

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليدجي 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

Domaine : S.N.V

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Fondamentale et Appliquée

THEME

Etude de l'activité anticandidosique de l'extrait dichlorométhane de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata*

Présenté par :

M^{lle}. DAHMANI Hanane

M^{lle}. MAAMERI Hadjira

Devant le jury composé de :

M. LEBOUKH Mourad, MAA, Université Amar Télidji

M. ZERROUKI Mohamed El Hocine, MAA, Université Amar Télidji

M. GOUZI Hicham, Professeur, Université Amar Télidji

Mme. MESSAHLI Ilhem, Docteur, Université Amar Télidji

Président

Examineur

Rapporteur

Co-Rapporteuse

Année Universitaire : 2022 / 2023

Remerciements

***Ce modeste travail a été entièrement réalisé au département de Biologie de
L'Université Amar Têlidji de Laghouat***

Nous remercions en particulier à ;

***Monsieur Hicham Gouzi, Maître de Conférences, de nous avoir
encadrées durant notre stage en étant toujours disponibles et encourageants,
pour leur aides et leur conseils et pour leurs grandes valeurs humaines.***

Tous les membres du jury

***M. Leboukh Mourad
M. Zerrouki Mohamed El Hocine***

***Responsable du laboratoire du département de biologie et aux ingénieurs du
laboratoire d'avoir mis à notre disposition le nécessaire pour réaliser ce
travail .***

***Nous remercions l'équipe administrative et enseignante du département de **Biologie** de
l'Université Amar Telidji.***

***Nous remercions nos collègues étudiants(es) avec qui nous avons eu le plaisir d'étudier durant
ces cinq dernières années.***

***Nous remercions nos parents et à tout nos familles pour amour , leurs soutiens et surtout pour
leurs prières. Et à tout ceux qui nous ont aidés de près ou de loin durant ces
années d'études.***

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mes chers parents qui ont été toujours à mes cotés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études .En sing de reconnaissance, qu'ils trouvent ici , l'expresssion de ma profonde gratitude pour tout ce qu'ils ont consenti d'efforts et de moyens pour me voir réussir dans mes etudes

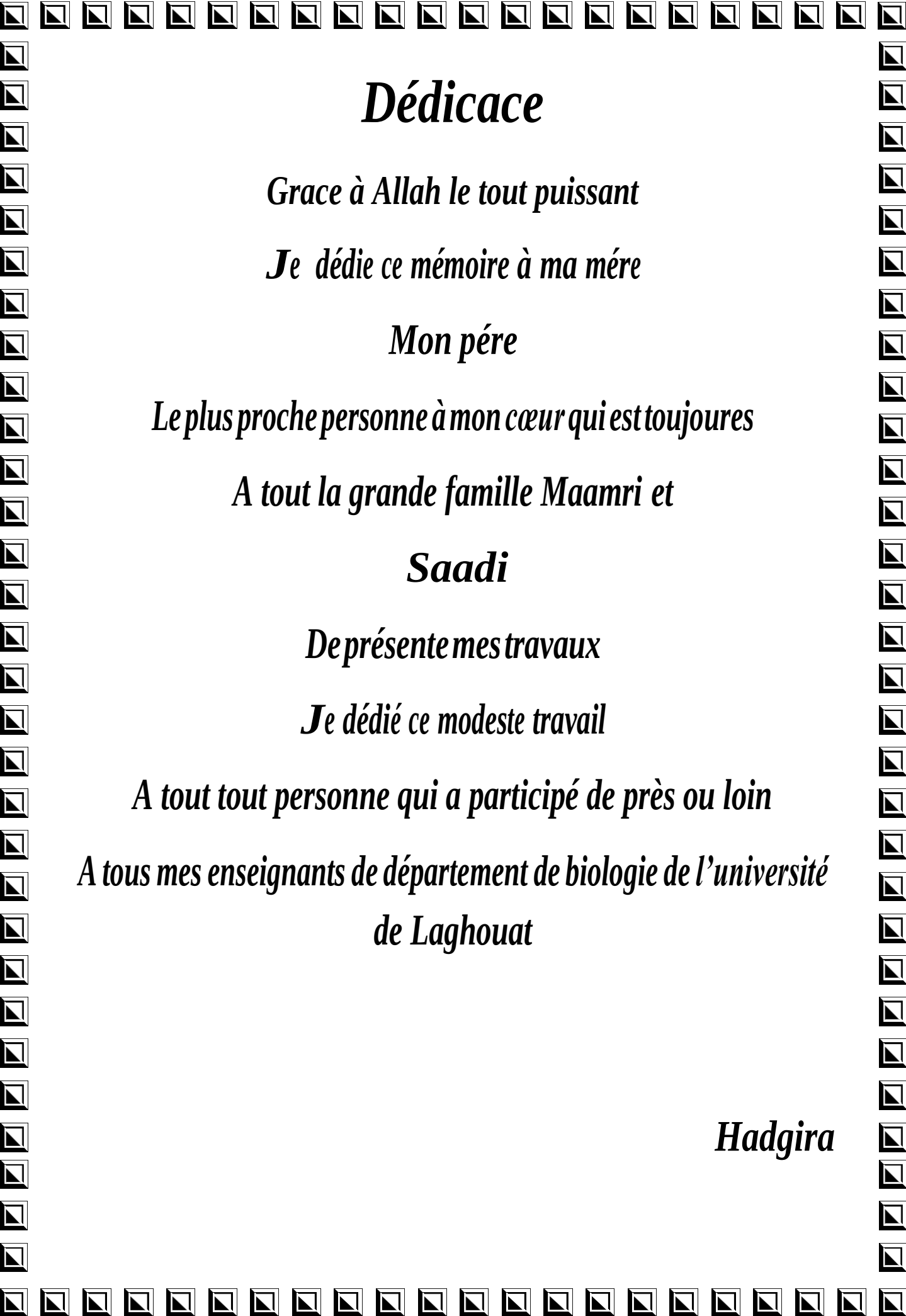
A tout famille Dahmani et Bouali

Et A tout mes amies

Et A tout ceux qui aiment le bon travail et ne reculent par devant les obstacles de la vie.

Et tout la promo de microbiologie appliquée.

Hanane



Dédicace

Grace à Allah le tout puissant

Je dédie ce mémoire à ma mère

Mon père

Le plus proche personne à mon cœur qui est toujours

A tout la grande famille Maamri et

Saadi

De présente mes travaux

Je dédie ce modeste travail

A tout tout personne qui a participé de près ou loin

*A tous mes enseignants de département de biologie de l'université
de Laghouat*

Hadgira

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة الفعالية المضادة من المستخلص الطحالب الحمراء *A.armata* Harvey من الساحل الغربي الجزائري. تم الحصول على محصول استخلاص يبلغ حوالي 2% بعد النقع البارد لمدة 24 ساعة. تم تقييم النشاط المضاد للفطريات على سلالتين من *C. albicans* (IP 444 و ATCC 10231) باستخدام طريقة انتشار الآجار. يتمتع مستخلص ثنائي كلورو ميثان بقدرة عالية على مقاومة القاتلة خاصة ضد المبيضات البيضاء ATCC 10231. أظهر الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) المحدد بواسطة طريقة التخفيف الدقيق أن *C. albicans* IP444 (MIC = 0.58 مجم / مل) حساس مقارنةً بـ *C. 10231* (MIC = 2.34 مجم / مل). وفقًا لهذه النتائج، يمكن اعتبار أعشاب البحر الأحمر *Asparagopsis armata* مصدرًا واعدًا لعوامل جديدة مضادة للفطريات لعلاج داء المبيضات.

الكلمات المفتاحية:

Asparagopsis armata، *Candida albicans* نشاط مضاد للفطريات ، ثنائي كلورو ميثان ، MIC.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'activité anticandidosique de l'extrait d'algue marine rouge *A. armata* Harvey de la côte ouest algérienne. Un rendement d'extraction d'environ 2% a été obtenu après macération à froid pendant 24 heures. L'activité antifongique a été évaluée sur deux souches de *C. albicans* (IP 444 et ATCC 10231) en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé. L'extrait dichlorométhanique exerce un pouvoir anticandidosique élevé surtout contre *Candida albicans* ATCC 10231. La concentration minimale inhibitrice (CMI) déterminée par la méthode de micro dilution, a montré que *C. albicans* IP444 (CMI = 0,58 mg/ml) est sensible en comparaison avec *C. albicans* ATCC 10231 (CMI = 2,34 mg/ml). D'après ces résultats, l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* peut être considérée comme source prometteuse de nouveaux agents antifongiques pour le traitement des candidoses.

Mots clés :

Asparagopsis armata, *Candida albicans*, activité antifongique, dichlorométhane, CMI.

Summary

The objective of this work is to study the anticandidal activity of the extract of red seaweed *A. armata* Harvey from the Algerian west coast. An extraction yield of about 2% was obtained after cold maceration for 24 hours. The antifungal activity was evaluated on two strains of *C. albicans* (IP 444 and ATCC 10231) using the agar diffusion method. The dichloromethane extract exerts a high anticandidal power, especially against *Candida albicans* ATCC 10231. The minimum inhibitory concentration (MIC) determined by the micro dilution method showed that *C. albicans* IP444 (MIC = 0.58 mg/ml) is sensitive in comparison with *C. albicans* ATCC 10231 (MIC = 2.34 mg/ml). According to these results, the red seaweed *Asparagopsis armata* can be considered as a promising source of new antifungal agents for the treatment of candidiasis.

Key words:

Asparagopsis armata, *Candida albicans*, antifungal activity, dichloromethane, MIC.

SOMMAIRE

Page

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des figures I

Liste des tableaux II

Liste des abréviations..... III

Introduction 01

Chapitre 1 : Généralités sur les algues marines

1) Définition et morphologie des algues 03

2) Classification des algues04

2-1 : Les algues vertes (Chlorophycées)..... 04

2-2 : Les algues brunes (Phéophycées)..... 05

2-3 : Les algues rouges (Rhodophycées)..... 05

2-4 : Les algues bleues (Cyanophycées)..... 06

3) Condition de vie06

4) Reproduction des algues 06

5) *Asparagopsis armata* 07

5-1 : Définition et morphologie.....07

5-2 : Ecologie 07

5-3 : Taxonomie 08

5-4 : Cytologie.....08

5-5 : Reproduction.....09

Chapitre 2 : Les candidoses et Candida albicans

1) Les candidoses	11
1-1 : Généralités	11
1-2 : Définition les candidoses.....	11
1-3 : Facteurs favorisant des candidoses.....	11
2) Candida albicans	12
2-1 : Définition	12
2-2 : Habitat.....	12
2-3 : Taxonomie	12
2-4 : Forme et morphologie.....	12
2-5 : Caractère biologique et physiologiques de Candida albicans	14
2-6 : Reproduction.....	15

Chapitre 3 :

Matériel et méthode

1- Matériel biologique.....	16
1-1 : Collecte de l'algue marine rouge Asparagopsis armata.....	16
1-2 : Évaluation de l'activité anticandidosique.....	17
2- Méthode	18
2-1 : Préparation des inocula de C. albicans.....	18
2-2 : Détermination de l'activité anticandidosique par la technique de diffusion en milieu gélosé.....	18
2-3 : Principe de la technique.....	19
2-4 : Mode opératoire.....	19
2-5 : Détermination de la CMI	20

Résultat et discussion

1 : Rendement d'extraction	21
2 : Activité anticandidosique de l'extrait DCM	21
3 : Concentration minimale inhibitrice	25
Conclusion.....	28
Références bibliographiques	29

Liste des figures

N°	Titre	Pages
Figure 01	<i>Ulva lactuca</i>	05
Figure 02	<i>Laminaria digitata</i>	05
Figure 03	<i>Palmaria palmata</i>	06
Figure 04	<i>Asparagopsis armata</i>	07
Figure 05	Ramification du thalle chez <i>Asparagopsis armata</i>	09
Figure 06	Cycle de vie du l' <i>Asparagopsis armata</i>	10
Figure 07	Morphologie de <i>Candida albicans</i>	13
Figure 08	Levure ou blastopores	13
Figure 09	Levure et filaments (mycélium)	14
Figure 10	Chlamydospore	14
Figure 11	Site de la récolte de l'algue (Salamandre-Mostaganem).	16
Figure 12	Le protocole d'extraction.	17
Figure 13	Photographies de <i>C. albicans</i> .	18
Figure 14	Résultats de l'activité antifongique de l'extrait DCM d' <i>A. armata</i> sur <i>C. albicans</i> obtenus par (a, b et c) méthode de diffusion en puits et (d, e et f) méthode de diffusion sur disques (T : témoin (DMSO)).	22
Figure 15	Photographie des microplaques illustrant les CMI de l'extrait de l'algue vis- à-vis de <i>C. albicans</i> IP 444 et <i>C. albicans</i> ATCC 10231.	26

Liste des tableaux

Pages

Tableau 01 : Activité antifongique (technique de diffusion en puits) de l'extrait dichlorométhanique, classée selon le diamètre de la zone d'inhibition autour du point d'application de l'extrait d'*A. armata*. La moyenne des zones d'inhibition de la levure *C. albicans* est exprimée en millimètre52

Tableau 02 : Activité antifongique (technique de diffusion sur disques) de l'extrait dichlorométhanique, classée selon le diamètre de la zone d'inhibition autour du point d'application de l'extrait d'*A. armata*. La moyenne des zones d'inhibition de la levure *C. albicans* est exprimée en millimètre. 52

Liste des abréviations

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

°C : Centimètre

DCM : Dichlorométhane

DO : Densité Optique.

DMSO : Diméthylsulfoxyde

UFC : Unité Formant Colonie

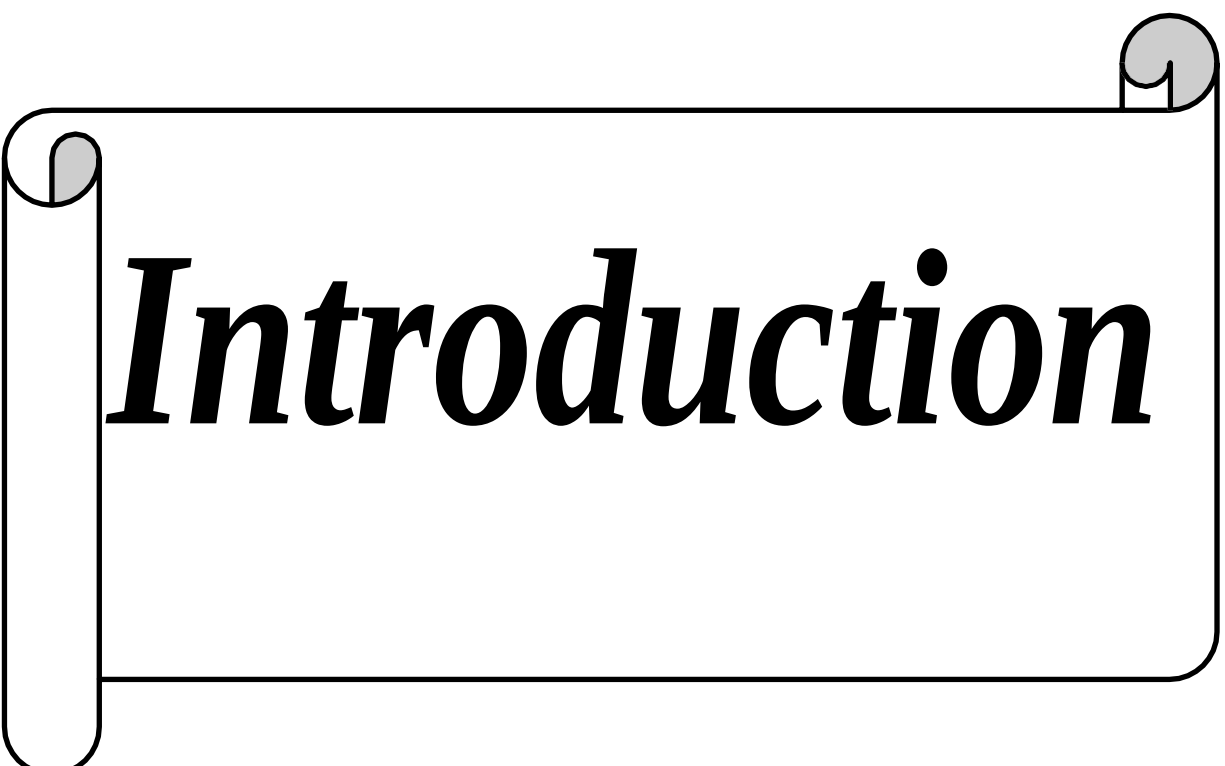
UFC/ml : Unité Formant Colonie par millilitre

NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards

Mg/ml : Milligramme par millilitre

µm : Micro metre

Mm : Millimetre



Introduction

Introduction

Les mycoses se définissent comme des maladies infectieuses dues au développement et à la multiplication de champignons pathogènes dans différents tissus et organes chez l'homme comme chez l'animal (**Guillot,1999**) .

Les infections fongiques systémiques ou profondes sont de plus en plus fréquentes non seulement en nombre mais aussi en diversité d'espèces responsables . Ces infections sont liées à une importante morbidité et d'une très lourde mortalité (**Chavanet,1997**). Il s'agit d'infections sévères et invasives qui se propagent dans le corps provoquant une atteinte grave d'un ou plusieurs organes . Les levures , essentiellement représentées par le genre *Candida* , sont des micro-organismes commensaux ,endo –ou exogènes, diversement adaptés au parasitisme et dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence de facteurs favorisants, dits (facteurs de risque),locaux ou généraux .Les candidoses , dont l'espèce la plus connue et la plus redoutable pour l'homme est *Candida albicans*, sont donc dans leur grande majorité des infections opportunistes dont les causes sont variées (**Merghache et al ., 2012**) ,70% des chocs septiques à levures, parmi les patients hospitalisés en soins intensifs, sont due à des *Candida non albicans* .

Par conséquent, un grand intérêt a été réservé, au cours de la dernière décennie à l'étude des candidoses , tant de point de vue biologique , que de point de vue posologique et thérapeutique .

Cette importance donnée à l'étude des candidoses fait suite à l'apparition de la résistance des souches aux médicaments les plus communément utilisés et aux complications que ces germes produisent chez des patients à profil clinique particulier, ce qui rend nécessaire l'identification de nouvelles molécules issues des substances naturelles naturelles en basant surtout sur les substances extraites à partir des plantes de types des algues (**Zidaa et al., 2017 ; Senhaji et al ., 2005**).

Les océans sont un énorme réservoir d'organismes divers tels que les algues qui sont considérés comme une véritable source de nouvelles bioactives à activité antifongique (**Terra et al., 2014 ; Bansemir et al ., 2005**) . L'utilisation des algues marines ou de leurs extraits pourrait constituer une excellente alternative aux problèmes de résistance et de cytotoxicité des antifongiques (**Sandrine ,2004**) .

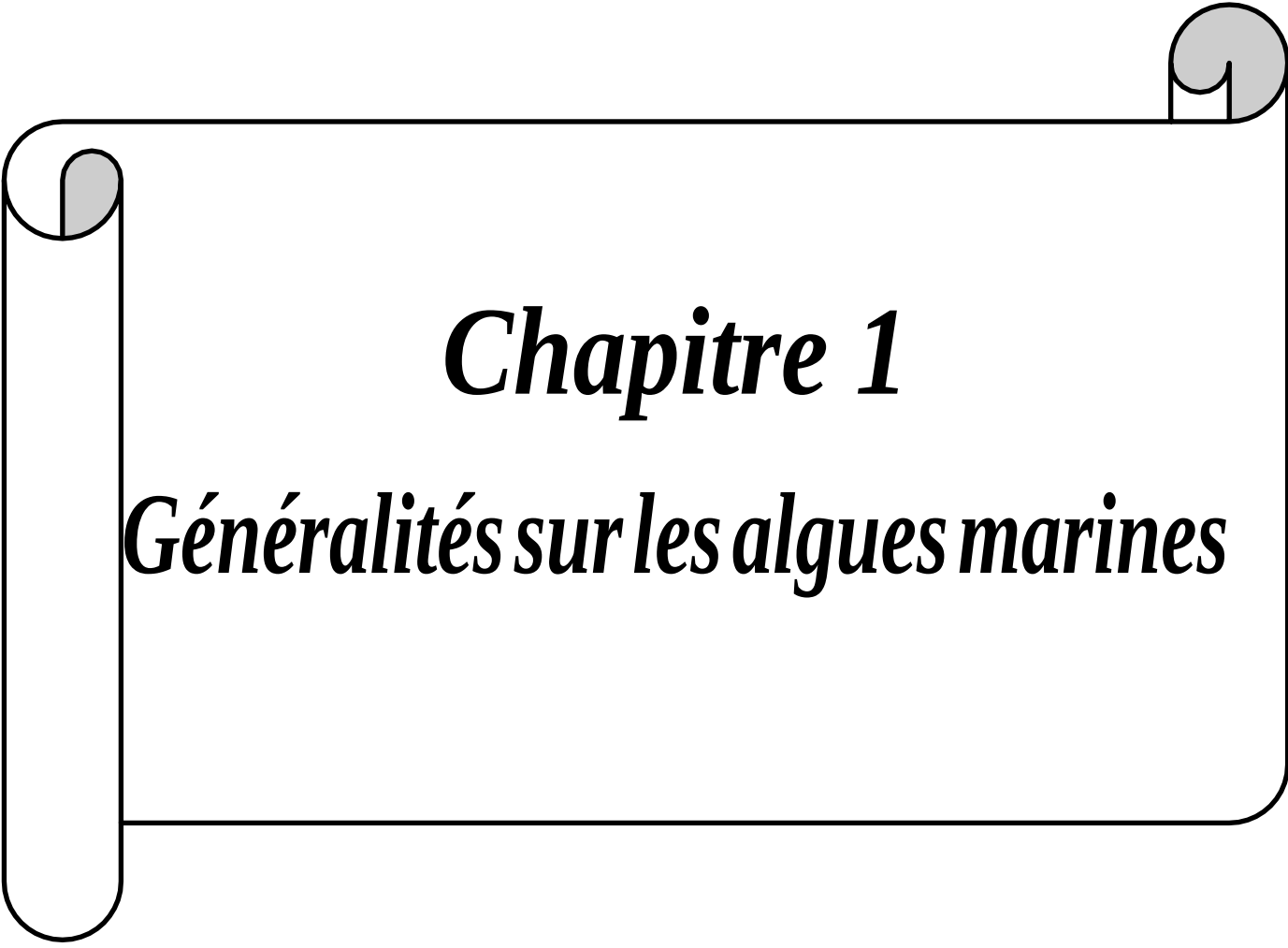
La biomasse algale des côtes marines Algérienne n'a pas encore été exploitée comme source potentielle d'agent antimicrobien .Par conséquent l'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'activité antifongique de l'extrait dichlorométhane de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* sur *Candida albicans*.

Introduction

Ce mémoire comporte quatre principales parties, qui développe chacune des points particuliers. La première partie correspond à une revue de la bibliographie sur les algues marines et candida albicans. Le deuxième partie présente la méthodologie appliquée tout au long de ce travail. La troisième partie permet de présenter l'ensemble des résultats concernant les activités anticandidosique de l'extrait algal et de réaliser une interprétation comparative aux résultats préalablement publiés dans la littérature scientifique. La quatrième partie correspond à une conclusion dans laquelle, nous tentons de mettre en avant les points importants apportés par ce travail, ainsi que de futures perspectives .



Synthèse bibliographique



Chapitre 1

Généralités sur les algues marines

1-Définition et morphologie des algues

Les algues occupent une place importante dans le milieu marin avec plus de 1200 espèces appartenant à tous les niveaux évolutifs, capables de produire des substances dont l'action constitue dans certains cas, un élément de protection contre les prédateurs naturels. Les algues marines constituent un énorme réservoir de molécules naturelles potentiellement actives, des études ont permis d'isoler et d'identifier un très grand nombre de molécules nouvelles de grande originalité structurale et dont beaucoup d'entre elles ont une activité biologique intéressante (**Younes et al., 2009**).

Elles regroupent un ensemble de végétaux photosynthétiques très divers et dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé (thalle). Celui-ci contient une structure à sa base (rhizoïdes, crampons, disques...) permettant l'ancrage de l'algue sur un support : une roche (algues épilithes), ou une plante (algues épiphytes), ou un animal (algues épibiontes) ou parfois même le sable. Le thalle présente une grande diversité de formes allant de lames simples à des structures plus complexes semblables à des tubes, des tiges et des feuilles ou encore des boules remplies d'eau. La texture est également très variée : certaines algues sont gélifiées, voire de texture cartilagineuse ou spongieuse (**Zitouni, 2015**).

Les algues présentent un appareil végétatif peu évolué (sans racine, ni tige, ni feuille), mais elles jouent un rôle primordial dans le maintien de l'équilibre écologique du milieu aquatique.

Elles sont les principales responsables de la production primaire (l'évaluation de celle-ci pour le phytoplancton permet de déterminer les lieux de pêche favorables), elles synthétisent la matière organique nécessaire qui constitue la source alimentaire d'une grande partie de la faune marine, elles dégagent de l'oxygène directement utilisé par les espèces marines, elles présentant un support d'alevins de nombreux poissons, des mollusques, de crabes et autres espèces. Elles permettent également l'amélioration, la clarification, la récupération des éléments nutritifs en suspension et l'aut-épuration de l'eau car certaines macroalgues libèrent des substances bactéricides telles que les acides gras, les chlorophyllides, les terpènes et les phénols (**Raidi, 1998**).

Les algues, tributaires de la lumière, ne peuvent vivre profondément et se limitent à des profondeurs de 25 à 30 mètres voire jusqu'à 50 mètres dans les régions les plus favorables. Sur la zone de balancement des marées, le rôle de la marée, et donc les phases d'immersion et d'émersion, exerce un rôle prépondérant sur la répartition des algues (**Eric, 2004**).

Les cellules des algues possèdent les mêmes éléments de structure que celles des plantes supérieures (**Sandrine, 2004 ; Lecointre et Belin, 2001**).

Elles ont une paroi cellulaire partiellement cellulosique, des petits noyaux et des plastes pigmentés ou chromatophores (comportant de la chlorophylle souvent masquée par des primentssurnuméraires qui donnent aux thalles des couleurs rouge, brune, verte ou bleue)(Sandrine, 2004 ; Lecointre et Belin, 2001).

2) Cassification des algues :

2-1 : Les algues vertes (Chlorophycées):

Les chlorophyta, ainsi que leur nom l'indique, sont en principe algue de couleur verte, celle-ci étant due à la nature de l'équipement des pigmentaires contenus dans leurs chloroplastes. Cette couleur verte est quelque fois masquée par la présence d'inclusions cellulaires supplémentaires chargées de carotènes. C'est ainsi que quelques une présentent une couleurs rouge. Sous l'effet d'une fort insolation, d'autres peuvent devenir jaunâtres. Les algues vertes se définissent par certains caractères fondamentaux liés à la structure des plastes et à leur particularités biochimiques (présence de chlorophylles a et b, de carotènes et de xanthophylles, élaboration d'un amidon intraplastidial que l'on met aisément en évidence à l'aide d'un colorant à base d'iode, le Lugol).(Cabioc'h, J et al ., 2006).

Il existe environ **7500** espèces d'algues verte réparties dans plusieurs classes, parmi lesquelles : les Chlorophyceae, les Ulvophyceae et charophytes. Ces classes diffèrent par la disposition et l'ancrage des flagelles, par la chronologie de la disposition des fuseaux à la télophase, et par la manière dont se produit la cytodierèse après la division nucléaire (Nabors, M ; 2009). Elles sont de formes très variées, uni ou pluricellulaires. Leurs pilastres sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles sont associés des carotènes et des xanthophylles. La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures ; la plupart des algues vertes vivent en eau douce ou en milieux marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre. Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale.

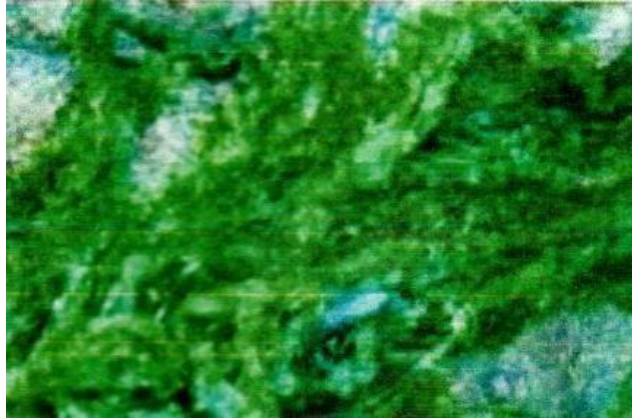


Figure 01 : *Ulva lactuca* (Mesnildrey et al .,2012) .

2-2 : Les algues brunes (Phéophycées) :

La couleur brune de ces algues résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leur dimensions varient de plus les éléments microscopiques jusqu' aux très grands spécimens .La grande majorité des algues brunes sont marines.(Garon_Lardiere.S ;2004).Les plantes brunes de ces algues, qui comptent quelques 1500 espèces, contiennent trois chlorophylles (a, c1 et c2) plus ou moins masquées par divers pigments jaunes et orangés, les parois des cellules sont riches en un polysaccharide particulier, l'acide alginique, présent sous forme d'alginate.



Figure 02 : *Laminaria digitata* (Mesnildrey et al .,2012)

2-3 : Les algues rouges (Rhodophycées) :

Les Rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastides roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles (Sandrine ,2004 ; Lecointre et Belin, 2001). Les algues rouges sont ordinaires de plus petites algues, leur longueur allant d'habitude de quelques centimètres à environ un mètre (Belmokhtar, 2012) .

La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques-unes vivent également en eau douce (Sandrine,2004 ;Lecointre et Belin,2001) .



Figure 03 : *Palmaria palmata* (Mesnildrey et al .,2012) .

2-4 : Les algues bleues (Cyanophycées) :

Elles possèdent des pigments surnuméraires bleus (Phycocyanines) et rouges (Phycoerythrines) qui masquent la chlorophylle. Endépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, brunes, jaunes ou oranges. La plupart d'entre elle ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent (Ainane , 2011).

2) Condition de vie :

Il y a des algues pratiquement partout sur notre planète.Très peu exigeantes, il leur suffit d'un brin de lumière et d'un soupçon d'eau pour se développer. La plupart des algues vivent en effet dans les océans, elles y représentent plus de 90%des végétaux .Les grandes algues vivent plutôt le long des côtes rocheuses, depuis la zone balayée par les maréesjusqu' à 150 voire 200 mètre de profondeur (Leclerc, 2010).

3) Reproduction des algues :

Dans de très nombreux cas, la reproduction de l'algue s'effectue par multiplication végétative. Il s'agit d'une multiplication asexuée qui consiste soit en la division d'une cellule isolée (cas des algues bleues), soit en une fragmentation de thalle aboutissant à la formation de plusieurs organismes identiques. Elle est souvent réalisée par la formation de cellules spécialisées : les spores. Les algues eucaryotes réalisent en plus une reproduction sexuée au cours de laquelle l'union de deux cellules reproductrices , ou gamètes, produit un œuf ,ou zygote .La reproduction des algues se déroule ainsi selon une alternance de phases de reproduction asexuée assurée par les thalles (sporophytes), et de phases de reproduction

sexuée, assurée par des thalles producteurs de gamètes (gamétophytes). Aux cycles d'alternance de génération plus ou moins variés caractérisant leur reproduction, se superpose également une alternance de phases (de n à $2n$ chromosomes). (Garon-Lardiere.S, 2004).

4) *Asparagopsis armata* :

4-1 : Définition et morphologie :

Asparagopsis armata est une algue rouge marine pluricellulaire, son thalle se présente sous forme de touffes roses au contour pyramidal, de 15 à 30 cm de long. Il est ramifié et est constitué par une alternance de rameaux longs à croissance indéfinie, de rameaux courts encore appelés brachyblastes, et de rameaux épineux, en forme de « harpon », par l'intermédiaires quels les frondes d'*Asparagopsis armata* s'accrochent aux algues environnantes. Ces deux derniers rameaux ont une croissance limitée (Sandrine, G. 2004 ; Natalie, S. 2011).

Elle élabore des composés organiques riches en silicium qui franchissent aisément l'épiderme et le derme. Elle possède des propriétés bactéricides d'où leur utilisation en cosmétologie, dans la confection de certaines crèmes (Faller, 2011).

Est une espèce annuelle, photophile se développe au niveau de l'infralittoral supérieur, entre la surface et dix mètres de profondeur, dans des zones modérément battues (mode abrité). Elle est le plus épiphyte d'autres algues, et colonise facilement les substrats artificiels (Sandrine, 2004).



Figure 04 : *Asparagopsis armata* (Boudouresque, 2010).

4-2 : Ecologie :

Asparagopsis armata est une espèce originaire d'Australie, ou elle a été découverte en 1855 par Harvey (Harvey, 1854 ; Sandrine, 2004).

Egalement présente en Nouvelle Zélande et en Tasmanie, elle s'est naturalisée sur les côtes européennes par le biais du canal de Suez depuis les années 1920. C'est ainsi que son aire de

répartition s'étendue des côtes algériennes où elle fut décrite en 1923 (Sandrine, 2004 ; Dijoux, 2014).

Aux côtes françaises méditerranéennes et atlantique, jusqu'à des îles britanniques sa présence est constatée sur l'île d'Ouessant en 1936 par chemin (Sandrine, 2004 ; Dijoux, 2014).

4-3 : Taxonomie :

Les algues rouges, ou Rhodophycées, sont très diversifiées et regroupent entre 5000 et 6000 espèces réparties dans environ 680 genres. Elles comprennent deux sous-divisions, les bangiophytes, et les Florideophyceae dont l'organisation végétative (Van den Hoek et al., 1995). *Asparagopsis armata* Harvey (Harvey, 1855), est une algue rouge marine pluricellulaire, dont la taxonomie complète est suivante :

Division : Rhodophyta

Classe : Rhodophyceae

Sous-classe : Florideophyceae

Ordre : Bonnemaisoniales

Famille : Bonnemaisoniaceae

Genre : *Asparagopsis*

Espèce : *Asparagopsis armata*

4-4 : Cytologie :

Asparagopsis armata, phase gamétophytique d'*Asparagopsis*, est une espèce annuelle. Cette algue photophile se développe au niveau d'infralittoral supérieur, entre la surface et dix mètres de profondeur, dans des zones modérément battues (zone abritée) (Cabioc'h et al., 1992). Elle est le plus souvent épiphyte d'autre algue, et colonise sous forme de touffes roses au contour pyramidal de 15 à 30 cm de long. Il est ramifié et est constitué par une alternance de rameaux longs à croissance indéfinie, de rameaux courts, encore appelés brachyblastes, et de rameaux épineux, en forme de « harpon », par l'intermédiaire desquels les frondes d'*Asparagopsis armata* s'accrochent aux algues environnantes. Ces deux derniers ont une croissance limitée.

Les rameaux longs naissent à partir d'une cellule initiale terminale (apicale) qui génère une file de cellule axiale très allongées constituant le filament axial. La structure du thalle uni-axiale est formée par un tube creux, constitué par ce filament axial et limité par un cortex cellulaire dense (Feldmann, 1939). La ramification des rameaux longs est générée par le cloisonnement oblique des cellules axiales, donnant naissance à deux cellules péri-axiales

opposées. Chacune va alors générer un filament axial latéral qui va se développer soit en rameaux courts pour l'un, soit en un nouveau rameau long à croissance indéterminée ou axe secondaire pour l'autre, ce dernier ressemblant à l'axe principal (**Bonin et Haawkes, 1987 ; Feldmann et Womersley, 1996**). Les rameaux courts (brachyblastes), quant à eux, ont une structure plus simple. Ils sont formés d'une seule file de cellules qui se divisent ensuite par des cloisons parallèles à l'axe du rameau pour donner naissance à une cellule centrale étroite (axe du brachyblastes) et à trois cellules plus longues entourant le filament axial et constituant les cellules péricentrales. Ces dernières ne sont pas disposées toutes les trois au même niveau. Mais alternent régulièrement. Enfin, les rameux épineux sont généralement disposés par paire à la base des axes secondaires, et sont produits par des cellules axiales successives. Leur structure est identique à celle des rameaux longs, mais ils sont assimilés à des rameaux à croissance définie.

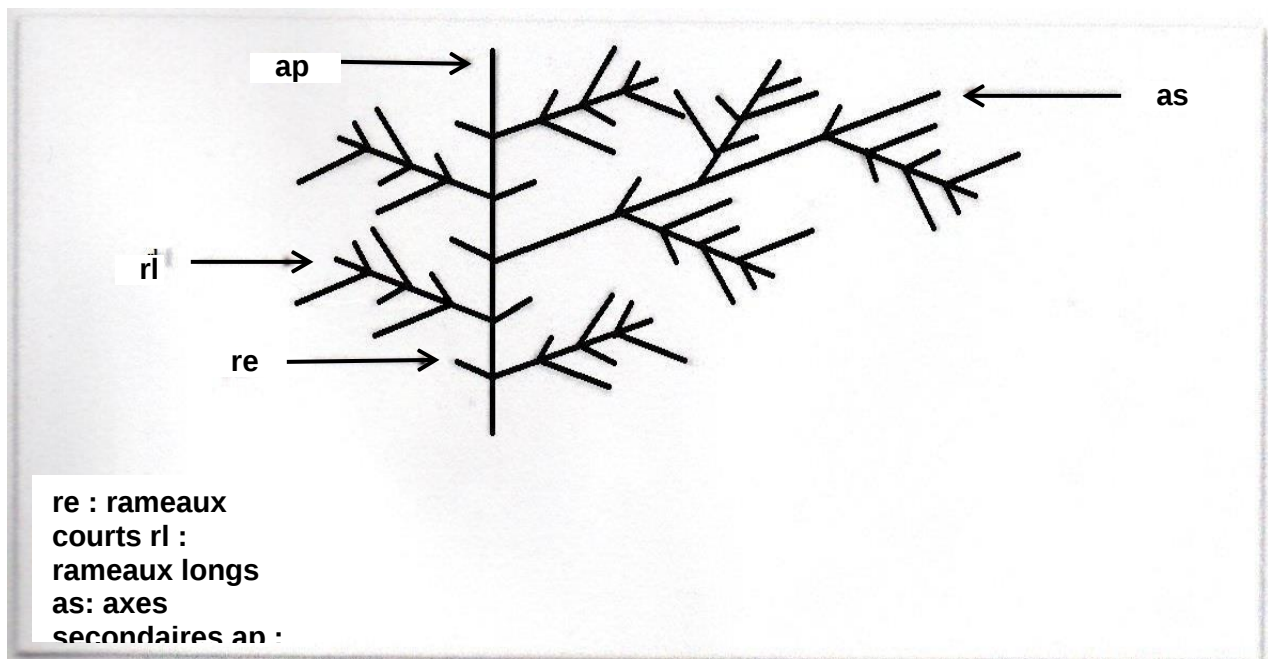


Figure 05 : Ramification du thalle chez *Asparagopsis armata* (Bonin et Hawkes 1987).

4-5 : Reproduction :

Dans le cas d'*Asparagopsis*, la reproduction se fait suivant un cycle trigénétique (alternance de trois générations) : la première génération est sexuée, et se présente sous forme de gamétophytes à n chromosomes (haploïdes). 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 (deuxième génération, asexuée) (**Cabioc'h et al., 1992**). Ce carposporophyte à $2n$ chromosomes formera des carpospores qui

germeront pour donner la troisièmegénération , ou tétrasporophyte , diploïde, et qui fournit des spores (tétraspores) dont le développementgénèrera à nouveau des gamétophytes .Dans notre cas le cycle est trigénétiquehétéromorphe, le tétrasporophyte étanttrèsdifférent des gamétophytes.L'algue d'*Asparagopsis armata* représente la phase gamétophyte d'*Asparagopsis* , alors que *Falkenbergia rufonulosa* est la génération tétrasporophytique de cette algues .Ces deux générationsont dissemblables morphologiquement, ce qui est à de leur appellation différente, puisque pendant longtemps elle ont été prises pour des espèces distinctes .(GaronLardiere .2004).

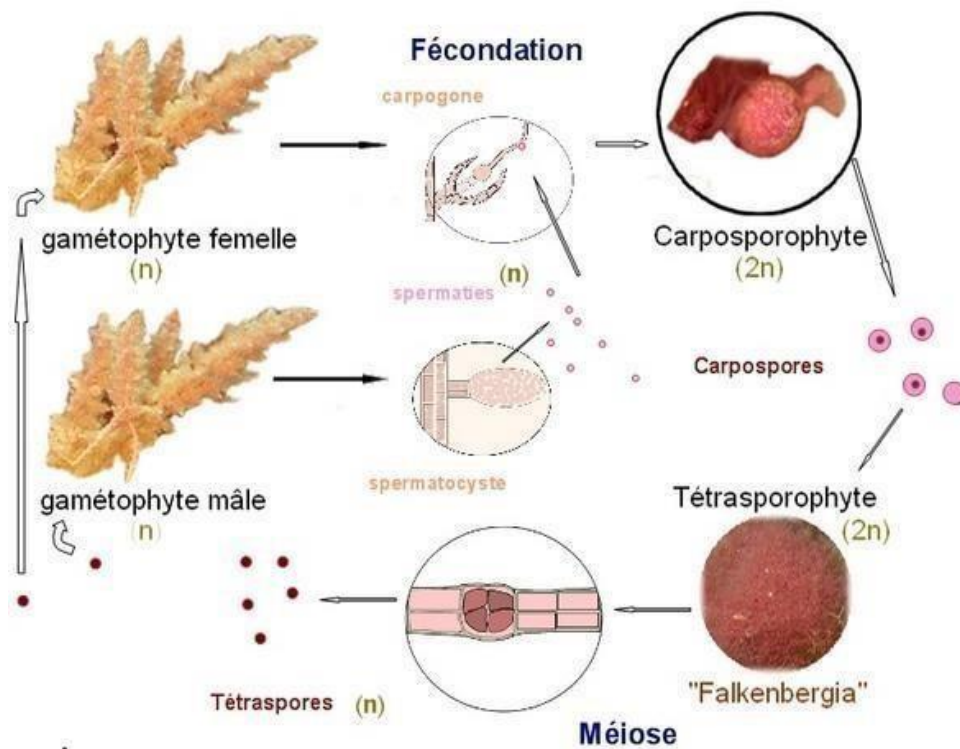
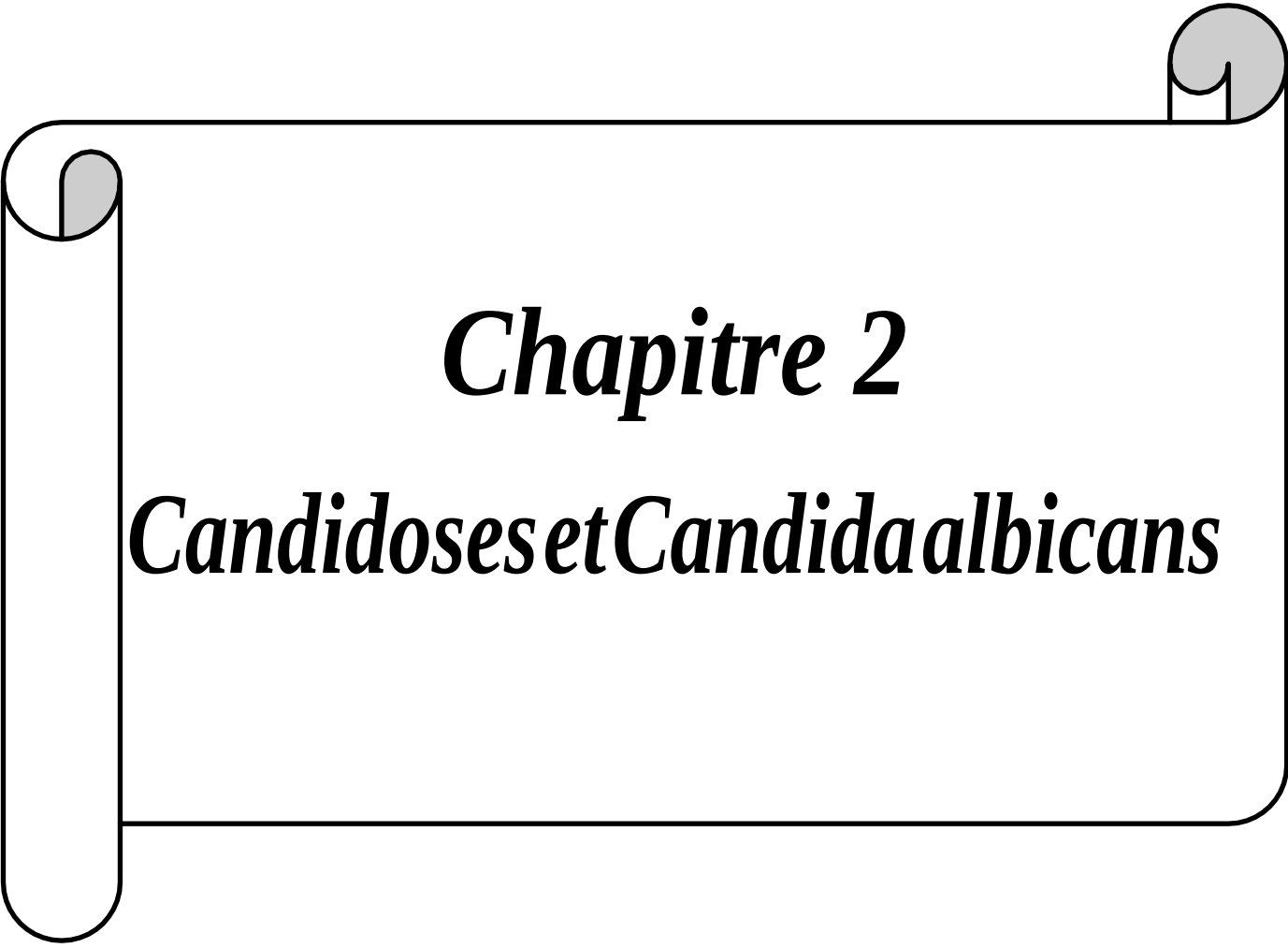


Figure 06 : Cycle de vie du l'*Asparagopsis armata* (Dijoux,2014).



Chapitre 2

Candidoses et Candida albicans

1) les candidoses**1-1 : Généralités :**

Les candidoses représentent les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine (**Marc ,2013**). Elles sont dues à des levures du genre *Candida*, responsables d'atteintes superficielles et profondes (**Hochedez, 2007**). Le genre *Candida* compte **166** espèces. Ce genre regroupe des levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, productrices (exemple : *C. albicans*) ou non (exemple : *C. glabrata*) de filaments et donnant des colonies blanches crémeuses en culture (**Develoux, 2005**). Une dizaine d'espèces sont habituellement rencontrées en pathologie, principalement *Candida albicans* qui est en cause de 70-80% des cas et un moindre degré *C.pseudotropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* (**Guignard et al ., 1989**).

1-2 : La candidoses :

Le spectre des symptômes rencontrés varie considérablement de la candidose cutanée d'une grande fréquence en pratique de ville à la candidose disséminée rencontrée chez les patients hospitalisés cumulant de nombreux facteurs de risque et dont le pronostic est particulièrement sombre (**Develoux, 2005**).

1-3 : Facteurs favorisant des candidoses :

Les facteurs favorisant peuvent être décomposés en facteurs intrinsèques liés à l'hôte ou extrinsèques liés à l'usage des médicaments et la pratiques des gestes médicaux. Pour les candidoses cutanées muqueuses, les facteurs locaux sont prédominants. Pour les infections invasives, les facteurs de risque sont plus nombreux et varient selon le terrain (Immunodéprimés, chirurgie abdominale lourde, patients de réanimation ...) (**El bouri ,2014**).

2) Candida albicans

2-1 : Définition :

Les Candida sont des champignons levuriformes polymorphes se reproduisant par bourgeonnement. C'est une levure non capsulée, non pigmentée et aérobique, 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 (**Damiens, 2012**).

2-2 : Habitat :

Candida albicans est un champignon cosmopolite dont les fréquences d'isolement montrent que chez des sujets sains la levure se répartit différemment en fonction des sites de prélèvement : peau « 3% », vagin « 13% », tractus ano-rectal « 15% », cavité buccale « 18% », estomac et duodénum « 36% » et jéjunum et iléon « 41 % ». Le réservoir principal est donc le tube digestif ou la fréquence de portage varie selon les sujets. (**Lagane, 2007**).

2-3 : Taxonomie : (**Born, 2013**) :

Règne : Champignons

Phylum : Ascomycètes

Classe : Saccharomycètes

Ordre : Saccharomycetales

Genre : Candida

Espèce : Candida albicans

2-4 : Forme et morphologie :

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, aérobique, diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes. Cette levure peut mesurer de 3 à 15 µm (**Kabha et al, 1995**). Candida albicans a une capacité de croître sous des formes morphologiques variées (**Kumamoto et Vences, 2005**).

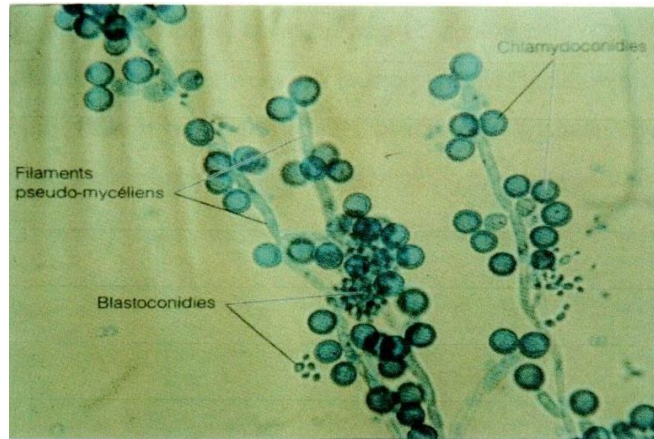


Figure07 : Morphologie de Candida albicans (Tortora et al .,2001).

- **Les blastospores ou blastoconidies** : C'est la forme la plus courante de multiplication de C.albicans.Elles se présentant sous forme de petites cellules ovoïdes de 3.5 à 6 micromètres sur 6 à 10 micromètres « **figure 07** » .Cette cellule peut émettre un bourgeon qui donnera une cellule fille indentique à la cellule mère (Guignard et al .,1989) .

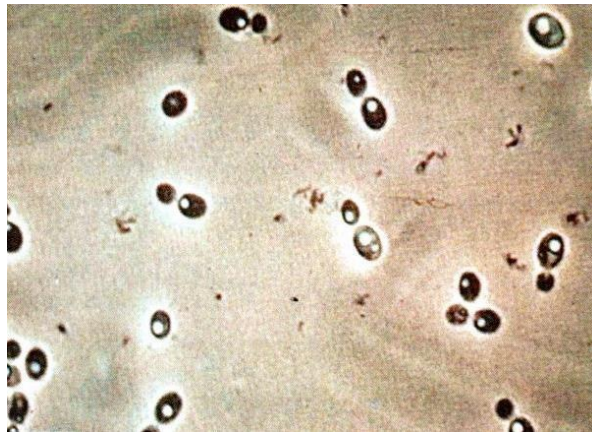


Figure 08: Levure ou blastospores (ANOFEL ,2014).

- **Pseudo-mycélium** : il se forme par croissance tubulaire à partir du blastospore mesurant de 500 à 600 um de longueur et de 3 à5 µm de largeur (Bouchet et al.,1989).
- **Le mycelium** : il s'agit de blastospore qui à donne naissance à un tube germinatif pour former un vrai mycélium « **figure 08**».(Senet et Robert,1995).

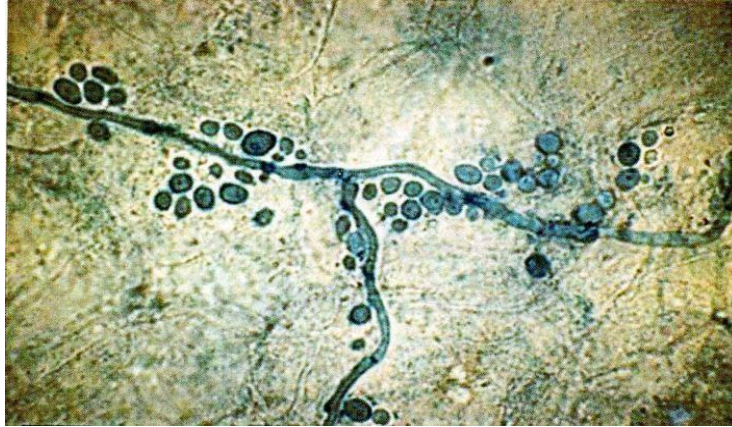


Figure 09 : Levure et filaments (mycélium) (ANOFEL,2014)

- **Chlamydospores** : les chlamydospores sont des structures terminales ou latérales arrondies, mesurent deux fois la taille du blastospore et possèdent une paroi plus épaisse « **figure 09** ».(Costo et al,2002). Les chlamydospores sont la forme de résistance de Candida albicans et participent à l'identification du champignon en laboratoire .Elles sont rarement mises en évidence in vivo(Cole,1991).

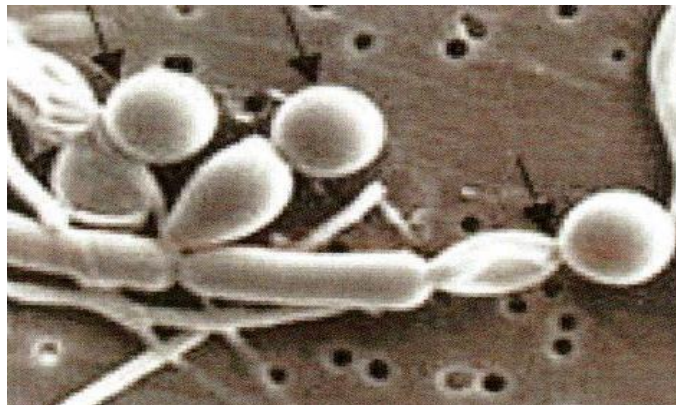


Figure10 : Chlamydospore (C.Munro Aberdeen University, Ecosse) .

2-5 : Caractères biologiques et physiologiques de Candida albicans :

- **Milieu de vie** : Toutes les espèces du genre Candida sont aérobies leur croissance est possible pour des pH allant 3 à 7. La majorité des levures peuvent pousser entre 20°C et 30°C.
- **Caractères physiologiques** : Cette espèce possède la propriété de fermenter le glucose et le maltose, mais pas le lactose, ni la raffinose, ni le saccharose (Dupont,1985). Elle est incapable de réduire les sels de tétrazolium et de les transformer en un composé coloré (la colonie restera blanche). C. albicans n'élabore pas d'uréase mais est capable de produire une protéase kératolytique, capable de digérer la couche cornée de

l'épiderme, d'où la pathogénicité du champignon lorsqu'il est présent à la surface de la peau (**Berrahou,2016**).

- **Milieux de culture** : C.albicans peut croître sur des milieux tels que Sabouraud ; RAT(Rice Agat Tween), RA(Rice Agar) (**Vaubour,2006**) , milieu P.C.B(Pomme de terre,Carotte, Bile) et les milieux riches (sérum humain ou animal).(**Guignard et al ., 1989**).

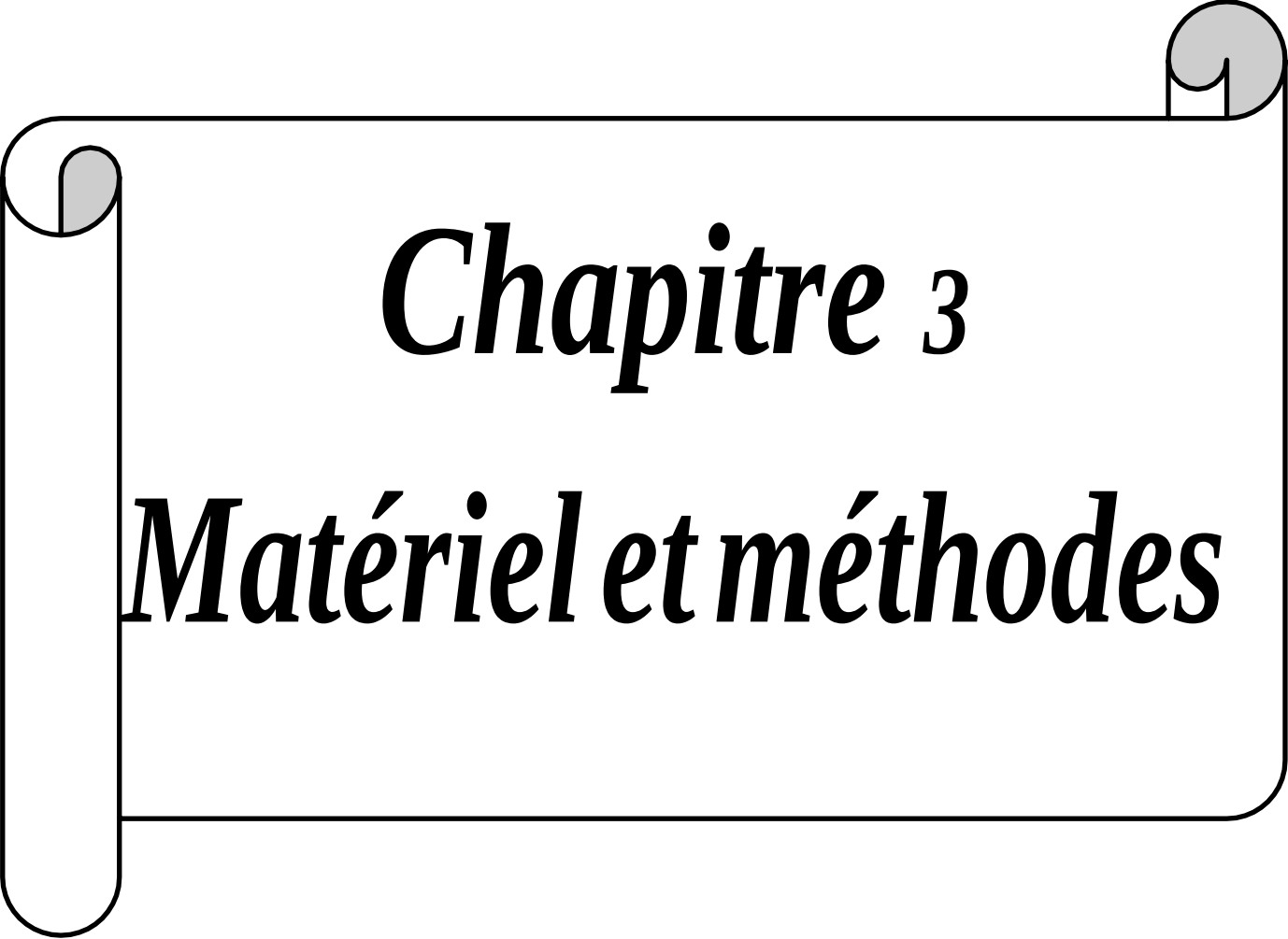
Un antibiotique comme le chloramphénicol doit être additionné au milieu de culture pour éviter la croissance des bactéries et une contamination par ces dernières (**Raoult,1998**).

- **Colonies** : En culture , l'aspect macroscopique de C.albicans est celui d'une colonie blanche à crème, lisse et crémeuse, à bords nets (**Berrahou, 2016**).

2-6 : Reproduction :

Reproduction asexuée : Le mode de multiplication de C.albicans est principalement de type asexué .La multiplication est assurée par bourgeonnement de la blastospore à un pôle particulier de la cellule, donnant naissance, après division du noyau par simple mitose et septation de la cellule ,à une blastospore fille qui se dissocie ultérieurement de la blastospore mère (**Odds,1979**) . Sous certaines conditions (température,pH,composition du milieu de culture),la séparation ne se produit pas à la suite de la septation. Les cellules restent attachées les unes aux autres et forment une chaîne plus ou moins ramifiée appelée pseudomycélium (**Berrahou,2016**).Les conditions favorisant la formation de pseudomycélium favorisent également la formation de mycélium vrai chez C. albicans . Ce deuxième mode de multiplication végétative consiste en une croissance apicale conduisant tout d'abord à la formation d'un tube germinatif puis d'un filament mycélium. Le filament mycélium se présente sous la forme d'articles cellulaires cylindriques et séparés par des cloisons ou septa incomplets avec persistance d'un pore central assurant la continuité cytoplasmique (**Odds,1979,1985 ; Staebell et al., 1985**).

Reproduction sexuée : Contrairement à la plupart des levures,C. albicans est un organisme diploïde pour lequel aucune phase haploïde n'a été observée . Son génome semble contenir les gènes nécessaires à la reproduction sexuée des champignons (**Berrahou,2016**).



Chapitre 3

Matériel et méthodes

1 : Matériel biologique

1-1 : Collecte de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata*

L'échantillonnage de l'algue rouge *A. armata* Harvey a été effectué durant la période de mars - avril 2022, par une cueillette à la main sur une zone rocheuse de la plage de Salamandre du littoral ouest algérien à une profondeur allant de 0,5 à 1 mètre. Le Site est situé à 5 km de la ville de Mostaganem et s'étend sur environ 4 km. C'est une plage rocheuse et ses coordonnées sont les suivantes (35°35'54" de latitude Nord, 0°0'3" de longitude Est).

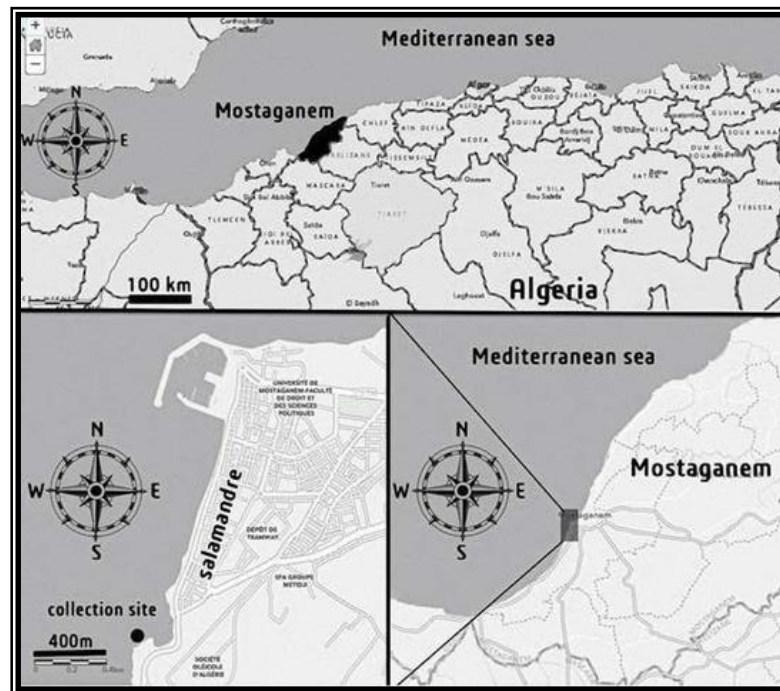


Figure 11 : Site de la récolte de l'algue (Salamandre-Mostaganem).

1-2 : Préparation de l'extrait :

Les algues fraîches sont rincées à l'eau de mer et soigneusement débarrassées des particules de sable puis transféré au laboratoire dans des sacs en plastique scellés.

Les échantillons d'algues sont à nouveau rincés à l'eau du robinet puis placés dans une pièce sombre à température ambiante pendant deux semaines jusqu'à ce qu'ils soient complètement déshydratés. Après séchage, les échantillons sont broyés à l'aide d'un mortier mis dans des sacs en papier jusqu'à utilisation ultérieure.

10 g de poudre d'algue sont introduites dans 100 ml de dichlorométhane (DCM) pendant 24 h sous agitation magnétique (250 tr/min) continue à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'extrait est ensuite filtré sur papier filtre puis évaporés à sec à 45°C sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchirotavapor R-200, Allemagne). Le résidu sec est solubilisé dans du Diméthylsulfoxyde (DMSO) (Sigma, Sternheim, Allemagne) pour une concentration finale de 200 mg/ml et l'extrait final est conservé à 4°C jusqu'à utilisation ultérieure.

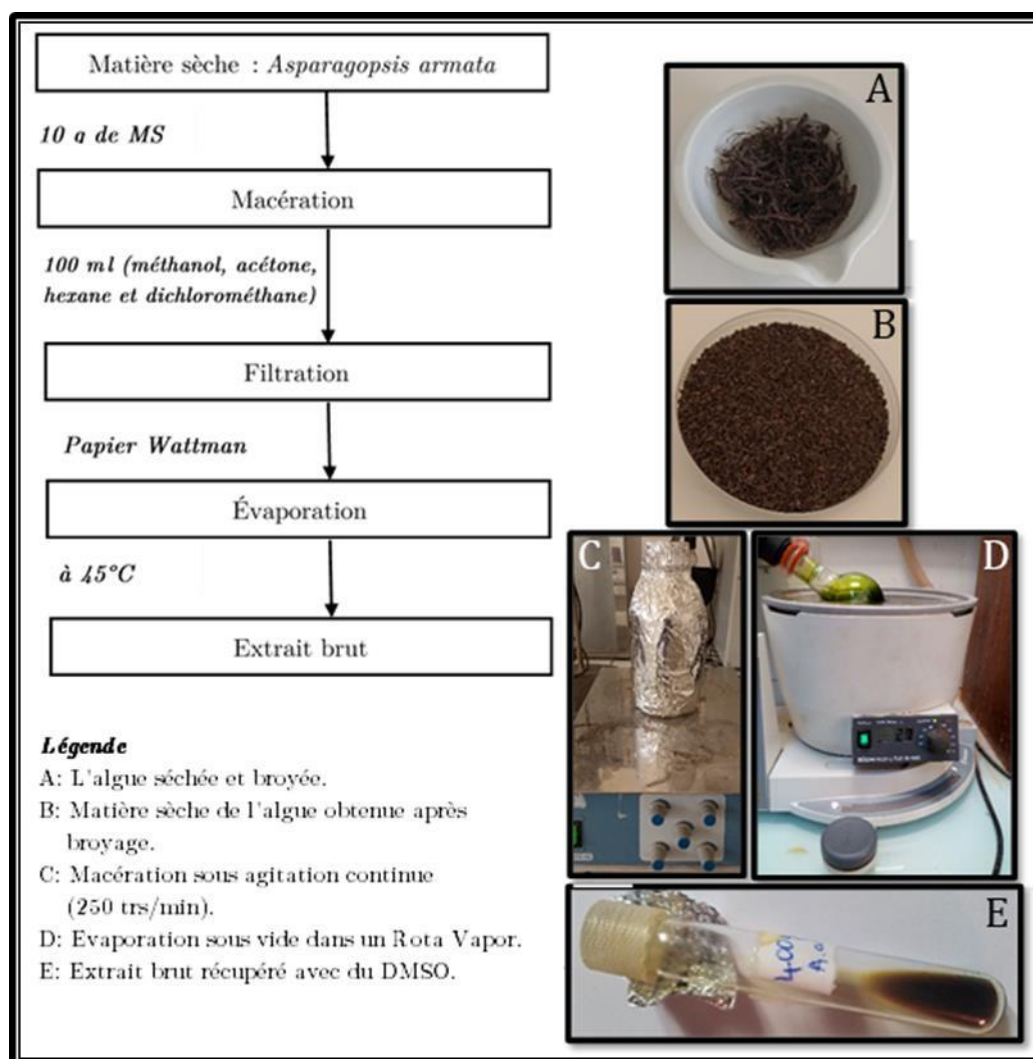


Figure 12 : Le protocole d'extraction

1-3 : Évaluation de l'activité anticandidosique :

L'activité anticandidosique de l'extrait dichlorométhane a été évaluée en utilisant deux souches de référence, *C. albicans* (CIP 444) et *C. albicans* (ATCC 10231).

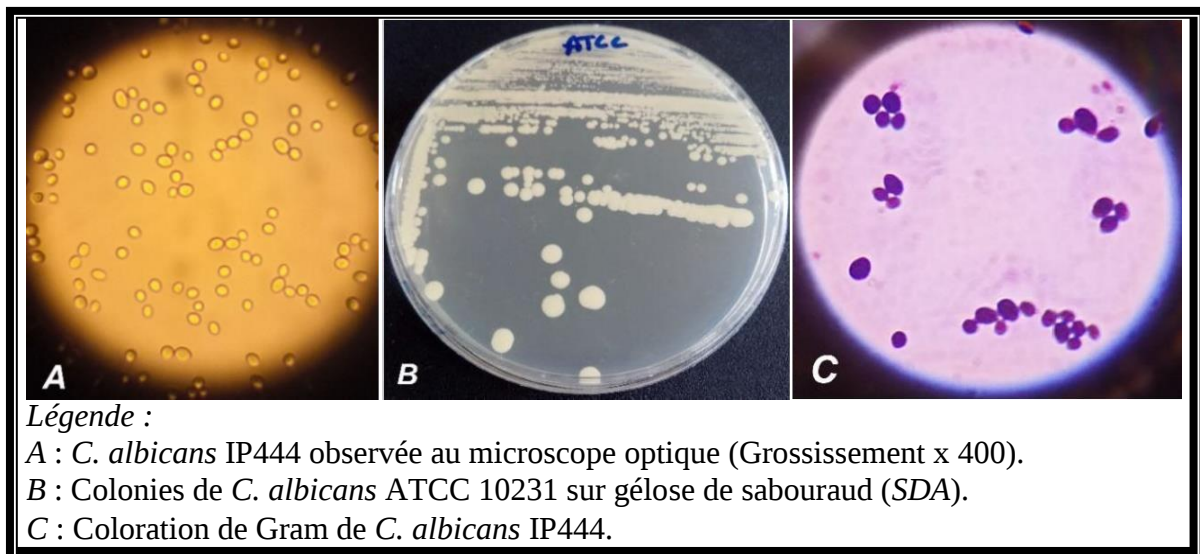


Figure 13 : Photographies de *C. albicans*.

Les souches ont été revivifiées et conservées sur gélose de Sabouraud (SDA) à 4°C jusqu'aux prochaines étapes.

2: Méthode :

2-1 : Préparation des inocula de *C. albicans* :

L'inoculum de levure est préparé à partir d'une culture pure de 24 heures sur gélose de sabouraud (SDA) incubée à 37°C. Des colonies bien isolées ont été prélevées puis mises en suspension dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile à (0.9 % NaCl). La concentration microbienne des inocula ainsi préparés est ajustée sur un spectrophotomètre (JENWAY 6405 UV/Vis. Spectrophotomètre) afin d'atteindre une densité optique (DO = 0.1) équivalente à (10^6 - 10^8 UFC/ml) à une longueur d'onde (λ = 620nm).

2-2 : Détermination de l'activité anticandidosique par la technique de diffusion en milieu gélosé :

L'activité inhibitrice de l'extrait DCM d'*A. armata* obtenus est testée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle qu'acceptée par *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS 2000), afin de pouvoir identifier l'extrait le plus actif et le meilleur solvant qui donne d'importants rendements de récupération de composés bioactifs de l'algue.

Pour cela, différentes concentrations des extraits (méthanolique, acétonique, hexanique et dichlorométhanique) sont préparées et testées pour leur pouvoir anticandidosique.

2-3 : Principe de la technique :

Cette méthode suit pratiquement le même principe de l'antibiogramme standardisée par *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS 2000). Elle peut prévoir avec certitude l'efficacité *in vivo* du produit en question. Elle est basée sur la diffusion des substances à tester qui sont imprégnées dans des puits ou dans des disques sur un milieu solide ensemencé avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre ces substances et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition.

2-4 : Mode opératoire :

La sensibilité des microorganismes d'essai est contrôlée en utilisant la nystatine comme antifongique de référence. Différentes concentrations de la nystatine et des extraits de l'algue ont été préparées en utilisant le Diméthylsulfoxyde (DMSO) comme solvant de dilution. Les tests *in vitro* de l'activité anticandidosique des extraits et de la nystatine ont été effectués par la méthode standardisée de diffusion sur disques et en puits.

Des disques stériles de papier Wattman N°1 de 6 mm de diamètre sont individuellement imprégnés avec 10 µL de différentes concentrations des quatre extraits de l'algue et de la nystatine, puis placés sur milieu gélosé de sabouraud préalablement inoculé avec les suspensions de *C. albicans* ($DO_{620nm} = 0.1$). Un des disques est imprégné uniquement de DMSO (99,99%), servant ainsi de témoin négatif. Après 20 minutes de diffusion, les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 48h. En outre, des puits de 6 mm de diamètre sont découpés à l'aide de pipettes Pasteur stériles dans des boîtes pré-coulées avec le milieu gélosé de sabouraud et ensemencées avec les suspensions de *C. albicans* ($DO_{620nm} = 0.1$). 40 µL de différentes concentrations d'extrait ou de nystatine sont transférées dans chaque puits. Encore une fois, le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif. Les boîtes ainsi préparées sont incubées pendant 48 h à 37 °C.

➤ Lecture des résultats :

Le diamètre de la zone d'inhibition pour chaque disque et puits est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse. L'activité anticandidosique est considérée comme positive à partir d'un diamètre supérieur à 6 mm et elle est classée en : activité moins active, si le diamètre de la zone d'inhibition est <10 mm, moyennement actif, si le diamètre est <15 mm et très active, si le diamètre est >15 mm). Les expériences ont été réalisées en double et les données ont été exprimées en millimètre comme valeurs moyennes $\pm$ Écart-type.

2-5 : Détermination de la CMI :

La concentration minimale de l'extrait de dichlorométhane et de la nystatine qui inhibe toute croissance visible de la levure *C. albicans* (CMI) est déterminée par la méthode de microdilution en milieu liquide de sabouraud (NCCLS). Des suspensions ont été préparées sur bouillon de sabouraud (Condalab, Madrid, Espagne) additionné de 1% de Tween 80 à partir de cultures de 24 heures et ajustées à 10^5 UFC/ml. Des microplaques à 96 puits (Corning Incorporated Costar®, USA) sont inoculées avec 150 μ L de chaque culture en suspension à des concentrations allant de $8,55 \times 10^{-6}$ à 37,5 mg/ml. Pour avoir des informations plus approfondies sur la CMI de l'algue étudiée, Des puits de contrôle négatif sont aussi inoculés avec du DMSO au lieu de l'extrait de dichlorométhane et les plaques de microdilution sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h. La lecture des résultats est faite par une évaluation visuelle de la turbidité des différents puits de la microplaque par comparaison avec les puits témoin. La CMI correspond à la plus faible concentration de l'agent antimicrobien qui inhibe toute croissance visible du microorganisme, c'est-à-dire qu'aucun trouble n'est visible dans le puits correspondant à cette valeur.

Lecture des résultats :

La turbidité est mesurée comme l'absorbance à 620 nm, avec une agitation de 20 s avant chaque mesure de DO. Les tests ont été répétés trois fois.



Résultats et discussion

1 : Rendement d'extraction :

L'extraction est l'une des étapes les plus importantes dans la caractérisation des principes actifs à partir de la matière végétale notamment dans le cas des métabolites secondaires grâce à leurs activités biologiques dont les activités antimicrobiennes. **(KHERRAF, A., 2018).**

La valeur issue du calcul du rendement d'extraction avec le dichlorométhane comme solvant d'extraction est faible (2,2 %). Il a été démontré dans plusieurs études antérieures, que le rendement des extractions chimiques dépend de la nature et de la polarité du solvant utilisé **(López, A. et al., 2011; El-Hossary et al., 2017)**. Ainsi, le dichlorométhane extrait les composés peu polaires. Les travaux réalisés par **(Vazquez et al 2008; Mussatto et al., 2011)** montrent que le rendement d'extraction augmente de manière significative avec l'utilisation de l'éthanol ou du méthanol aqueux par rapport à des extractions aux solvants organiques purs. Le rendement d'extraction est influencé par d'autres facteurs tels que la durée et la température d'extraction, aussi de la composition chimique de l'algue qui, à son tour, est intimement liée à l'espèce d'algue étudiée, à son stade de développement, aux facteurs environnementaux et à la localisation géographique des algues ainsi qu'aux conditions saisonnières. **(Horincar, V. et al., 2011).**

Nos résultats sont en accord avec ceux de **(Machado et al., 2016)**. Qui ont montré que le dichlorométhane et l'hexane ont les rendements d'extraction les plus faibles (1,9 %) et (0,5 %) respectivement par rapport à l'eau (24,9 %) et au méthanol (10,2 %).

2 : Activité anticandidosique de l'extrait DCM:

L'extrait DCM de l'algue marine *A. armata* a été testé *in vitro* afin d'évaluer son activité antifongique vis-à-vis de deux souches de *C. albicans* typiquement, *C. albicans* ATCC 10231 et *C. albicans* IP444. L'activité est estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques et des puits contenant l'extrait algal. La diffusion en milieu gélosé est la technique de référence pour étudier la capacité d'un extrait à inhiber la croissance microbienne **(Balouiri, M. et al., 2016)**. Nos résultats révèlent que le plus haut niveau d'activité antifongique marqué contre les deux souches de *C. albicans* IP444 et ATCC 10231 a été enregistré par l'extrait dichlorométhanique. Comme le montre l'inhibition de la croissance fongique dépend de la concentration massique des différents extraits, comme déterminé par les techniques de diffusion en puits et de diffusion sur disque

pour l'extrait dichlorométhanique. Tout d'abord, en plus de la méthode de diffusion en puits, la méthode de diffusion sur disque donne des preuves solides de la présence de composés bioactifs dans les algues et c'est ainsi que leur activité anticandidosique est déterminée. Les résultats obtenus montrent que de grandes zones d'inhibition allant de 44,11 à 55 mm (19,29 à 23,50 mm) (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) ont été obtenues avec des concentrations allant de 6 mg/puits à 12 mg/puits (1,5 mg/disque à 3 mg/disque) de l'extrait dichlorométhanique sur *C. albicans* ATCC 10231 déterminées par la méthode de diffusion en puits (méthode de diffusion sur disque). D'autre part, le pouvoir inhibiteur le plus élevé a été montré par l'extrait dichlorométhanique sur *C. albicans* IP444 avec une inhibition totale à 1,2 mg/puits déterminé par la méthode de diffusion en puits (Tableau01).

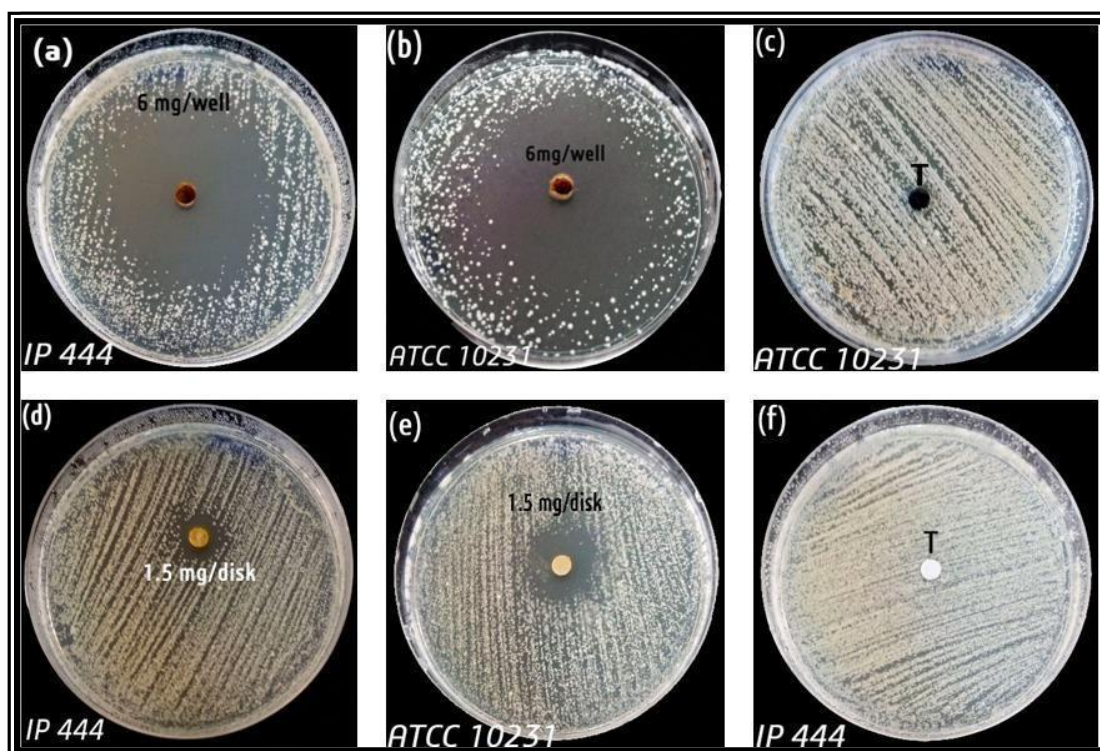


Figure 14: Résultats de l'activité antifongique de l'extrait DCM d'*A. armata* sur *C. albicans* obtenus par (a, b et c) méthode de diffusion en puits et (d, e et f) méthode de diffusion sur disques (T : témoin (DMSO)).

Les données des tableaux nous permettent aussi de constater que la plus faible inhibition de l'extrait de dichlorométhane de l'algue marine rouge *A. armata* a été enregistrée à la concentration de 0,135 mg/disque sur *C. albicans* IP 444 (Tableaux 01). Aussi, toutes les concentrations de la nystatine ont montré une activité contre les souches fongiques avec des zones d'inhibition allant de 13,2 à 31,5 mm pour *C. albicans* ATCC 10231 et de 15 à 37,3 mm

pour *C. albicans* IP 444. Par contre, l'effet d'inhibition de la croissance des deux souches de *C. albicans* n'a été observé dans aucun des échantillons de DMSO analysés.

(Selon Salvador et al.(2007).

, l'extrait méthanolique (à 200 mg/puits) d'*A. armata* Harvey collectée sur la côte ibérique a montré une zone d'inhibition de 53,2 mm contre la levure *C. albicans* ATCC 48867. En s'appuyant sur un large éventail de 82 espèces d'algues rouges, brunes et vertes, les auteurs ont pu démontrer que les espèces d'algues marines rouges y compris *A. armata* avaient à la fois les valeurs les plus élevées et le plus large spectre de bioactivité. Dans leurs expériences destinées à étudier le potentiel antimicrobien et la saisonnalité de 15 espèces d'algues marines rouges collectées sur la côte sud-ouest de l'Inde, **(Manilal et al. ,2009)** ont décrit l'activité anticandidosique des extraits méthanoliques de l'algue marine rouge *A. taxiformis*. Trois espèces de *Candida* ont été étudiées, dont *C. albicans* qui a montré des zones d'inhibition allant de 14 à 25 mm. Une autre étude menée par **(Saidani et al.2012)** a montré que l'extrait méthanolique brut (12,48 mg/ml) de l'algue marine rouge *Rhodomela confervoides* de la côte est de l'Algérie (Bejaia) avait un effet inhibiteur significatif (zone d'inhibition de 24 mm) contre *C. albicans*. Il semble que l'activité anticandidosique des extraits méthanoliques des espèces d'algues marines rouges susmentionnées est de loin moins importantes que celle de l'extrait dichlorométhanique d'*A. armata* de la présente étude. Des résultats similaires ont été reportés par **(Bansemir et al.2006)** dans une étude qui porte sur l'activité antimicrobienne de plusieurs extraits (dichlorométhanique, méthanolique et aqueux) d'algues marines parmi lesquels 19 algues rouges dont *A. armata*. Typiquement, des zones d'inhibition significatives ont été observées uniquement pour les extraits de dichlorométhane contre cinq souches de bactéries pathogènes de poissons, *Vibrio anguillarum*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophiles*, *Yersinia ruckeri*. De plus, les auteurs dans cette étude montrent que le stade gamétophyte "*A. armata* Harvey" possède un pouvoir inhibiteur plus prononcé par rapport au stade tétrasporophyte "*Falkenbergia rufolanosa*" de l'algue. Par conséquent, nos résultats sont prometteurs et doivent être validés avec un échantillon plus large. Néanmoins, il convient de faire preuve de prudence à l'égard de ces résultats, car il existe trop de facteurs qui peuvent expliquer les résultats des différentes études, tels que le stade de croissance active, la maturité sexuelle des algues étudiées, les facteurs écologiques (nutriments et irradiance), les variations saisonnières et protocoles d'extraction. Des études antérieures **(Martí, R. et al. , 2004)** sur les activités biologiques des

algues marines montrent la présence de variations dans la production des composés bioactifs . En effet,(**Padmakumar, K. and K et Ayyakkannu., 1997 ; Tüney, İ. Et al ., 2006**).

Chaque taxon possède sa propre production saisonnière en composés antimicrobiens dont la teneur varie en fonction de la période de croissance du thalle, le stade de reproduction ainsi que la localisation géographique (**Genovese, G. et al ., 2012**).D'autre part, nos résultats révèlent que les zones d'inhibition les plus importantes n'ont été observées que pour l'extrait dichlorométhanique de l'algue ce qui nous laisse suggérer que les composés responsables de l'activité anti-*C. albicans* sont lipophiles et qu'ils pourraient être en partie des composés organiques halogénés. En effet, les terpénoïdes contenant des halogènes, les acétylènes et les phénols ont été identifiés dans plusieurs espèces d'algues comme des composés biologiquement actifs (**Vairappan, C.S. et al .,2001**). Aussi, des composés chimiques très puissants ayant diverses activités biologiques ont été isolés des algues marines en particulier des algues marines rouges dont les Co (**Finical, W., 1982**) imposés halogénés intracellulaires. (**McConnell et al , . 1977**) leur étude intitulée "*Halogen chemistry of the red alga Asparagopsis*" ont décrit une série de petits composés halogénés volatiles moléculaires aux propriétés thérapeutiques (halométhane, haloéther, haloacétales) dans le genre *Asparagopsis* et qui seraient selon les auteurs à l'origine de leur activité antimicrobienne. En effet, la famille des Bonnemaisoniaceae à laquelle appartient l'espèce *A. armata* forme des cellules spécialisées appelées "vésicules" ou "cellules glandulaires" qui renf Paul, N.A., R. de Nys, and (**P. Steinberg,et al ., 2006**). erment de fortes quantités de composés halogénés notamment bromés et iodés. De plus, l'arôme piquant d'*A. armata* est attribué à sa teneur élevée en composés halogénés lipophiles tels que le bromoforme, le bromoéthane, les halométhanes et, dans une certaine mesure, d'autres petites molécules comme le chlore, les acétaldéhydes, l'acétone, les époxypropanes, les acroléines et les buténones (**Paul, N.A.et al ., 2006 ; McConnell, O.1977**). Parmi ces produits chimiques, le bromoforme qui exprime une activité antiméthanogène puissante, a été signalé comme responsable de l'activité des extraits dichlorométhaniques d'*A.armata* (**Machado, L. et al .,2016**).

La toxicité des composés halogénés est attribuée à leur pouvoir en tant qu'agents alkylants En fait, les agents alkylants tels que les halogénoacétones produits par *A. armata* sont des inhibiteurs enzymatiques capables de réticuler la sérine et les résidus d'histidine dans diverses protéines (**Silva, C.O., et al., 2021**). Outre les composés halogénés, plusieurs études ont rapporté les propriétés antimicrobiennes des acides gras produits par les algues marines (**Bansemir, A. 2004 ; Silva, A., 2020**).

Tableau 01 :Activité antifongique (technique de diffusion en puits) de l'extrait dichlorométhanique, classée selon le diamètre de la zone d'inhibition autour du point d'application de l'extrait d'*A. armata*. La moyenne des zones d'inhibition de la levure *C. albicans* est exprimée en millimètre.

Concentration en masse (mg/ puits)		Diamètre des zones d'inhibition (mm)	
		<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. albicans</i> IP 444
Extrait	12.0	55.00 ± 0.50	IT ^a
dichlorométhanique	6.00	44.11 ± 1.07	45.75 ± 0.37
	1.80	9.73 ± 0.57	20.13 ± 0.70
	0.54	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00
	0.16	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00

IT^a : Inhibition Totale

Tableau 02 :Activité antifongique (technique de diffusion sur disques) de l'extrait dichlorométhanique, classée selon le diamètre de la zone d'inhibition autour du point d'application de l'extrait d'*A. armata*. La moyenne des zones d'inhibition de la levure *C. albicans* est exprimée en millimètre.

Concentration en masse (mg/ disque)		Diamètre des zones d'inhibition (mm)	
		<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. albicans</i> IP 444
Extrait	3.00	23.50 ± 0.74	20.0 ± 0.61
dichlorométhanique	1.50	19.29 ± 0.92	12.52 ± 0.25
	0.45	10.27 ± 0.72	10.52 ± 0.07
	1.35 × 10 ⁻¹	7.06 ± 0.09	6.61 ± 0.14
	4.00 × 10 ⁻²	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00

3) Concentration minimale inhibitrice

Les valeurs de la CMI ont été déterminées dans une large gamme de concentrations allant de 8.55 x 10⁻⁶ à 37.5 mg/ml pour l'extrait dichlorométhanique d'*A. armata* et de 2.03 x 10⁻⁵ à 6.25 mg/ml pour la nystatine. La CMI a été effectuée par la méthode de microdilution en milieu liquide de sabouraud contre deux souches de *C. albicans*. Les résultats obtenus pour l'extrait dichlorométhanique et pour la nystatine sont représentés dans la figure et le tableau ci-dessous.

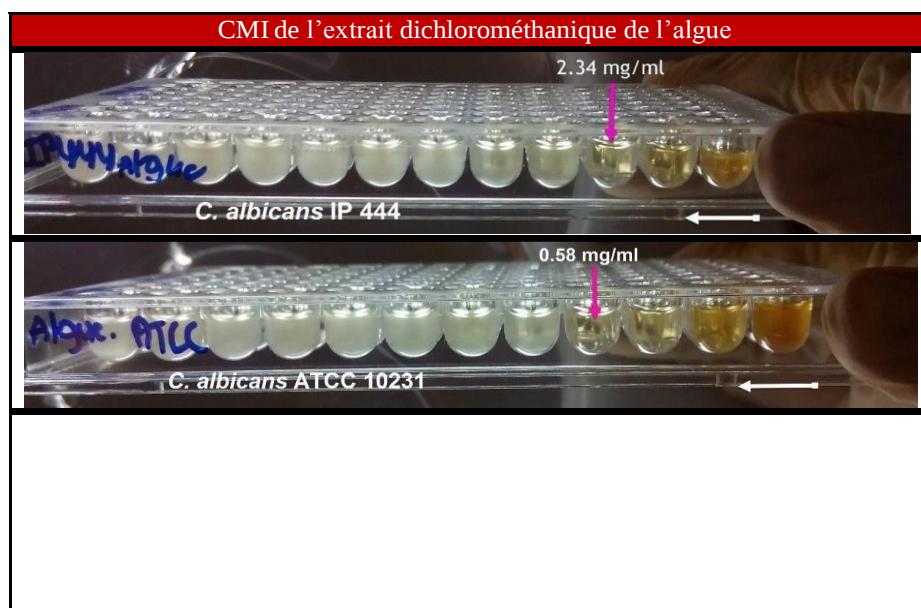


Figure 15 : Photographie des microplaques illustrant les CMI de l'extrait de l'algue vis-à-vis de *C. albicans* IP 444 et *C. albicans* ATCC 10231.

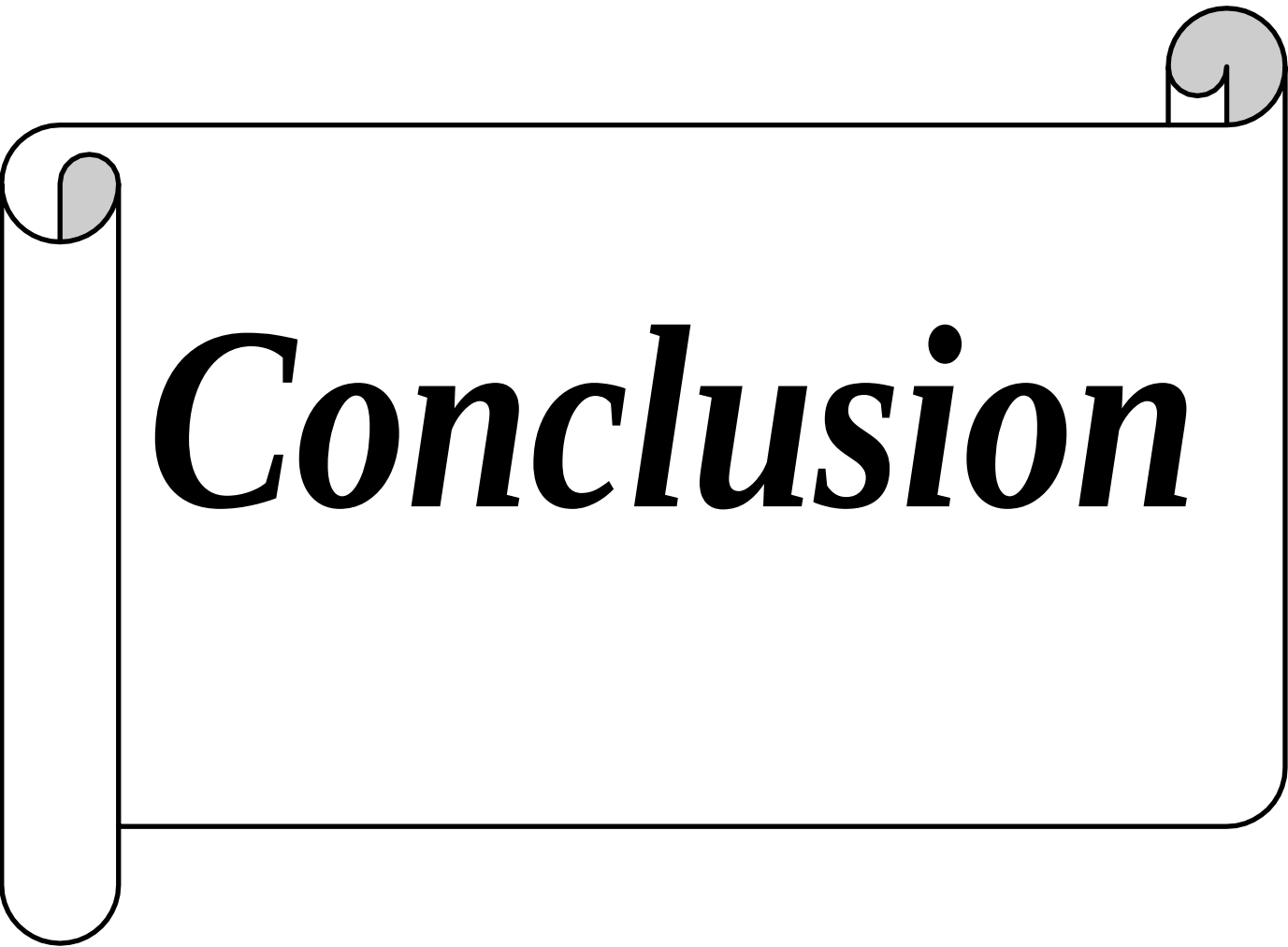
Les données montrent clairement que l'extrait dichlorométhanique inhibe toute croissance visible de *C. albicans* ATCC 10231 à la concentration de 0.58 mg/ml, tandis qu'il inhibe la croissance de *C. albicans* IP 444 à la concentration de 2.34 mg/ml. Ces résultats indiquent un niveau de sensibilité à l'extrait d'algue pour les deux souches fongiques. En effet, les extraits bruts sont des mélanges complexes de nombreux composés et leur part active peut être très faible, ainsi qu'il y aurait des composés inhibiteurs qui pourraient masquer les composés actifs de l'extrait (la réactivité de

composants des extraits avec ceux du milieu de culture) et par conséquent, des investigations complémentaires devraient se concentrer sur les tentatives de fractionnement de l'extrait et de la purification des composés actifs afin d'élucider leur structure chimique et d'optimiser leurs effets ainsi que leurs spectres d'activités. **(Belattmania, Z et al , .2012)**

. D'un autre côté, la précipitation des composés bioactifs dans le fond des puits de la microplaque pourrait être à l'origine de la réduction du contact entre les molécules d'intérêt et les microorganismes ce qui peut entraîner des résultats faussement négatifs. **(Cushnie, T.T. et al, 2003.).**

Nos résultats montrent aussi que l'extrait d'algue a tendance à être plus efficace sur *C. albicans* ATCC 10231 avec une concentration plus au moins faible de l'extrait (0.58 mg/ml) que sur *C. albicans* IP 444 dont la croissance est inhibée à la concentration de 2.34 mg/ml de l'extrait dichlorométhanique de l'algue. Ceci démontre que *C. albicans* ATCC 10231 est légèrement plus sensible à l'extrait dichlorométhanique d'*A. armata* que *C. albicans* IP 444.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration de l'extrait brut d'*A. armata* qui inhibe toute croissance visible à l'œil nu de la levure *C. albicans* après 24h d'incubation en milieu liquide de sabouraud. **(Ganière, J.-P. et al ,. 2004).**



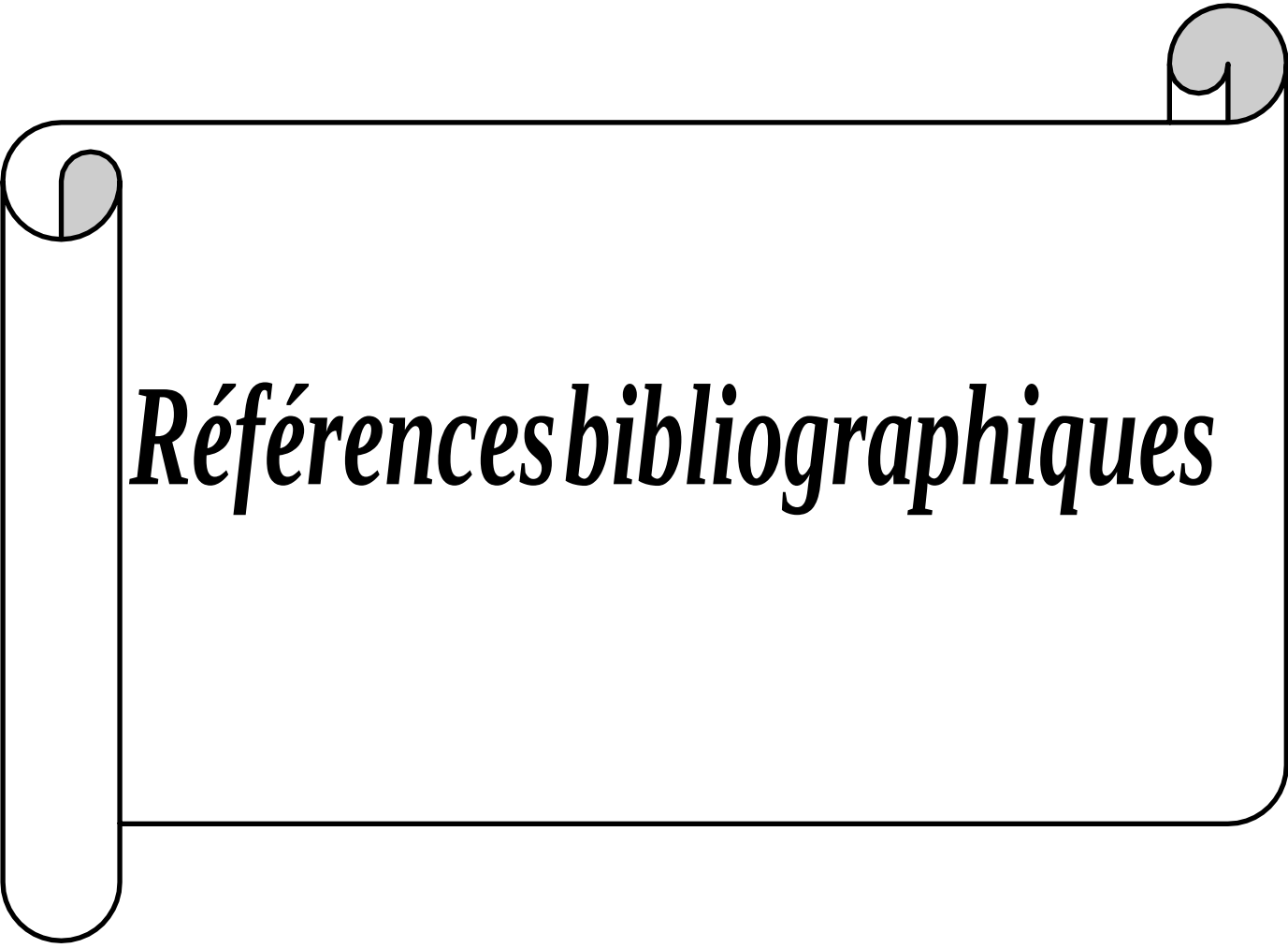
Conclusion

Conclusion

Asparagopsis armata est une algue marine rouge invasive introduite dans le bassin méditerranéen il y a de nombreuses années, provoquant des déséquilibres dans la biodiversité des écosystèmes marins. Cette algue est source potentielle de métabolites bioactifs inexplorés et présentent un profil nutritionnel riche en protéines, acides aminés essentiels, lipides, glucides et minéraux et constitue des produits nutraceutiques ayant des applications pharmacologiques, agricoles ou autres. L'objectif principal du présent travail est d'étudier l'activité anticandidosique de l'algue marine rouge *A. armata* Harvey, récoltée sur la côte de Salamandre à Mostaganem en utilisant le dichlorométhane comme solvant d'extraction.. L'activité anticandidosique a été exprimée en diamètre des zones d'inhibition formées autour des puits ou des disques en appliquant la méthode de diffusion en milieu gélosé sur deux souches de *C. albicans* en l'occurrence *C. albicans* IP 444 et *C. albicans* ATCC 10231. L'activité antifongique contre les deux souches de *C. albicans* est plus ou moins importante.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait dichlorométhanique déterminée par la méthode de micro dilution a montré que *C. albicans* IP444 (CMI = 0,58 mg/ml) est plus sensible à l'extrait de dichlorométhane de l'algue qu'à *C. albicans* ATCC 10231 (CMI = 2,34 mg/ml).

Cette étude a fait du chemin vers l'exploitation et la valorisation de la biomasse de cette algue envahissante des côtes algériennes. Pour compléter cette étude il est envisageable de réaliser une analyse chromatographique et spectroscopique de l'extrait algal pour identifier les molécules responsables de l'activité antifongique.



Références bibliographiques

A

- Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). Candidose.(2014).
- Ainane ,T . (2011). Valorisation de la biomasse algue du Maroc : Potentialités pharmacologique et applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Thèse de Doctorat en chimie, Université Hassan II – Casablanca. Maroc.

B

- Berrahou Imane ,Effe inhibiteur de quelques huiles essentielles sur *Candida albicans*, 2016, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie et Sciences de la Terre et de L'univers TLEMCEM.
- Boudouresque, C.F.(2010).Structure et fonctionnement des écosystèmes benthiques marins.Master d'Océanographie.Perturbations,50 pages.
- Bonnetblanc J.M.(2012) .Infections cutanéomuqueuses bactériennes et mycosiques : *Candida albicans* , Annales de dermatologie et de vénéréologie , 139, A 40 –A46, 7pages.
- Born,F.(2013).Les candidoses buccales : revue de littérature . Thèse de doctorat : no.Méd.dent .714 ; [http://archive – ouverte.unige .ch/unige : 27981](http://archive-ouverte.unige.ch/unige:27981). Université Genève , 143 pages.
- Balouiri, M., M. Sadiki, and S.K. Ibensouda (2016), Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of pharmaceutical analysis. 6(2): p. 71-79.

C

- Cabioch J., Floch -Y., Le Toquin A., Boudouresque C.-F., Meinesz A., Verlaque M., (2006), GUIDE DES ALGUES DES MERS D'EUROPE ,MANCHE ,ATLANTIQUE , MEDITERRANEE ,les guides du naturaliste, ed. Delachaux & Niestle.

Cole G .T SeshanK R .Phaneuf M and Lynn, K T(1991).

- Chlamydospore-like cells of candida albicans in the gastrointestinal tract of infected ,immunocompromised mice . Can J Microbiol .37 :637-646.
- Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D, Caldwell D, Korber D, James G . (1994).Biofilms, the customized microniche .J Bacteriol. ;176 :2137-2142.
- 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.
- Chavanet,P.(1997). Amphotéricine B déoxycholat (Fungizone): vieux médicament , nouvelles versions . Rev Med Interne . 18 : 153- 165
- Cho, M., H.-S. Lee, I.-J. Kang, M.-H. Won, and S. You,(2011) Antioxidant properties of extract and fractions from Enteromorpha prolifera, a type of green seaweed. Food Chemistry, . 127(3): p. 999-1006.

D

- Damiens,S. (2012). Les médiateurs de l'immunité anti-Candida : outils d'analyse physiopathologique et intérêt diagnostique . Université de Lille 2 ,120 pages .
- Develoux M., Bretagne S.(2005) . Candidoses et levures . EMC Maladies Infectieuses 2 :199 -139.
- Dupont B .(1985). L'écobiologie des Candida . Laboratoire Squibb. El bouri Rachid.Etude de l'effet fongitoxique de 37 extraits de plantes aromatiques et médicinales sur différentes espèces de Candida en milieu liquide ,2014 ,faculté de médecine et de pharmacie- RABAT .

Références

- Dijoux ,L.(2014). La diversité des algues rouges du genre *Asparagopsis* en Nouvelle Calédonie :Approche in situ et moléculaire , thèse doctorat de biologie marine , université pierre et marie curie ,228 pages .

E

- Eric , O.(2004). Réseau Benthique Région Bretagne ,Cartographie de la répartition verticale des ceintures algues , 8 pages.
- El-Hossary, E.M., C. Cheng, M.M. Hamed, et al., (2017) Antifungal potential of marine natural products. *European journal of medicinal chemistry*,. 126: p. 631-651.

F

- Feldman , J ; (Edirons) .(1939) . *Computers and thought* . McGraw-Hill Inc ., New York.

G

- Garon –Lardiere ,S .(2004 . Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales) .Thèse de Doctorat Spécialité : Chimie . Université de Bretagne Occidentale.
- Genovese, G., C. Faggio, C. Gugliandolo, et al., (2012) In vitro evaluation of antibacterial activity of *Asparagopsis taxiformis* from the Straits of Messina against pathogens relevant in aquaculture. *Marine environmental research*,. 73: p. 1-6.
- Guillot J. (1999) . Diagnostic biologique des mycoses animales. *Rev Fr Lab* . 310 : 57 -64
- Guignard,J.L .,Bouchet ,P.,Madulo ,G., Regli ,P(1989). *Mycologie générale et médicale*. Abrégé Masson .,107-120 ,108-109.

H

- Harvey, W. H. H.(1854). Some Account of the Marine Botany of the Colony of Western Australia . The Transactions of the Royal Irish Academy .Royal Irish Academy, Vol. 22 .pp . 525p 566 .
- Harvey ,W ,H .(1855) . Some account of colony of western Australia . Transactions of the Royal Irish Academy.
- Hochedez P ., Datry A ., Caumes E (2007) .Mycoses superficielles EMC pp : 4-1380 .
- Horincar, V.-B., G. Parfene, and G. Bahrim, (2011). Evaluation of bioactive compounds in extracts obtained from three Romanian marine algae species. Romanian Biotechnological Letters. 16(6): p. 71-78.

K

- Kabha Kisra ,Liat Nissimov Abed Athman Yona Keisari , Haralambos Parolis , Leseley A. S .Parolis ,ru th m grue,jutta schlepper – schafer ,alan R .B. ezeowitz Dennis E. Ohman, and ltzhak Ofek (1995). Relationships among Capslar Structure, Phagocytosis , and Mouse Virulence in Klebbsiella pneumonia,INFECTION AND IMMUNITY.p.847-852 Vol .63.
- KHERRAF, A., (2018) . Caractérisation physicochimique et évaluation du potentiel antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire de la microalgue Nannochloropsis gaditana..
- Kumamoto, CA and Owais M .(2006) Toxicity stability and pharmacokinetics of amphotiricin B in immunomodulator tuftsin –bearing liposomes in a murine model .J Antimicrob Chemother .58 :125-132.

L

- Lagane , C. (2007). Role de l'in-13 et des ligands de PPAR-y dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des

- monocytes humains vis-à-vis de *Candida albicans*. Implication de PPAR- γ . Université Toulouse -Paul Sabatier .151pages.
- Lingappa,B T Prasad,M.,Lingappa,Y.,Hunt,D. F . and Biomann, K .(1969).Phenethyl Alcohol and Tryptophol :Autoantibiotics Produced by the Fungus *Candida albicans*.Science, 162,192-194.
 - Lopes G ,Pinto E,Andrad PB,Valentao P. (2016) Antifungal activity of phlorotannins against dermatophytes and yeasts :approaches to the mechanism of action and influence on *Candida albicans* virulence factors.PLoS One.Aug 12 ;8 e72203.
 - * Lcoste, A. M., D . Linas S Cassaing J. Bernad S .Chalmeeton J .P Seguela and B Pipy (2002) .A, sub –inhibitory concentration of amphotericin B enhances candidastatic activity of interferon-gamma and interleukin -13-treated murine peritoneal macrophages. The journal of antimicrobial chemotherapy 49 :731-740.
 - *Lecointre,G ,H , Guyader,.,Guyader ,. Belin .(2001). Classification phylogénétique des algues
- « Classification phylogénétique du vivant » .
- López, A., M. Rico, A. Rivero, and M.S. de Tangil, (2011). The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. Food Chemistry. 125(3): p. 1104-1109.

M

- Marc P., Agnes M (2013) Diagnostic biologique des candidoses .Revue Francophone Des Laboratoires No 450.
- Machado, L., M. Magnusson, N.A. Paul, et al., (2016). Identification of bioactives from the red seaweed *Asparagopsis taxiformis* that promote antimethanogenic activity in vitro. Journal of Applied Phycology,. 28(5): p. 3117-3126.

- Manilal, A., S. Sujith, G.S. Kiran, et al. (2009), Antimicrobial potential and seasonality of red algae collected from the southwest coast of India tested against shrimp, human and phytopathogens. *Annals of Microbiology*. 59(2): p. 207-219.
- Machado, L., M. Magnusson, N.A. Paul, et al., (2016) Identification of bioactives from the red seaweed *Asparagopsis taxiformis* that promote antimethanogenic activity in vitro. *Journal of Applied Phycology*. 28(5): p. 3117-3126.
- Martí, R., M.J. Uriz, and X. Turon (2004), Seasonal and spatial variation of species toxicity in Mediterranean seaweed communities: correlation to biotic and abiotic factors. *Marine Ecology Progress Series*,. 282: p. 73-85.
- Mussatto, S.I., L.F. Ballesteros, S. Martins, and J.A. Teixeira, (2011). Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*,. 83: p. 173-179
- Mitchell AP. (1995). Dimorphism and virulence in *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol* .1 :687-92.
- Mesnildrey, L., Jacob, C., Frangouides, K., Reunavot, M., Lesueur, M. (2012) La filière des macro-algues en France, Rapport d'étude, NETALGAE, 44 pages.
- Merghache D., Boucherit-Atmani Z., Boucherit K. (2012). évaluation de l'activité antifongique de différents extraits de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*) *Phytothérapie*. 1-7
- McConnell, O. and W. Fenical (1977), Halogen chemistry of the red alga *Asparagopsis*. *Phytochemistry*, . 16(3): p. 367-374.
- Machado, L., M. Magnusson, N.A. Paul, et al. (2016), Identification of bioactives from the red seaweed *Asparagopsis taxiformis* that promote antimethanogenic activity in vitro. *Journal of Applied Phycology*. 28(5): p. 3117-3126.

N

- Nabors,M .(2009). Biologie végétale stucture , fonctionnement et biotechnologies .Nouveau nabors .Naegeleé E. et Naeglé A. 1967. Les algues et Presses universitaide de France. Paris.
- Natalie,S. (2011). Harpoon weed, *Asparagopsis armata* .3pages .

O

- Odds, F.C.(1979) .*Candida* and Candidosis, Leicester University Press ed ,London.
- Odds, F.C.(1985). Morphologenesi in *Candida albicans* . Crit Rev Microbiol 12 :45-93.

P

- Padmakumar, K. and K. (1997) .Ayyakkannu, Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from southern coasts of India.
- Paul, N.A., R. de Nys, and P. Steinberg(2006), Chemical defence against bacteria in the red alga *Asparagopsis armata*: linking structure with function. Marine Ecology Progress Series,. 306: p. 87-101.

R

- Raidi, H .(1998). Etude Nationale sur la Biodiversité Algues Marines . Faculté des sciences Tetouan 96 pages .
- Raoult,D.(1998).Dictionnaire de maladies infectieses : épidémiologie, diagnostic .2-84299-036-6.

S

- Sandrine ,K. Bedjou,F. Benabdesselam,F. and Touati,N. (2012). Antifungal activity of methanolic extracts of four Algerian marine algae species. African Journal of Biotechnology, 11 :9496-9500.

- Sandrine ,G. (2004) . Université De Bretagne Occidentale Ecole Doctorate Des sciences De La Matière , De L'information Et du Vivent Thèse Doctorat Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'alge rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales) ,332 pages.
- Saidani, K., F. Bedjou, F. Benabdesselam, and N. Touati,(2012) Antifungal activity of methanolic extracts of four Algerian marine algae species. *African journal of biotechnology*,. 11(39): p. 9496-9500.
- Salvador, N., A.G. Garreta, L. Lavelli, and M.A. Ribera,(2007) Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina*,. 71(1): p. 101-114.
- Senet , J. M., Robert R.(1995). *Physiopathologie des candidoses Jour Mycol Méd Vol 5* 145- 166.
- Staebell,m., Robert R.Soll(1985). Temporal and spatial differences in cell wall expansion during bud and mycelium formation in *Candida albicans* . *J Gen Microbiol* .131 :1467-80 .
- Senhaji, O., Faid,M., Elyachoui, M., Dehhaoui,M. (2005) . Etude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle , *Antifungal activity of different cinnamon extracts*, 10 pages.

T

- Tartora,G.J., Funke , B.R.,Case ,C .L(2001). *Intrudaction à la microbiologie* . Canada .944 pages . Padmakumar, K. and K. Ayyakkannu,.
- Tüney, İ., B.H. Cadirci, D. Ünal, and A. Sukatar(2002), Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turkish Journal of Biology* , 30(3): p. 171-175.

V

- Van don Hoek, C., Minn, DG., Jahns H.M.(1995).Algae : An introduction to phyocology : Cambridge University Press .
- Vallanet.C.V.(2005).Les mycoses génitales Vulvo-vaginal candidiasis,8 pages. Vázquez, G., E. Fontenla, J. Santos (2008) Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. Industrial crops and products . 28(3): p. 279-285.
- Vairappan, C.S., M. Daitoh, M. Suzuki, T. Abe, and M. Masuda,(2001) Antibacterial halogenated metabolites from the Malaysian *Laurencia* species. *Phytochemistry*,. 58(2): p. 291-297

Z

- Zitouni,H.(2015).Thèse Doctorat en Biotechnologies microbiennes,Génomes et Environnement, Université des Frères Mentouri Constantine ,Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,196 pages.
- Zidaa, A., Bambac S., A. Yacoubaa, R .,Ouedraogo-Traoreb R.T., Guiguemdé (2017). Ant-*Candida albicans* natural products , sources of new antifungal drugs .*Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology* , Volume 27 , Issue 1, March,19 pages