لعوامل جديدة مضادة للجروح.

الكلمات المفتاحية: المبييضات البيضاء ، الفطريات ، الأغشية الحيوية ، الطحالب البحرية.