

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 appliqué

THEME

Effet de l'extrait de la spiruline *Arthrospira platensis*
produite *in-vitro* sur quelques souches causales de
l'onychomycose.

Présenté par :

DJERITALE Wafaa et DJOUBAR Nour El Imane

Devant le jury composé de :

Président : BENACEUR Farouk MCA UATL.

Examinatrice : BOUNOUALA Fatima Zohra MAB UATL.

Rapporteur : CHAIBI Rachid Pr UATL.

Co-rapporteur : REGUIEG Salima Associée UATL.

Année universitaire 2020/2021.

Dédicaces

Je dédie ce travail

Aux plus chères de ma vie « mes parents » qui sont la source de ma réussite, je souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices, leur amour, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes chères sœurs Khadidja , Samira, Bassma et ma chère Yamina allah yarhamha et leurs enfant. Qui m'encouragements toujours, et leur soutien moral.

A mes frères, Houari et Mohammed pour leurs appuis et l'encouragements.

A tout ma famille pour leur soutien tout long de mon parcours universitaire.

Tous ceux qui m'ont aidé pour l'obtention de ce diplôme. A toutes ces personnes et à celles que j'ai peut être oubliés, j'adresse mes sentiments les plus chaleureux.

DJERITALE Wafaa.

DEDICACES

Je dédie cet humble travail :

A mon père Djouber Aissa

L'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père que dieu te garde dans son vaste paradis

À ma très chère mère Guerbous Mebarka

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

À ma famille

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes
et*

Mes sœurs : khadidja et sa fille souad et son mari mohammed, à Hadjer et ses filles Ranim et Rahaf et son mari karim, à mes chères Aya ,Salsabil et mon seul frère Ibrahim el khalil.

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, en particulier Dr. Nazef Nassif et Hanane ,Kaouthar et Mariem qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon travail, et tous mes
amis.*

DJOUBER Nour EL imane.

Remerciements

A l'issue de ce travail, je remercie avant tout Allah tout puissant

de nous avoir donné la Volonté, le courage et la patience pour la réalisation de ce travail.

Nous tenant à remercier monsieur le président Dr. BENACEUR Farouk de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'être membre du jury.

Nous remercions également Mme. BOUNOUALA Fatima Zahra de l'intérêt qu'elle a porté à notre recherche en acceptant d'examiner ce travail et de l'enrichir par ses propositions.

Un merci bien particulier adressé à Notre encadreur le chef de département Pr. CHAIBI Rachid qui nous assistons à faire le choix de recherche pour ces critiques et suggestions son encouragement permanent.

Nos vifs remerciements à notre Co-encadreur Melle. REGUIEG Salima pour son aide précieuse et sa disponibilité régulière durant la réalisation de ce travail.

À tous nos proches qui nous ont toujours encouragées et à tous qui ont contribué de

près ou de loin dans ce mémoire.

Nour El Iman et Wafaa.

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Chapitre I : les onychomycoses

1. Définition des onychomycoses	3
1.1. Eléments de développement des onychomycoses.....	3
1.1.1. Eléments intrinsèques individuels	3
1.1.2. Présence des maladies sous-jacentes.....	3
1.1.3. Le déficit immunitaire.....	3
1.3.4. Autres atteintes mycosiques superficielle.....	4
1.2. Eléments extrinsèques.....	4
1.2.1 Eléments de l'environnementaux	4
1.3. Les agents pathogènes responsables de l'onychomycose.....	5
1.3.1. Dermatophytes.....	5
1.3.1.1. Les modes de contamination.....	6
1.3.2. Les levures	6
1.3.3. Les moisissures	7
1.4. Moyens thérapeutiques	8
1.4.1. Traitements systémiques.....	8
1.4.2. Traitements locaux.....	9
1.4.3. Thérapie alternative.....	10

Chapitre II: Généralités sur la spiruline

1. Les microalgues	11
2. Les cyanobactéries	11
3. La cyanobactérie spirulina <i>Arthrospira platensis</i>	12
3.1. Définition	12
3.2. Le terme de spiruline.....	13
3.2.1. Algue ou bactérie ?.....	13
3.2.2. Morphologie de la spiruline	14
3.3. Classification de la spiruline.....	15
3.4. Cycle biologique.....	15
3.5. Ecologie et habitat	16
3.6. La composition chimique de la spiruline	16
3.7. Les activités biologiques	18
3.7.1. Activité antibactérienne	18
3.7.2. L'activité antifongique	18
3.7.3. L'activité anti-oxydante.....	18
3.7.4. Activité antivirale	19
3.7.5Autres activités	19
. Anti-inflammatoire.....	19
. Anticancéreuse.....	19

4. La production de la spiruline	19
4.1. Le milieu de culture de Jourdan (2006).....	20
4.2. Les différents modes de production de spiruline	20
4.2.1. Production artisanale.....	20
4.2.2. Production semi-industrielle.....	21
4.2.3. Production industrielle.....	21
5. Utilisation et les bienfaits de la spiruline	21
5.1. Importance écologique de la spiruline.....	21
5.2. Importance économique de la spiruline.....	21
5.3. Importance médicinale	22

Chapitre III : Matériels et méthodes

1. Méthodologie du travail	23
2. Le Choix de souche spiruline	23
2.1. Préculture de la spiruline	23
2.2. Ensemencement	25
3. Préparation de l'extrait eau-éthanol de l'algue bleu <i>Arthrospira platensis</i>	25
3.1. La centrifugation.....	26
3.2. L'évaporation.....	26
3.3. Le Rendement Obtenue.....	27
4. Analyses biochimiques	27
4.1. Extraction des protéines	28
4.1.1. Le dosage des protéines	28
4.2. Extraction des lipides totaux.....	28
4.3. Extraction des sucres solubles	29
4.1.3. Dosage des sucres solubles.....	29
5. Prélèvement et isolement des souches fongiques.....	29
5.1. Isolement des souches fongiques.....	30
5.2. Identifications des isolats fongiques	30
5.2.1. Identification macroscopique	30
5.2.2. Identification microscopique	30
6. Activité antifongique de l'extrait éthanolique de la spiruline.....	31

Chapitre IV : Résultats et discussions

1. Résultats de la culture de la spiruline	32
1.1. Estimation de la biomasse produite	32
2. Calcul du rendement de l'extrait d' <i>Arthrospira platensis</i>	33
2.1. Résultats de l'analyse biochimique	33
3. Caractéristiques morphologiques et culturales des isolats fongiques	34
3.1. Identification macroscopique	34
3.2. Identification microscopique.....	35
4. Résultats de l'activité antifongique	36
5. Discussions	37
Conclusion et perspectives.....	40/41
Références bibliographiques.....	42
Annexe	49
Résumé	

Liste des figures

N°	Titres	Pages
01	Onychomycose à dermatophytes.	5
02	Onychomycose à <i>Candida</i> .	6
03	Onychomycose à moisissures.	7
04	Structure d'une cellule de cyanobactérie.	12
05	Différentes formes de la spiruline.	14
06	cycle biologique de la spiruline.	16
07	Préparation du milieu de culture de la spiruline.	25
08	(A) solution éthanol et poudre de la spiruline ; (B) la centrifugeuse ; (C) la solution dans la centrifugeuse.	26
09	Extraction des composés phénoliques par l'évaporation à Rotavapor.	27
10	Schéma du test de confrontation directe de l'extrait éthanolique de la spiruline.	31
11	Evolution de la couleur de la spiruline durant la culture.	32
12	Taux des protéines, lipides et glucides contenant dans l'extrait de la spiruline.	33
13	Histogramme de l'effet antifongique de l'extrait de la spiruline sur les trois souches pathogènes.	36
14	Préculture et ensemencement de la spiruline.	Annexe I
15	(A) Filtration ; (B) Obtention de la biomasse ; (C) Séchage ; (D) broyage.	Annexe II
16	Prélèvement mycologique unguéal.	Annexe III
17	Mise en culture des échantillons.	Annexe III

Liste des tableaux

N°	Titres	pages
01	Les traitements systémiques et leur effet.	8
02	Les Traitements locaux et leur effet.	9
03	les différentes confusions faites par rapport à l'emploi du terme spiruline.	13
04	La déference entre les algues et les bactéries.	13
05	Composition chimique d' <i>Arthrospira platensis</i> .	17
06	Les compositions chimiques d'un milieu de culture typique.	20
07	Milieu de culture et ceux de la stimulation de la spiruline	24
08	Composition chimique du milieu de culture de Jourdan.	24
09	Les résultats des mesures de la température et du pH durant la récolte de la biomasse	33
10	Rendement d'extraction de la spiruline.	33
11	Aspect macroscopique des souches fongiques obtenues.	34
12	Aspect microscopique de souches fongiques obtenues.	35

Liste des abréviations

% : pourcentage.

°C : Degré Celsius.

µg : microgramme.

µm : micromètre.

Ca : calcium.

CMV : cytomégalovirus humain.

g : gramme.

HSV : Herpès Simplex Virus.

Mg : magnésium.

mg : milligramme .

N° : numéro.

Na₂CO₃ : carbonate de sodium .

NaHCO₃ : bicarbonate de sodium.

O₂ : Oxygène dissous.

ONG : organisation non gouvernementale.

pH: le potentiel hydrogène.

SOD : super oxyde dismutase.

VIH : Virus l'immunodéficience humaine.

Les onychomycoses sont des pathologies contagieuses mal supportées. Elles sont devenues un des motifs les plus fréquents de consultation en dermatologie. De toutes les onychopathies, les onychomycoses représentent jusqu'à environ 50% des cas (**Baran, 2004**) et leur prévalence est de plus en plus croissante dans la population générale (**Richard, 2007**). Nommée encore onyxis, ce sont des mycoses atteignant jusqu'à 90% les ongles des pieds et au moins 50% ceux des mains (**Nzenze et al., 2011**).

Cette affection courante et cosmopolite, bien qu'elle ne mette pas la vie du malade en danger, elle altère sa qualité et entraîne une gêne d'ordre esthétique et psychologique. Elle est aussi considérée handicapante sur un plan professionnel et social. En effet, l'ongle atteint devient épais, friable et décoloré et peut même se décoller et favoriser des infections plus graves, surtout chez les sujets immunodéprimés ; une douleur locale et une irritation peuvent être associées, limitant la marche ou d'autres pratiques physiques (**Dref, 2014; Delmas et Brémond-Gignac, 2008**).

Les champignons sont les micro-organismes incriminés dans les onychomycoses ; et plus particulièrement les dermatophytes, vu leur grande affinité pour la kératine des phanères. Mais les levures et les moisissures sont aussi impliqués (**Boukachabine et Agoumi, 2005 ; Kashyap et al, 2008**). De nombreux facteurs peuvent favoriser cette affection, l'âge, l'hérédité, l'hyperhidrose et certaines pathologies sous-jacentes (**Lanouette, 2011**). La prévalence de cette maladie varie aussi en fonction du climat et des flux migratoires.

L'utilisation des composés bioactifs contenus dans une source aquatique telle que les microalgues. Ont un effet bénéfique sur la santé de l'homme, améliorant ainsi son bien-être. De nombreuses données scientifiques obtenues après d'importantes études épidémiologiques ont permis d'établir des liens entre ces composés bioactifs des microalgues et leurs effets protecteurs contre l'hypertension, les maladies cardiovasculaires, le cancer et d'autres problèmes de santé (**Abd El Baky et El-Baroty, 2013 ; Shalaby et Shanab, 2013 ; Chen et al., 2014 ; Gardeva et al., 2014**).

Aujourd'hui, la production mondiale de microalgues a atteint plus de 10 000 tonnes métriques par année. L'espèce *Arthrospira platensis*, ou **Spiruline** fait partie du phylum des Cyanobactéries ou algues « bleu-vert » la plus cultivée (50 % de la production mondiale) (**Vo et al., 2015**). L'Algérie est l'un des rares pays où la spiruline est cultivée de manière semi-industrielle à Tamanrasset et à Oran. Une autre ferme de culture de la spiruline d'une capacité de production théorique de deux tonnes/an est projetée dans la wilaya de Ghardaïa en 2017.

C'est dans le cadre de valorisation de la spiruline *Arthrospira platensis* et la recherche de nouvelles solutions alternatives de lutter contre l'onychomycose de façon biologique cette étude est optée pour quatre (4) volets :

- Production de la spiruline dans les conditions *in-vitro* au niveau de département de biologie-Université Amar Telidji-Laghouat et récupération de la biomasse obtenu.
- Analyse biochimique des protéines, lipides et glucides contenues dans la poudre de la spiruline produite.
- Isolement des champignons pathogènes responsable de l'onychomycose à partir des sujets infectés.
- Application de l'extrait éthanolique de la spiruline sur les souches pathogènes isolées et détermination de son activité antifongique.

Ce travail comporte quatre chapitres : le premier chapitre présente la maladie mycosique l'onychomycose, le deuxième chapitre porte des généralités sur la spiruline, le troisième chapitre présente le matériels et les méthodologies suivie dans ce travail, les résultats et leurs discussions sont contenus dans le quatrième chapitre et en fin une conclusion et perspectives.

1. Définition des onychomycoses

L'onychomycose est l'infection fongique de l'appareil unguéal provoquée par des dermatophytes, des levures ou des moisissures qui rendent les ongles opaques, épais, mais friables et cassants (**Adou-Bryn et al., 1997**).

C'est un terme médical désignant une infection fongique superficielle de l'appareil unguéal provoquée par plusieurs espèces de champignons, plus fréquemment les dermatophytes prédominant aux pieds ensuite les levures prédominant aux mains et en fin les moisissures qui entraînent la destruction progressive de l'ongle (**A.D.V., 2007 ; Satanek, 2014**).

Selon **Viguié et Bonnet(2014)** cette pathologie est rare chez les enfants, et rencontrée surtout chez les adultes.

1.1.Éléments de développement des onychomycoses

Il y a plusieurs éléments responsables du développement de cette pathologie qui doivent être pris en compte afin de prévenir et avoir un traitement convenable à cette mycose.

1.1.1. Éléments intrinsèques individuels

Si les enfants sont moins souvent touchés par les onychomycoses, la prévalence de cette pathologie augmente avec l'âge. En effet, chez le sujet âgé, la croissance ralentie de l'ongle, la mauvaise circulation sanguine, la baisse physiologique de l'immunité et la difficulté pour ces personnes à prendre soin de leurs ongles, peuvent favoriser les onychomycoses (**Scrivener, 2011**).

1.1.2. Présence des maladies sous-jacentes

Selon **Grillot (1996) ; Baran et Pierard (2004)**. Les troubles circulatoires périphériques et l'insuffisance veineuse : fréquemment observés chez les sujets âgés, favorisent la survenue d'onychomycoses aux orteils.

Neuropathie diabétique : présente un facteur de risque pour les onyxis fongiques du pied.

1.1.3. Le déficit immunitaire

Les pathologies portant sur la réponse immunitaire telle que VIH et hypercorticisme (maladie de Cushing), les corticoïdes prescrits à hautes doses et sur de longues périodes

favorisent l'implantation et le développement des mycoses superficielles (**Baran et Pierard, 2004**).

1.1.4. Autres atteintes mycosiques superficielles

L'atteinte d'un autre site comme la peau, les espaces interdigitaux ou le cuir chevelu peut être une source d'auto-contamination occasionnant les onychomycoses. Dans une étude japonaise faite par **Ogasawara et al., (2003)** attestent que 59% de patients présentant une onychomycose avaient également un pied d'athlète, appelé également un intertrigo interorteils.

D'après **Walling (2009)** l'hyperhidrose peut induire l'apparition d'une onychomycose car elle favorise la macération des pieds, aidant ainsi l'invasion et la croissance des champignons.

1.2. Eléments extrinsèques

Une prévalence plus élevée d'onychomycoses est retrouvée chez des patients sous Immunosuppresseurs (**Abdelaziz et al., 2007**) et sous corticoïdes en comparaison à des sujets sains (**Lebeaux et al., 2009**).

1.2.1. Eléments de l'environnementaux

La fréquentation d'endroits associant une humidité des sols et une grande affluence peut occasionner la survenue d'une onychomycose. C'est le cas des sols de piscines, des bains collectifs, des lieux d'ablutions et des plages (**Bolaños, 1990 ; Soorajee, 2012**).

Dans les activités sportives (**Chabasse et al., 2008**) ou professionnelles (**Develoux et Bretagne, 2005**), la survenue des onychomycoses est favorisée par :

- Les microtraumatismes provenant du frottement répété des ongles dans les chaussures.
- La macération des pieds ou des mains favorisée par le port prolongé des chaussures ou de gants de protection ou lors d'un contact fréquent avec l'eau.
- L'exposition aux pathogènes lors de la marche pieds nus dans des lieux publics tels que les douches collectives, les vestiaires, les gymnases et les tapis de sport (**Scrivener, 2011**).

- Dans une étude réalisée auprès de 68 femmes ayant pour habitude le port d'ongles artificiels, 67 d'entre elles se plaignaient d'une altération unguéale associée à une mycose confirmée par une culture d'ongles (**Shemer et al., 2008**).
- Selon une étude canadienne menée dans une clinique spécialisée en maladies vasculaires, les patients fumeurs sont plus exposés aux onychomycoses que les non-fumeurs. Le tabagisme pourrait avoir un effet délétère sur la circulation sanguine périphérique, empirer une vasculopathie périphérique et favoriser une onychomycose (**Gupta et al., 2000**).

1.3. Les agents pathogènes responsables de l'onychomycose

Suivant **Soorajee (2012)** les onychomycoses peuvent être causées par plusieurs types de champignons, les dermatophytes, les levures et plus rarement les moisissures.

1.3.1. Dermatophytes

Ce sont des champignons filamenteux kératinophiles, à thalle ou mycélium septé, qui parasitent la peau et les phanères. Ils sont responsables de mycoses superficielles telles les épidermomycoses de la peau glabre, les teignes du cuir chevelu et folliculites des poils et les onychomycoses. Les dermatophytes, peuvent exceptionnellement envahir les tissus profonds en entraînant la maladie dermatophytique ou entraîner aussi des manifestations allergiques, les dermatophytides (**Chabasse et al., 2004**).



Figure 01 : Onychomycose à dermatophytes (**originale, 2021**).

1.3.1.1. Les modes de contamination

Les dermatophytes se divisent en trois groupes selon leur origine :

- **Espèces anthropophiles** issues exclusivement de l'homme et leur transmission est inter-humaine, elle peut être directe ou indirecte.
- **Espèces zoophiles** issues de l'animal, transmises accidentellement à l'homme, soit par un contact direct ou indirect avec un animal infecté ou porteur sain.
- **Espèces telluriques ou géophiles** se trouvent dans le sol, elles parasitent accidentellement l'homme à la suite d'un contact tellurique (**Chabasse et al., 2004 ; Chabasse et Pihet, 2008**).

1.3.2. Les levures

Les levures sont des champignons cosmopolites, microscopiques, unicellulaire, de forme arrondie ou ovale, se multipliant par bourgeonnement et produisant des blastospores, du mycélium ou du pseudo mycélium comme *Candida albicans*. Ils ne peuvent se développer qu'en présence de matières organiques préformées (**Chabasse et al., 2010**).

Les onychomycoses à *Candida sp.* Sont plus fréquemment rencontrées au niveau des mains et le sont moins au niveau des pieds. Ces onychomycoses atteignent principalement les femmes, du fait de leur exposition plus fréquente aux facteurs de risque (**Develoux et Bretagne, 2005**).



Figure 02 : Onychomycose à *Candida* (originale, 2021).

1.3.3. Les moisissures

Les moisissures sont des champignons filamenteux cosmopolites fréquemment rencontrées dans l'air et sur les sols et, pour certains d'entre eux, sur les matières en décomposition. La plupart d'entre elles se comporte comme des saprophytes. Elles peuvent profiter d'un terrain particulier soit local (support cutané ou unguéal altéré) soit général (immunodépression) et se comporter comme un opportuniste (**Contet-Audonneau, 2005**).

Ils s'installent le plus souvent sur une kératine unguéale altérée, suite à des lésions traumatiques au niveau des ongles ou à une pathologie dermatologique (**Feuilhade, 2011**), à des troubles vasculaires des membres inférieurs ou à une déficience de l'immunité locale ou générale. Les personnes âgées sont les plus touchées par les onychomycoses à moisissures et les ongles des gros orteils sont les plus fréquemment concernés (**Contet-Audonneau, 2005 ; Chabasse, 2011**).

Les onychomycoses à moisissures sont relativement rares. En France, elles sont impliquées dans 3 à 7% des cas d'onychomycoses (Bertholom, 2011). Et les espèces les plus couramment isolées sont *Scopulariopsis sp*, *Aspergillus sp* et *Fusarium sp* (**Chabasse et Pihet, 2014**).



Figure 03 : Onychomycose a moisissure (**originale, 2021**).

1.4. Moyens thérapeutiques

La prise en charge d'une onychomycose repose sur trois principales stratégies pharmacologiques:

- Avulsion chimique ou mécanique, qui consiste en une suppression de la zone pathologique de l'ongle par découpage après traitement chimique (urée 40 %) ou mécanique (meulage jusqu'au lit de l'ongle), permettant de diminuer la zone parasitée.
- Solution filmogène ou vernis.
- Traitement systémique.

1.4.1. Traitements systémiques

Ces traitements sont généralement utilisés en cas d'atteinte matricielle (Distale ou latérodistale importantes) ou atteinte de plusieurs ongles (**Chauvin, 2011**). Trois différentes molécules sont généralement utilisées dans le traitement des onychomycoses; la griséofulvine, les imidazolés et une allylamine. Ces molécules peuvent avoir des effets indésirables, d'où la nécessité d'un bon diagnostic avant leur prescription (**Monod et al., 2013**).

Tableau 01 : Les médicaments utilisés contre l'onychomycose.

Traitement	Effet
La griséofulvine (Griséfuline®)	C'est une molécule fongistatique qui n'est active que sur les dermatophytes. Elle a des effets secondaires gastro-intestinaux, plus rarement neurologiques, hématologiques, hépatiques, rénaux, cutanés et généraux. Et ne doit pas être associée à une contraception orale. Son efficacité après un an de suivi est de 40 %, nécessitant des durées de traitements allant de 4 à 12 mois, avec un taux de rechute important. (Monod et al., 2013)
kétoconazole (Nizoral®)	C'est unimidazolé fongistatique sur les dermatophytes et les levures. Ce médicament peut provoquer une hépto-toxicité qui limite son emploi. Deux triazolés (le fluconazole et l'itraconazole), sont aussi efficaces, mais qui ne sont pas sur le marché en France, elles ont une action fongistatique. Et ont pour cible thérapeutique une enzyme de la voie de biosynthèse de l'ergostérol (la Lanostérol 14- α - déméthylase). (Feuilhade de Chauvin, 2014)
	Actuellement, c'est le médicament le plus efficace montrant des taux de guérison entre 50 et 80%. Elle est fongicide sur les dermatophytes

La terbinafine (Lamisil®) est fongistatique sur la majorité des espèces de *Candida*. Elle a comme cible thérapeutique une enzyme de la voie de biosynthèse de l'ergostérol (Squalèneépoxydase) (Monod et al., 2013)

La molécule de terbinafine est généralement bien tolérée. Elle a des effets secondaires comme les troubles gastriques, des éruptions cutanées qui peuvent être graves (psoriasis pustuleux, érythème polymorphe), des céphalées, une perte du goût régressant spontanément. (Monod et al., 2013).

1.4.2. Traitements locaux

Sont généralement utilisés dans le cas d'une mycose débutante sans atteinte matricielle ou comme complément d'un traitement systémique. Ils inhibent la croissance du champignon responsable grâce à une action anti-métabolique. Quatre familles d'antifongiques sont généralement utilisées: imidazolé, polyène, morpholine et hydroxypyridone. Disponibles sous différentes formes galéniques : crèmes, lotions, solutions, poudres.

Tableau 02 : Traitements locaux contre l'onychomycose.

Traitements	Effets
Le bifonazole 1 %, associé à l'urée à 40 % (Amcoronychozet®).	Cette association permet de ramollir la tablette unguéale afin de faciliter son découpage, avec renouvellement quotidien pendant une à trois semaines, puis l'application seule du bifonazole (Amcor crème®) jusqu'à la repousse complète de l'ongle. La guérison mycologique est obtenue dans 50-60 % des cas (Chabasse et Pihet, 2014).
L'amphotéricine B (Fungizone®)	Elle existe sous forme de lotion dermique. Elle est active in vitro sur le genre <i>Candida</i> et la plupart des moisissures. Elle ne pénètre pas dans la tablette unguéale, mais s'applique sur le lit de l'ongle après découpage de la tablette (Chabasse et Pihet, 2014; Feuilhade de Chauvin, 2014; Monod et al., 2013)
L'amorolfine (Loceryl®)	C'est un dérivé de la morpholine avec une activité antifongique et fongistatique, L'Amorolfine est efficace contre les dermatophytes (<i>Trichophyton spp.</i> , <i>Microsporum spp.</i> , <i>Epidermophyton spp.</i>), les levures (<i>Candida spp.</i> , <i>Cryptococcus spp.</i> , <i>Malassezia spp.</i>), des moisissures (<i>Alternaria spp.</i> , <i>Hendersonulasp.</i> , <i>Scopulariopsis spp.</i>) et d'autres champignons pathogènes

	(<i>Cladosporium, Coccidioides, Histoplasma, Sporothrix</i>)(Tabara et al., 2015).
Le ciclopirox ou l'hydroxypyridone (Mycoster verni®)	Le ciclopirox a un large spectre d'action. En effet, Il est actif contre les dermatophytes (<i>Trichophyton spp., Microsporum spp., Epidermophyton floccosum</i>), les levures (<i>Candida spp., Malassezia furfur, Cryptococcus neoformans, Saccharomyces cerevisiae</i>), les moisissures (<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis brevicaulis, Fusarium solani</i>). (Tabara et al., 2015).

1.4.3. Thérapie alternative

Des préparations aromatiques à base d'huiles essentielles de thym, d'arbre à thé, de bulbe d'ail et de la feuille de henné pur ou dilués dans divers supports inertes sont proposées en application locale. En phytothérapie aucun essai probant ne démontre la supériorité de ces substances naturelles vis-à-vis des traitements conventionnels (**Kimura et al., 2012**).

1. Les microalgues

Les microalgues sont des organismes microscopiques unicellulaires ou pluricellulaires. Leurs tailles varient de quelques micromètres à une centaine de micromètres. Pour les étudier, il est nécessaire de les observer au microscope optique ou au microscope électronique, ce qui permet de voir plus de détails, en particulier ceux relatifs à leur morphologie.

La spiruline est considérée comme étant une microalgue en raison de sa taille microscopique. Les microalgues peuvent vivre sous forme libre ou en colonie. Leur cellule, unique et indifférenciée, assure toutes les fonctions. Ce sont des microorganismes appartenant à deux groupes : les eucaryotes et les procaryotes. Les microalgues eucaryotes possèdent une structure cellulaire végétale classique, avec ou sans paroi cellulosique par contre les microalgues procaryotes, appelées également Cyanobactéries, ont une structure bactérienne classique sans compartiment (**Richmond, 2004**).

2. Les cyanobactéries

Les Cyanobactéries sont également appelées Cyanophytes ou Cyanophycées. Bien que connues sous le nom d'algues bleu-vert ou algues bleues, ces dernières sont des bactéries Gram-négatifs photosynthétiques et non des algues. Leur existence date d'environ 3 milliards d'années et elles sont à l'origine de la production de l'oxygène que nous respirons sur terre. Elles sont capables d'assimiler l'azote de l'air. Elles sont ainsi permises la formation de la couche d'ozone qui nous protège contre les rayons nocifs du soleil (**Lavoie et al., 2007**).

D'après **Thomazeau (2006)**, il existe cinq ordres divisés en vingt-sept familles qui comportent cent soixante-six genres de Cyanobactéries. Ces derniers correspondent à environ 2000 espèces, dont un grand nombre peut se développer en mer (**Duy et al., 2000**). Le genre *Arthrospira* fait partie des Cyanobactéries qui se trouvent naturellement dans les eaux marines, ainsi que dans les lacs alcalins, contenant du carbonate de sodium (Na_2CO_3), ou du bicarbonate de sodium (NaHCO_3) (**Fox, 1999**).

Les cyanobactéries sont des procaryotes à paroi Gram négative (**De Philippis et Vincenzini, 1998**) et elles sont classées parmi les eubactéries (**Castenholz, 1989 ; Rippka et coll., 1979**). En effet les cyanobactéries, comme les bactéries vraies, ne possèdent pas de noyau individualisé. Elles sont dépourvues de membrane nucléaire, de nucléoles et de

chromosomes différenciés. La partie centrale de la cellule renferme seulement des granulations de chromatine qui représentent un appareil nucléaire très simple. Le cytoplasme lui aussi est simple, en effet, les mitochondries, les dictyosomes et le réticulum endoplasmique n'y sont pas représentés. Les thylakoïdes qui supportent les pigments photosynthétiques, ne sont pas rassemblés en chloroplastes. La paroi cellulaire est par ailleurs caractérisée par la présence d'une couche rigide de peptidoglycane (**Figure 01**) (**Pandhal et coll., 2008**).

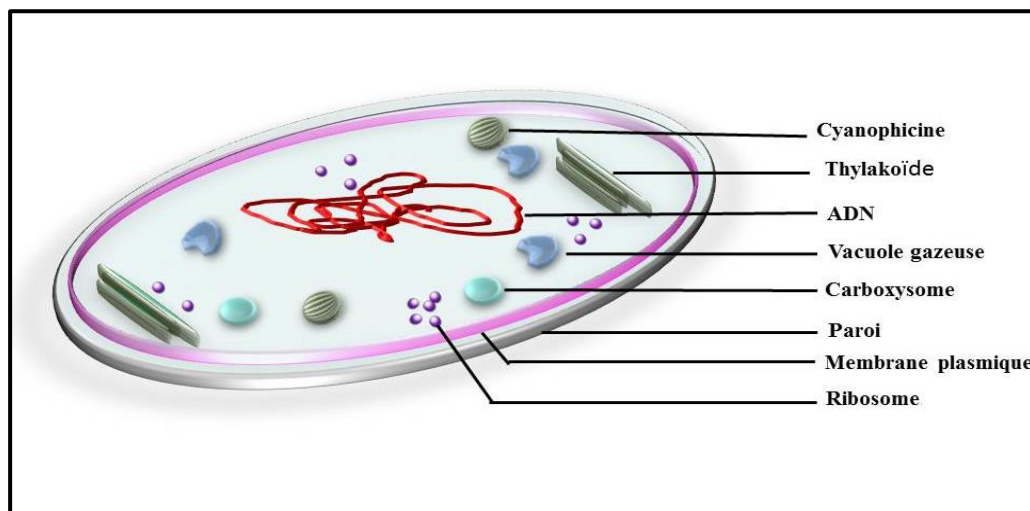


Figure 04 : Structure d'une cellule de cyanobactérie d'après **Pandhal et coll (2008)** ;
(modifié par **Reguieg, 2021**).

3. La cyanobactérie spirulina *Arthrospira platensis*.

3.1. Définition:

La spiruline est une cyanobactérie filamenteuse, faisant partie des algues bleu-vert de type procaryote. Reconnaisable à la caractéristique morphologique du genre, cette micro-algue à caractère multicellulaire, se multiplie dès que la température de l'eau dépasse 30 °C. C'est un organisme symbiotique, autotrophe, qui se nourrit uniquement de minéraux contenus dans son milieu aqueux (**Vonshak., 2002**).

Selon **Fox (1999)**. Le genre *Arthrospira* regroupe les microorganismes phototrophes obligatoires, filamenteux à trichomes bleu-vert, peu mobiles, enroulés régulièrement en spires larges et très ouvertes. Ils sont pluricellulaires pourvus de vésicules de gaz pour atteindre la lumière indispensable à leur photosynthèse. Les spires peuvent être espacées régulièrement avec un diamètre constant ou bien relaxées de sorte à former un filament

presque droit. Le nombre de spires peut être également faible (une à trois), ou élevé (plus de cent). Le diamètre des cellules varie de 3,5 à 11µm et celui des spires de 20 à 100 µm. Parfois les spires au centre du trichome sont plus rapprochées qu'aux extrémités, avec un diamètre de spire plus petit au centre et aux extrémités.

3.2. Le terme de spiruline :

Les différentes confusions faites par rapport à l'emploi du terme spiruline sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 03 : l'utilisation et confusions faites par rapport à l'emploi du terme spiruline d'après **Antenna technologies (2009)**.

Spiruline	<i>Spirulina</i>	<i>Arthrospira</i>
-Terme vernaculaire générique regroupant toutes les spirulines en vente sur le marché (Spirulina non comestible et Arthrospira comestible)	-Nom scientifique et taxonomique d'une autre cyanobactérie très éloignée du genre <i>Arthrospira</i> qui n'est pas utilisé dans le cadre de l'alimentation	Nom scientifique et taxonomique d'un groupe de cyanobactéries auxquelles appartient la spiruline utilisée dans le cadre de l'alimentation
-Nom commercial francophone de la cyanobactérie appartenant au genre <i>Arthrospira</i>	-Nom commercial anglophone de la cyanobactérie appartenant au genre <i>Arthrospira</i>	

3.2.1. Algue ou bactérie ?

La spiruline est un procaryote gram négatif appartenant aux cyanobactéries. Même si les cyanobactéries possèdent des caractéristiques propres aux algues, il s'agit en réalité de bactéries. Les cyanobactéries se rapprochent des algues et des bactéries par certaines caractéristiques communes, présentées dans le **tableau 04**.

Tableau 04 : Différence entre une algue et bactérie (**Bernard, 2014**).

Algues	Bactéries
Chlorophylle	Absence de membrane nucléaire
Deux photosystèmes I et II	Absence de membrane plastidiale

Photosynthèse : production d'O₂	Absence de mitochondries
Pigments photosynthétiques phycobiliprotéines :	Absence de réticulum endoplasmique et dictyosome
Eau : donneur d'électrons	Paroi cellulaire Gram - : muréine

3.2.2. Morphologie de la spiruline :

La spiruline possède en moyenne une longueur de 250 μm . Elle est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout appelées filaments ou trichomes. Ces derniers ont un diamètre de 10 à 12 μm , sont mobiles, non ramifiés, et enroulés en 6 ou 7 spires. 10 μm (Sall *et al.*, 1999).

L'enroulement du trichome sur lui-même s'effectue suivant le sens d'un minuscule ressort à l'origine de son appellation : « spiruline » du latin « spira » qui signifie enroulement. Plusieurs facteurs environnementaux peuvent influencer l'orientation de l'hélice. Cette forme hélicoïdale typique lui permet de se déplacer dans l'eau en adoptant le mouvement d'une vis, à une vitesse de 5 μm par seconde. On parle alors de déplacement par motilité (Charpy *et al.*, 2008). On trouve cependant des spirulines ondulées et droites, cette particularité étant en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leurs habitats.

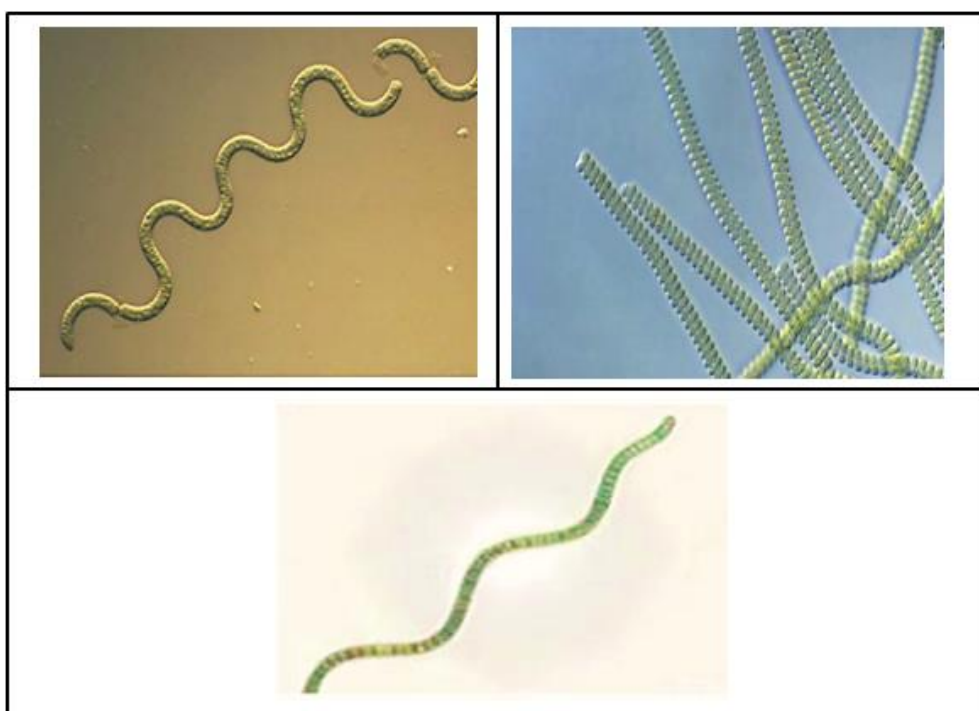


Figure 05 : Différentes formes de la spiruline (Falquet et Hurni, 2006).

3.3. Classification de la spiruline :

La classification systématique de la spiruline a été étudiée par plusieurs auteurs. Considérer comme une algue à l'origine, une désignation finale en tant que cyanobactérie a été adoptée et acceptée par la suite pour figurer au «Bergey's Manual of Determinative Bacteriology» (Goulambasse., 2018). D'un point de vue taxonomique, la spiruline s'y verra appartenir par les systématiciens au :

Règne : Monera

Sous- règne : procaryote

Embranchement : Cyanophyta

Classe : Cyanophyceae

Ordre : Oscillatoriales

Famille : Oscillatoriaceae

Genre : *Arthrospira*

Espèce : *Arthrospira platensis* (Charpy et al., 2008).

Les deux espèces les mieux connues sont *Arthrospira platensis*, originaire d'Afrique et *Arthrospira maxima* originaire d'Amérique centrale (Sguera, 2008).

3.4. Cycle biologique :

La spiruline se reproduit suivant un mode végétatif, une multiplication asexuée qui suit le principe de la bipartition par scission simple. C'est donc une segmentation des filaments qui s'effectue en plusieurs étapes.

- Une fois la maturité atteinte, les filaments de la spiruline forment des nécridies, des cellules ayant un aspect concave.
- Il s'ensuit une fragmentation du trichome à partir des nécridies aboutissant à de nouveaux filaments constitués de 2 à 4 cellules appelées hormogonies. Ces derniers croissent par division binaire et prennent la forme typique hélicoïdale, chacune des cellules donne deux cellules par scissiparité (Manet, 2016).

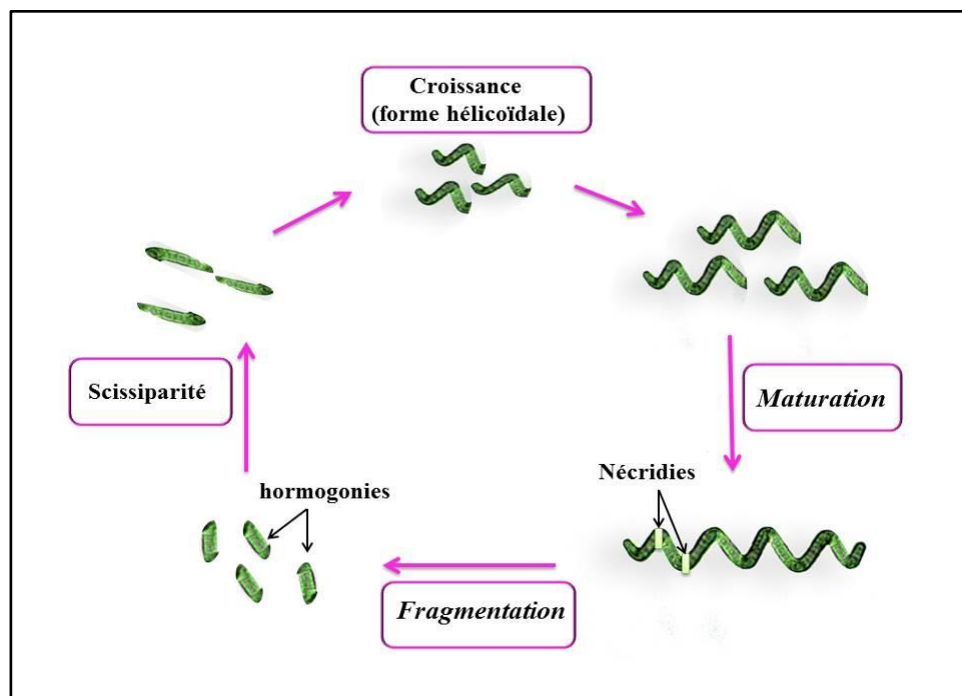


Figure 06 : Cycle biologique de la spiruline selon Charpy et al (2008) ; (modifié par Reguieg ,2021).

3.5. Ecologie et habitat :

Le genre *Arthrospira* se trouve fréquemment dans les eaux douces, eaux marines, eaux hyper-salées (Castenholz, 2001), ou dans certaines sources d'eaux chaudes à des températures supérieures à 50 °C (Ballot, 2004). Il est abondant aussi dans les eaux natronées (Iltis, 1970), mais il peut être aussi terrestre pendant les périodes de sécheresses (Castenholz, 2001). Sous des conditions favorables le genre *Spirulina* peut former des populations benthiques très denses (Ulrich et al., 2000).

La plupart des spirulines se développent dans des eaux chaudes, alcalines et fortement minéralisées (richesses en nutriments azotés et phosphorés), excluant ainsi la plupart des autres microorganismes. Elle s'observe plus communément dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins des régions tropicales et semi tropicales (Goulambasse, 2018).

3.6. La composition chimique de la spiruline :

Le tableau 03 présente la composition chimique de la souche *Arthrospira platensis*. Cultivée par Earthrise Farms au sud californien (Munck-khoe, 1995). Sa richesse en protéines (64-74 % du poids sec) (Cohen, 1997) en fait une excellente source au point de vue nutritionnel.

De plus ces protéines sont d'une haute valeur biologique car elles contiennent les huit acides aminés essentiels. Outre sa richesse en protéines et en vitamines elle possède une teneur assez élevée en oligo-éléments surtout le fer, le calcium, l'iode, le magnésium, le chrome et le molybdène. D'autres composés intéressants et de haute importance sont aussi trouvés, comme les caroténoïdes, les phycobiliprotéines, la chlorophylle a et divers acides gras polyinsaturés. Tous ces composés confèrent à *Arthrospira platensis* une valeur nutritionnelle élevée et des propriétés thérapeutiques importantes.

Tableau 05 : Composition chimique d'*Arthrospira platensis*.

Les composés organiques et minéraux	Quantité par 10g du poids sec
Les protides	6-6.5g
Les acides aminés essentiels	2.22-2.41g
Les pigments	
Phycocyanine	1,0-1,5g
Chlorophylle	80-150mg
caroténoïdes (totaux)	30-40mg
β-carotène	12-19mg
Xanthophylles (total)	18mg
Les vitamines	12-19mg
Provitamine A	
Thiamine (B1)	0,2-0,34mg
Riboflavine (B2)	0,33-0,4mg
B3 ou PP	1,18-2,07mg
B12	3-20μg
Pyridoxine (B6)	30-90mg
Acide ascorbique (C)	0,5mg
Tocophérol (E)	1,18-1.90mg
Les Minéraux	
Potassium	80-177mg
Phosphore	90mg
Sodium	40-70mg
Calcium	17-100mg
Magnésium	19-48mg
Chlorine	44mg
Fer	4-15mg
Chrome	14-28μg
molybdène	4.5-10μg
Les lipides	
Acide palmitique	211mg
Acide linoléique	138mg
Acide δ linoléique	120-135μg
Glycolipides	127-132mg
Lipides totaux	480-570mg

3.7. Les activités biologiques

3.7.1. Activité antibactérienne :

Les bactéries sont des êtres unicellulaires qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire (Vicenete,2008) .Quand elle pénètre et/ou la multiple dans un organisme hôte, elle entraîne une diminution des défenses du sujet et accroissement de la virulence des germes et donc provoque ce qu'on appelle l'infection bactérienne (Goulamabasse,2018). L'activité antibactérienne est le processus d'inhibition de la croissance des micro-organismes, notamment les bactéries et la prévention contre l'infection bactérienne (Courvalin et al., 1990). Ce processus également utilise des agents dits « agents antimicrobiens » qui sont des substances d'origine naturelle ou synthétique. Généralement, on parle d'un effet bactériostatique lorsque la substance antibactérienne empêche la multiplication des bactéries et d'un effet bactéricide lorsqu'elle détruit totalement la bactérie.

3.7.2. L'activité antifongique :

Les champignons ou mycètes, sont des végétaux eucaryotes dits thallophytes. Les cellules sont groupées en un ensemble plus ou moins structuré appelé thalle porteur d'organes reproducteurs qui permettent de distinguer les champignons filamenteux des levures. Ils sont non chlorophylliens et peuvent de multiplier par reproduction sexuée ou asexuée. On peut les cultiver l'abri de la lumière mais il faudra leur fournir une source de carbone (Boumandji et Alili, 2012).

L'activité antifongique se fait par des agents antifongiques. Ce sont des médicaments capables de traiter les mycoses, c'est-à-dire les infections provoquées par des champignons microscopiques (Boumandji et Alili, 2012).

3.7.3. L'activité anti-oxydante :

Les principaux actifs antioxydants qui confèrent un statut indétrônable d'antioxydant puissant à la spiruline sont : la phycocyanine, la bêta carotène, les polyphénols, la super oxyde dismutase (SOD) et d'autres vitamines et minéraux contenus dans cette matière. De nombreuses études in vitro et in vivo ont identifié cette activité potentielle de la spiruline (ou de ses extraits) et ont montré que le traitement à la spiruline réduit significativement le stress oxydatif (Goulambasse, 2018).

3.7.4. Activité antivirale :

La richesse de la spiruline en β -carotène, en vitamine B12 ainsi que d'autres vitamines du groupe B, depuis fort longtemps établi comme substances intéressantes dans la lutte contre les infections virales n'explique pas entièrement le pouvoir antiviral de la spiruline. Il semblerait que les polysaccharides membranaires de cette algue soient aussi impliqués dans ce processus (**Andreani, 2011**).

L'équipe du professeur **Hayashi**, de l'American Chemical Society, a démontré l'efficacité in vitro des polysaccharides contre la réplication de plusieurs virus enveloppés comme les Herpès Simplex Virus (HSV), le virus de l'influenza, le virus de la rougeole, le cytomégalo virus humain (CMV) et le VIH-1 (**Yougbare, 2007**)

3.7.5. Autres activités :

On plus des deux activités précédentes, les SPIRULINES sont d'autres activités thérapeutiques mieux confirmés et plus remarquables, on parle de l'activité (**Baran et Pierard, 2004**) :

- **Anti-inflammatoire** : l'activité anti-inflammatoire est constatée lors d'une administration per os avant l'induction de la réaction inflammatoire.
- **Anticancéreuse** : le calcium-Spiruline agit par prévention de l'adhésion et de la migration des cellules tumorales vers la lame basale.

4. La production de la spiruline

La spiruline se développe dans une eau à la fois salée et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable ou au moins filtrée, le plus important étant l'élimination des algues étrangères. La composition des milieux de culture peut varier énormément, selon la disponibilité des produits chimiques nécessaires à leur élaboration. Les limites de salinité et d'alcalinité permises sont généralement assez larges (salinité totale de 13 g/l) (**Jourdan, 1999**).

L'alcalinité est habituellement apportée par du bicarbonate de sodium (NaHCO_3), mais ce dernier peut être remplacé en partie par de la soude caustique ou du carbonate de sodium (Na_2CO_3) pour relever le pH initial du milieu de culture. Le milieu de culture contient des engrais pour assurer la croissance des spirulines : l'azote, le phosphore, le

potassium sont les éléments classiques, mais le soufre, le magnésium, le calcium et le fer doivent aussi être ajoutés s'ils ne sont pas apportés en quantité suffisante par l'eau, le sel et les engrais. Une analyse préparatoire de l'eau et du sel est utile pour calculer la dose de Mg, Ca et Fer à ajouter dans le milieu de culture.

4.1. Le milieu de culture de Jourdan (2006)

Le milieu standard de Jordan, très souvent cité et servant de référence est préparé à base d'eau distillé et tous les éléments indispensables à la croissance des microalgues.

Tableau 06 : Les compositions chimiques d'un milieu de culture typique **Jourdan (2006)**.

Composition du milieu	Quantité g/L
Bicarbonate de sodium	8
Chlorure de sodium	5
Nitrate de potassium	2
Sulfate de potassium	1
Phosphate mono ammoniacal	0,2
Sulfate de magnésium	0,2
Urée	0,02
Sulfate de fer	0,005

4.2. Les différents modes de production de spiruline

La production de la spiruline se fait à plusieurs échelles : artisanale, semi-industrielle et industrielle. Elles se différencient par l'ordre de grandeur de l'investissement (moyens et matériaux utilisés), la surface des bassins de culture et d'exploitation, le tonnage de ces productions et la sophistication des techniques de production. Quel que soit le mode de production, il se base sur les mêmes étapes (**Charpy, 2008**).

4.2.1. Production artisanale

Historiquement, ce mode de culture a été initié par Ripley Fox pour lutter contre la malnutrition dans les pays en voie de développement. Durant ces dernières années ce mode de production n'a cessé de croître, soutenu par de nombreuses ONG.

Ce sont des systèmes nécessitant de faibles apports en énergie. Les moyens mis en œuvre peuvent être rustiques, La qualité de la production est contrôlée tout au long de la production. Elles sont destinées à l'humanitaire ou en partie à la commercialisation (Charpy, 2008).

4.2.2. Production semi-industrielle

Dans les pays en voie de développement, les fermes semi-industrielles utilisent les mêmes technologies que les fermes artisanales. Elles sont destinées à l'humanitaire et à la commercialisation. Leur objectif est d'être pérenne et autonome grâce à la vente de leur produit (Charpy, 2008).

4.2.2. Production industrielle

Représentée depuis plus de vingt ans par de grosses compagnies telles que **Earthrise** ou **Cyanotech**, elles se distinguent des précédentes par l'importance des moyens mis en œuvre et leur capacité de production et leur objectif clairement commercial. La qualité est contrôlée de manière automatique par des systèmes informatisés (Charpy, 2008).

5. Utilisation et les bienfaits de la spiruline

D'après une étude faite par **Hélène Cruchot (2008)** et à l'issue des nombreuses études menées par des chercheurs spécialisés dans le domaine des cyanobactéries, il ressort que la spiruline (genre *Arthrospira*) n'est pas toxique, et delà on sites l'importance d'utilisations de spiruline dans les différents domaines.

5.1.Importance écologique de la spiruline

La Spiruline produite ne provoque pas de pollution, ne participe pas à l'érosion des sols, ne contamine pas l'eau et enfin ne provoque pas la destruction des forêts. La Spiruline est cultivée sans pesticides, ni herbicides. Durant le processus de récolte et de séchage, aucun agent de conservation, ni aucun additif n'est utilisé (Fox, 1999).

La Spiruline peut fixer jusqu'à 6,3 tonnes de carbone par ha/an ; dans le même temps elle produira 16,8 tonnes d'oxygène (ha/an).

5.2.Importance économique de la spiruline

En raison de sa teneur en protéines végétales (60%) et de son taux de croissance rapide, la Spiruline produit 20 fois plus de protéines à l'hectare que le soja, et 200 fois plus que le bœuf. De plus, la culture de la Spiruline ne nécessite pas l'utilisation de sols fertiles mais seulement de bassins de quelques centimètres de profondeur (aquaculture). Il a été calculé que la production d'un kilo de protéines de blé occasionnait la destruction de 22 kilos de sol fertile ; La Spiruline produit d'avantage de protéines sans entraîner d'érosion des terres arables (**Pulz et Gross, 2004**)

Bien que la Spiruline pousse dans l'eau, elle exige beaucoup moins d'eau par kilo de protéines produites que n'importe quel autre aliment (végétal ou animal). , l'eau est recyclée dans les bassins après les opérations de filtrage et d'essorage. La protéine issue de la Spiruline consomme 1/3 du volume d'eau nécessaire à la protéine de soja, 1/5 de l'eau nécessaire à la protéine de blé, seulement 30 litres sont nécessaires pour produire 100 grammes de Spiruline (**Fox, 1999**).

5.3.Importance médicinale

De la composition exceptionnelle de la spiruline, découlent de multiples applications thérapeutiques dont les plus importantes sont :

- Le renforcement des défenses immunitaires (une opportunité pour lutter contre les maladies opportunistes).
- Le traitement de certaines affections dermatologiques.
- Elle constitue également un partenaire efficace pour calmer les douleurs rhumatismales et l'arthrose, la lutte contre l'ostéoporose, l'excès de cholestérol, l'hypertension, et les allergies.
- Elle protège le cœur et augmenterait la régénération des cellules cérébrales. (**Dupont et al., 2014**).

Les expérimentations à savoir : installation de l'incubateur, préparation du milieu de culture, mise en culture, tests biochimiques et microbiologiques, sont tous réalisés au niveau du laboratoire de biologie Université Amar Telidji-Laghouat.

1. Méthodologie du travail

Afin de répondre aux objectifs cités auparavant, nous avons opté pour quatre volets :

- Production de la spiruline dans les conditions *in-vitro* et récupération de la biomasse obtenue.
- Analyse biochimique afin de déterminer la teneur en protéines, lipides et glucides contenues dans la poudre de la spiruline produite.
- Isolement des champignons pathogènes responsables de l'onychomycose à partir des sujets infectés.
- Application de l'extrait éthanolique de la spiruline sur les souches pathogènes isolées et détermination de son activité antifongique.

2. Le Choix de souche spiruline

La spiruline est un microorganisme exceptionnel, ayant de multiples utilités agroalimentaire, pharmaceutique, écologique et biotechnologique. Il présente aussi des effets bénéfiques sur la santé humaine et animale (**Razafindra et al, 2008**).

La souche utilisée dans ce travail est une spiruline de l'espèce *Arthrospira platensis* type M1 (morphologie ondulée), originaire de Pérou est un pays de l'ouest de l'Amérique du Sud, cultivé dans la ferme Spiruline Algérien Oran, le volume de la souche reçue a été de 10g.

2.1. Préculture de la spiruline

Afin de réaliser notre expérimentation au niveau de laboratoire, nous avons utilisé l'eau de forage, et cela a été analysé pour déterminer sa composition physicochimique (**voir Annexe I**). Le matériel nécessaire pour la culture de la spiruline est présenté dans l'Annexe II.

La première étape de la culture consiste à préparer (cultiver) la souche dans un milieu initial composé de l'eau de forage, sel et bicarbonate de sodium à 2 litre pendant quatre semaines. Le contrôle des deux paramètres culture température et pH est très recommandé.

Tableau 07 : Milieu de culture et ceux de la stimulation de la spiruline.

Milieu de préparation de la spiruline		
2 litre l'eau de forage		
Les semaines	Composant	Quantité g/l
1	- sel - bicarbonate de soude	- 2g/l - 5 g/l
2	- sel - bicarbonate de soude	- 2g/l - 5 g/l
3	- sel - bicarbonate de soude	- 2g/l - 5 g/l
4	- sel - bicarbonate de soude	- 2g/l - 5 g/l

Nous avons choisi le milieu de culture de **Jourdan (2006)** afin de multiplier la biomasse de la spiruline, présenter dans le tableau ci-dessous.

Tableau 08 : Composition chimique du milieu de culture de **Jourdan (2006)**.

Pour 10 litre	
Les éléments	Quantité g/l
Bicarbonate de soude	160g
Nitrate de potassium	20g
Sel	10g
Sulfate de fer	0.1g
Sulfate de magnésium	1g
Sulfate de potassium	5g
Chlorure de calcium	1g
Phosphate d'ammonium	1g



Figure 07 : Préparation du milieu de culture de la spiruline (originale, 2021).

2.2. Ensemencement

Après un mois de préparation de la réactivation et stimulation de la souche et dans le but d'accélérer la croissance de la spiruline on ajoute dans l'aquarium 1 litre d'eau distillé préparé contenant le milieu de culture de **Jourdan (2006)**.

L'agitation c'est une phase très importante qui fournit une bonne oxygénation, et ce faite par l'installation d'un aérateur et l'agitateur électrique 24/24h.

En plus à l'éclairage naturel nous avons installés une source lumineuse pendant toute la période de l'expérimentation 24h/24h (voir annexe I).

3. Préparation de l'extrait eau-éthanol de l'algue bleu *Arthrospira platensis*.

Dans ce protocole nous avons adopté le protocole de **Kasinathan et al., (2009)** suivie par une légère modification, dans un rapport de 1:3 (poids de poudre algale: volume de solvant).

Après la récupération de la poudre de la *spiruline* nous avons pesé 20g du produit algale avec 60 ml du solvant (**Figure 08**).

3.1. La centrifugation

Après 48h de macération, le contenu de chaque flacon était centrifugé à 1500 trs/min pendant 15 minutes pour éliminer les macromolécules. **Figure08.**



Figure 08 : (A) solution éthanol et poudre de la spiruline ; (B) la centrifugeuse ; (C) la solution dans la centrifugeuse. (Originale, 2021).

3.2. L'évaporation :

Les surnageant étaient récupérés et passés au Rotavapor à une température de 47°C et une vitesse de 270 trs/min.

Pour déterminer la quantité de l'extrait sec le ballon était pesé vide et après extraction.

Le diméthylsulfoxyde (DMSO) était utilisé comme solvant de récupération avec un rapport de 2ml de DMSO pour 30g d'algue. Après la récupération les extraits étaient conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation (**Figure 09**).

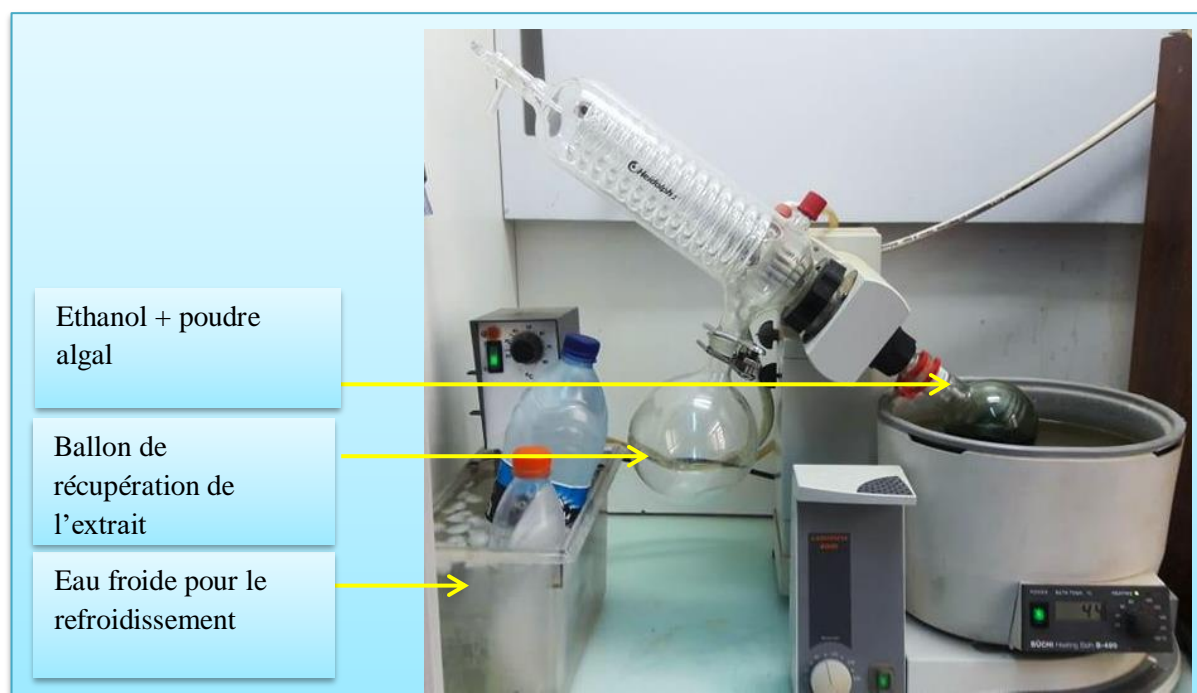


Figure09 : Extraction des composés phénoliques par l'évaporation à Rotavapor (**originale, 2021**).

3.3. Le Rendement Obtenue

Le rendement de l'extraction est déterminé par le rapport entre la masse des Polyphénols extraits et la masse de la matière première végétale traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

P1 : Poids du ballon après évaporation.

P2 : Poids du ballon avant évaporation.

P3 : Poids de la matière végétale de départ

4. Analyses biochimiques

Ces analyses ont été réalisées au niveau de laboratoire du département de Biologie, Université Amar Telidji-Laghouat.

4.1.Extraction des protéines

Pour l'extraction des protéines du produit algal nous avons pesé 1g de la spiruline dans un matras de **Kjeldhal** on ajoute 7 g de sulfate de potassium K_2SO_4 avec 7 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 , puis 5ml d'eau oxygénée H_2O_2 .

La solution contient 35g de la soude caustique NaOH et 4g de l'acide borique H_3BO avec 100 ml l'eau distillée .Puis on ajoute 1.7 g de HCl et le Méthyle rouge.

4.1.1. Le dosage des protéines

Le dosage de protéine est réalisé par la méthode de **Kjeldahl (ISO, 1997)**. Est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, ce dernier sera converti en ammoniac par distillation. Un titrage par la soude de concentration connue permet de déduire la quantité d'ammoniac formée, donc la teneur en azote du produit initiale milieu alcalin. La teneur en protéines calculée en multipliant le taux d'azote total (N%) par le coefficient de 6.25.

➤ L'azote total

Le pourcentage d'azote total (N%) est calculé par la formule suivant :

1N (HCL) \longrightarrow 2.80 Mg NH_3

➤ Conversion du taux d'azote en taux de protéines

100 g de protéines correspond à 16g d'azote dans la majorité des cas. On utilise un facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines

$$F = 100/16 = 6,25$$

Donc, le taux des protéines brutes (PB%) est exprimer par :

$$PB\% = N \times 6,25$$

$$\text{Matière de protéine : } \quad N \times 6,25 / 10$$

4.2.Extraction des lipides totaux

Pour l'analyse des lipides nous avons suivi la méthode de **Bligh et Dayer**, elle consiste à extraire les graisses par un mélange ternaire de chloroforme, méthanol et eau (2v/3v/0.5v) respectivement, mais variables au cours de l'extraction. 0,25 g de la matière végétale sèche est mélangé aux solvants, et l'extrait est centrifugé. Il se sépare en deux couches et les graisses passent dans la couche inférieure chloroformique. Celle-ci est décantée puis évaporée. Le résidu constitué par les matières grasses est pesé (**Bligh et Dayer. 1959**).

4.3.Extraction des sucres solubles

Pour l'extraction 20 mg de matière végétale sèche (MVS) broyée dans 2ml d'éthanol bouillant à 80 %. Après agitation, le broyant est centrifugé pendant 20 min à 5000 trs/min à 4°C. Le surnageant est récupéré. Une deuxième extraction est réalisée avec 1,5ml d'éthanol à 80% et le surnageant est ajouté au précédent. Les deux surnageant sont mélangés et ajustés à 50 ml avec l'eau distillée. (Mccready, 1950).

4.3.1. Dosage des sucres solubles

La méthode du dosage des sucres solubles est basée sur la technique de **Mccready (1950)**. Les oses, en présence de l'acide sulfurique (H₂SO₄) à 91 % et à chaud, produisent des dérivés du furfural qui réagissent à chaud avec l'antrone pour donner un composé bleu-vert.

Une série de trois tubes est préparées, dans laquelle une dilution de l'extrait glucidique 1V/9V (extrait glucidique/eau distillée) est préparée, 2 ml de réactif à l'antrone sont rajoutés dans tous les tubes.

Les tubes sont agités puis placés au bain-marie à 100° C pendant 7 min pour permettre le développement de la coloration. Après refroidissement les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 630$ nm. Le spectrophotomètre est préalablement étalonné grâce à un blanc préparé à partir de 1 ml d'éthanol et de 2 ml de réactif. La teneur en sucres solubles est exprimée en mg/g de MVS.

5. Prélèvement et isolement des souches fongiques

Nous avons réalisé le prélèvement unguéal avec du matériel stérile sur des ongles propres après une bonne toilette faite par le malade afin d'éliminer les moisissures contaminants de l'environnement et il doit être fait si possible avant ou à distance de tout traitement antifongique pour éviter les faux négatifs en culture. Les fragments obtenus ont été recueilli dans une boîte de Pétri sur laquelle on a mentionné le numéro d'enregistrement du patient et la nature du prélèvement .Lors d'une paronychie, les sérosités sont récupérés par écouvillonnage. Tous prélèvement fait au niveau du laboratoire doit être mentionné dans un registre de paillasse.

La technique du prélèvement a été adaptée suivant l'aspect clinique de l'atteinte de l'ongle. Le principe essentiel consiste à prélever au niveau de la jonction entre la zone saine et la zone

malade de l'ongle, c'est-à-dire là où le champignon est actif, à l'aide d'une curette ou d'un vaccinostyle (**Annexe III**).

5.1. Isolement des souches fongiques

Deux milieux de cultures étaient systématiquement utilisés, ce sont les milieux d'isolements : le milieu PDA et le milieu de Sabouraud additionné au chloramphénicol ce dernier est un antibiotique qui inhibe la croissance des bactéries. Nous avons déposé les fragments d'ongle des gens infecté sur les deux milieux d'isolement à l'aide d'une pipette ou d'une anse de platine. On a réalisé l'ensemencement en boîtes de pétrie (figure..) et mis dans l'étuve à 27°C et conservés au maximum 4 semaines avec un contrôle régulier (deux fois par semaine) pour permettre l'identification des espèces à croissance lente. (**Bouanoun et al., 2008**).

5.2. Identifications des isolats fongiques

L'identification des champignons fait essentiellement appel aux caractères cultureux (identification macroscopique) et à la morphologie (identification microscopique) des isolats purifiés (**Botton et al, 1999**).

5.2.1. Identification macroscopique :

Les isolats fongiques purifiés sont soumis à une identification macroscopique par un examen de la culture sur les milieux Sabouraud ou PDA. Cet examen permet de déterminer les caractères cultureux intégrant à la fois la taille et la couleur de la colonie, l'aspect de la colonie et la vitesse de croissance (**Guiraud, 2003**).

5.2.2. Identification microscopique :

Tous les agents fongiques isolés sont soumis à une identification morphologique réalisée par une étude microscopique. Cette dernière est effectuée par l'une des deux techniques suivantes. Nous avons consulté le manuel de **Barnett et Hunter (1972) ; Botton et al (1990)**. En se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, odeur, forme, contour, etc.) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies ou spores (cloisonnement du mycélium, forme des spores et conidies, forme des organes de fructification, etc.).

6. Activité antifongique de l'extrait éthanolique de la spiruline

L'activité antifongique a été appliquée sur les champignons suivant le protocole de **Kirby et Bauer (1966)** avec une légère modification. Figure 10.

Pour mettre en évidence l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de la spiruline nous avons choisi la méthode de confrontation directe elle consiste à mettre un implant mycélien de chaque champignon et déposé à la périphérie de la boîte de pétrie, et sur l'autre périphérie un disque de papier filtre de 0.5cm imprégné de 10 μ l de chaque concentration. Les boîtes contenant les implants mycéliens et les disques de l'extrait ont été mis 2heurs à 4°C, puis incubées à 25°C. Après 48 heures d'incubation, les distances entre le disque contenant l'extrait et l'implant mycélien de chaque champignon ont été mesurées toutes après 3 jours.

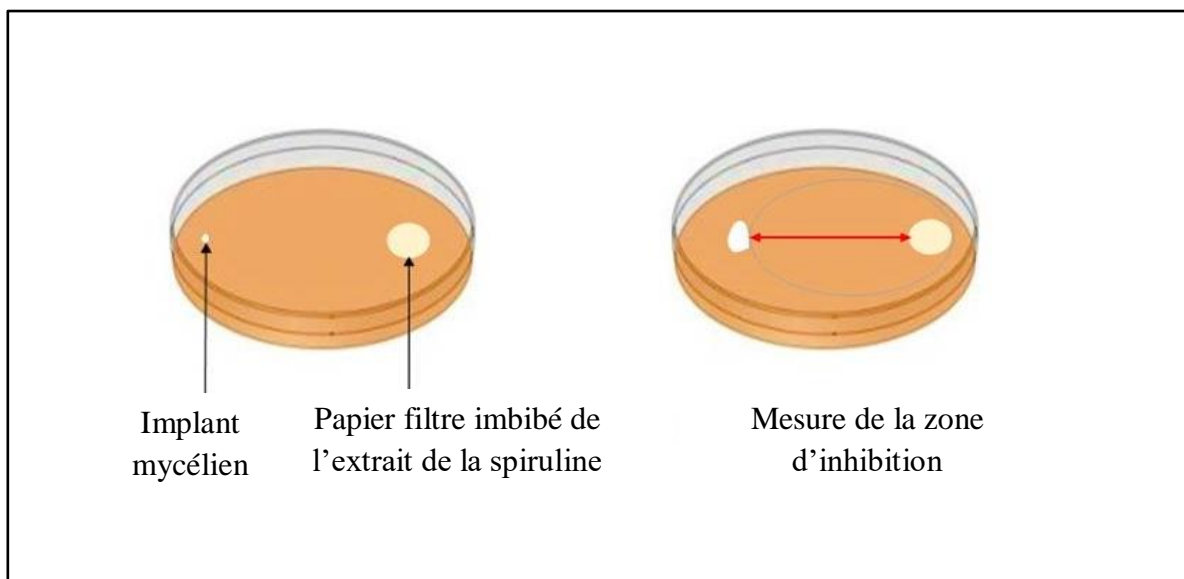


Figure 10: Schéma du test de confrontation directe de l'extrait éthanolique de la spiruline, selon **Kirby et Bauer (1966)** (modifié par **Reguiég, 2020**).

Lorsque nous fournissons toutes les conditions favorables pour la production de spiruline (l'eau du forage, Température et pH appropriée et salinité modérée), nous obtenons les résultats suivants.

1. Résultats de la culture de la spiruline

Après préparation milieu qui composée de spiruline et l'eau de forage, aussi sel et bicarbonate de sodium comme des éléments du base pendant 1 mois pour leur développer afin de commençons à l'appliquer milieux de la culture du **Jordan (2006)**. Nous avons remarqué une évolution remarquable du changement de quantité et de couleur.

A chaque fois nous avons remarqué changement de la couleur de la spiruline du vert foncé au vert clair et aussi notez que la quantité de spiruline augmente de manière relative remarquable (figure 11).

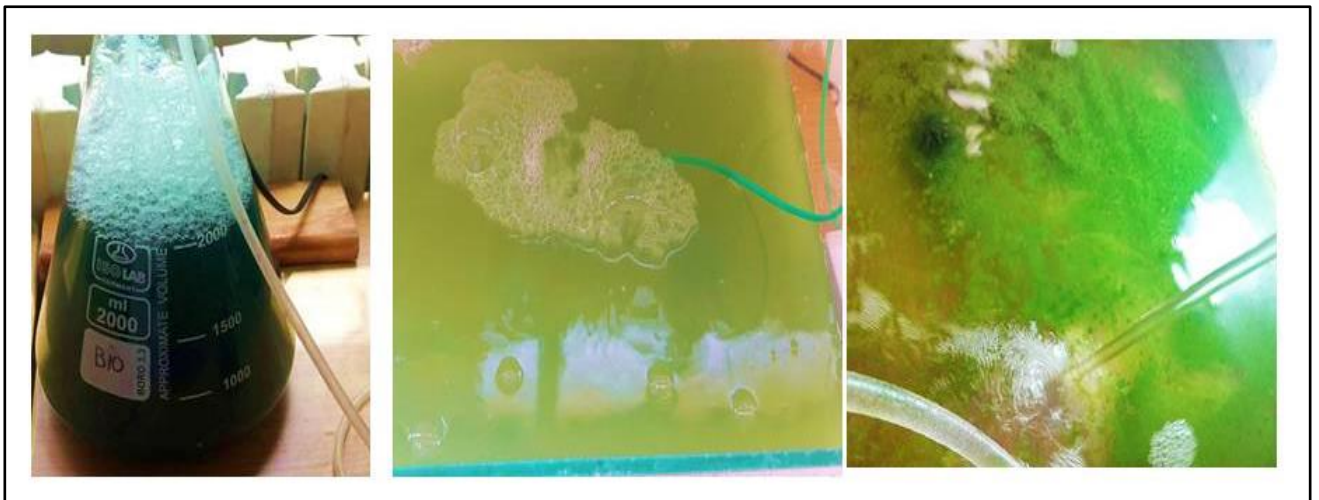


Figure 11 : Evolution de la couleur de la spiruline durant la culture (**originale, 2021**).

1.1. Estimation de la biomasse produite

La biomasse de la Spiruline analysée a été récoltée chaque 2 semaine pendant toute la période de culture *in-vitro*. Les valeurs correspondantes de la T°C, pH, la masse de la poudre ainsi la date ont été effectués en parallèle.

Tableau 09 : Les résultats des mesures de la température et du pH durant la récolte de la biomasse

Dates	T°C	pH	Volume d'eau en (ml)	La masse en (g)
07/04/2021	34	10.23	200	0.5
14/04/2021	33.8	10.16	200	1.1
22/04/2021	33.2	10	200	1.4
29/04/2021	32.8	9.98	200	2.3

2. Calcul du rendement de l'extrait d'*Arthrospira platensis*.

La macération de 20 g de la poudre d'*Arthrospira platensis* dans la solution hydro-éthanolique a permis d'obtenir un extrait sec de couleur verte foncée après avoir été séché au Rotavapor.

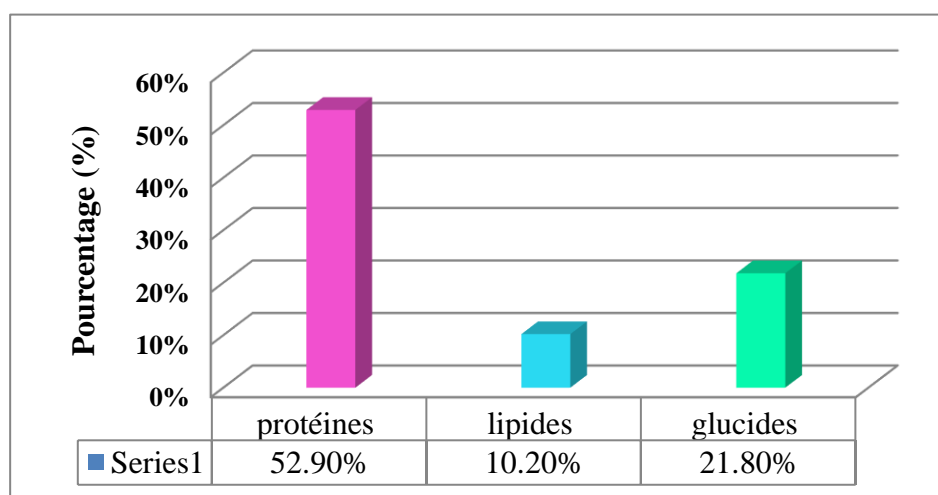
Le rendement de l'extrait a été déterminé par rapport au matériel végétal sec. Les résultats du calcul du rendement massique et le pourcentage obtenus sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Rendement d'extraction de la spiruline.

Rendement en masse	Pourcentage
0.85g	85.3%

2.1. Résultats de l'analyse biochimique

Les résultats obtenus du dosage des protéines, lipides totaux et glucides sont présentés dans la figure 12.





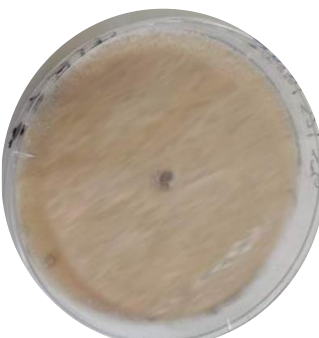
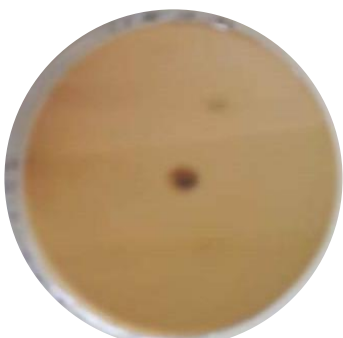
**Figure 12**: Taux des protéines, lipides et glucides contenant dans l'extrait de la spiruline.

3. Caractéristiques morphologiques et culturelles des isolats fongiques

3.1. Identification macroscopique

Cette étude nous a permis de distinguer cinq colonies de champignons. Les caractères macroscopiques des différentes souches sont étudiés sur milieu PDA et Sabouraud le plus communément utilisé à cet effet (Botton *et al*, 1990). Le tableau ci-dessous résume l'aspect macroscopique des colonies obtenues :

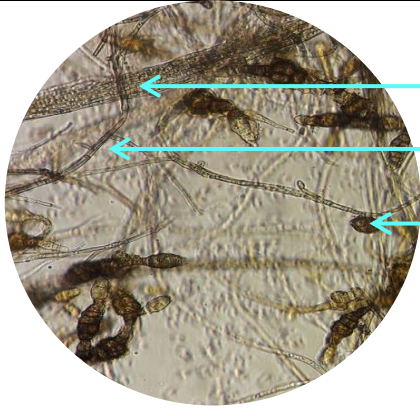
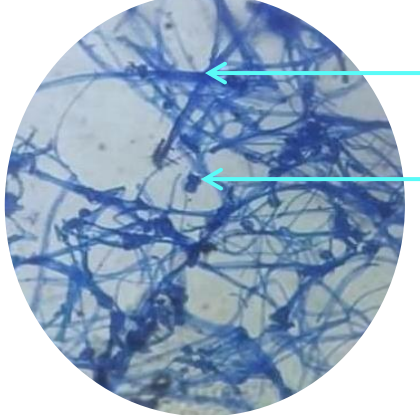
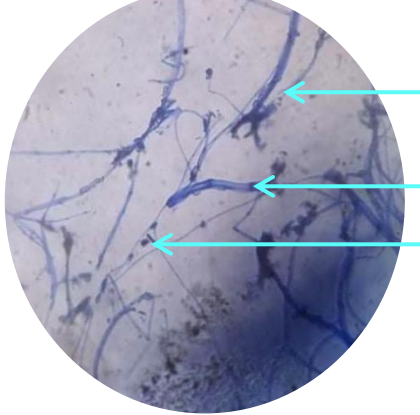
Tableau 11 : Aspect macroscopique des souches fongiques obtenues.

Espèces	Face supérieur	Face intérieur	Description
<i>Alternaria sp</i>			Colonie d'abord blanche puis noire verdâtre, duveteuse et présente une texture épaisse et dense. Verso : noire
<i>Scopulariopsis sp</i>			la colonie est extensive, veloutée, devenant vite poudreuses ou granuleuses. Initialement blanchâtres, elles deviennent ensuite beiges. Le revers est de couleur crème.
<i>Scytalidium sp</i>			colonies sont duveteuses, noires filaments sont de diamètre irrégulier. Certains sont hyalins (les plus étroits), pigmentés en brun, le revers et brunâtre.

3.2. Identification microscopique

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des cinq souches fongiques (Conidiospores, conidies et mycélium) sous microscope optique, l'observation des champignons est mis en évidence dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Aspect microscopique de souches fongiques obtenues.

L'espèce	Observation microscopique	Légendes
<i>Alternaria sp</i>		<ul style="list-style-type: none"> Conidiophore septé Hyphes cloisonnées Conidie
<i>Scopulariopsis sp</i>		<ul style="list-style-type: none"> Hyphes cloisonnées Conidies
<i>Scytalidium sp</i>		<ul style="list-style-type: none"> Hyphes Conidiophore Arthroconidies

4. Résultats de l'activité antifongique

Nous avons évalué l'effet antifongique de notre extrait de la spiruline par apport la diminution ou l'inhibition de la croissance mycélienne. Nous avons observé que le plus grand diamètre de la croissance mycélienne a été enregistré en absence de notre extrait (témoin), la croissance mycélienne est inversement proportionnelle avec la concentration de notre extrait. Les diamètres moyens de la croissance mycélienne de notre extrait pendant les 7 jours sont affichés dans la figure suivante :

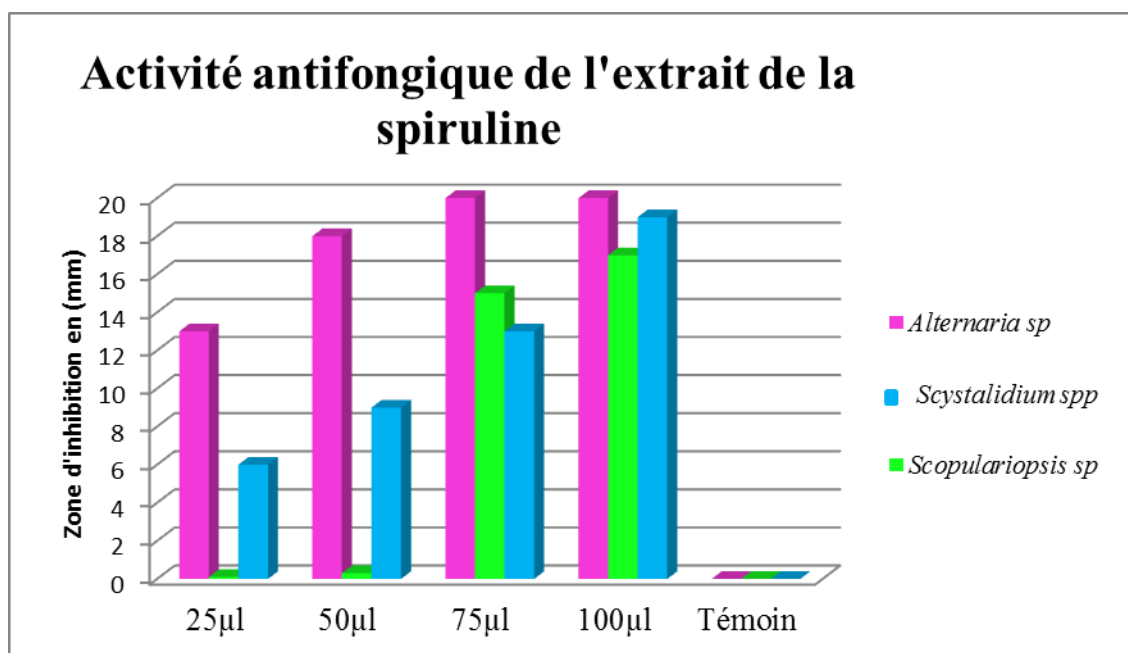


Figure 13 : Histogramme de l'effet antifongique de l'extrait de la spiruline sur les trois souches pathogènes.

Nos résultats montrent un effet inhibiteur fongicide et fongistatique contre les trois souches responsables de l'onychomycose pour la souche d'*Alternaria sp* une inhibition de 13 mm pour la concentration la plus faible 2.5mg/l et une inhibition maximale de 20mm pour la concentration 7.5mg/l et donc notre extrait présente un effet remarquable contre l'espèce *Alternaria sp*.

La souche *Scopulariopsis sp* présente une résistance contre les concentrations 2.5mg/l et 5 mg/l un effet inhibiteur très faible ne voir nul par rapport à la concentration de 7.5mg/l et 10mg/l un effet respectivement 13 mm et 17mm.

Pour *Scytalidium spp* une inhibition faible pour les concentrations 2.5mg/l, 5mg/l et 7.5mg/l avec des diamètres d'inhibitions 6mm, 9mm et 13mm la concentration la plus forte donne un effet inhibiteur de 19mm.

5. Discussion

La couleur de culture tournée au vert à partir du bleu-vert qui est caractéristique pour les cyanobactéries. Ce phénomène est dû à l'épuisement de l'azote dans le milieu de culture (Goksan et Zekruyaoulu, 2007), et lorsqu'il y a un déficit d'azote dans le milieu, la phycocyanine est utilisée en tant que source de N, qui est responsable de la couleur caractéristique bleu-vert, et la couleur vire au vert (Cohen, 1997; Sarada et al., 1998). En plus du déficit d'azote, la forte intensité lumineuse, ainsi la température élevée durant l'expérimentation, est fort probablement conduite au changement de couleur.

La Spiruline est un micro-organisme thermophile à une température de croissance optimale de 35 à 37 °C D'après Richmond (1986), la température est un facteur influence sur la croissance de la spiruline. La température initiale d'eau augmentée dans le primaire jour est d'environ 34°C donc elle était proche à l'optimum de 35°C pour la bonne croissance de la Spiruline, elle diminue jusqu'à 32.8°C mais reste largement supérieure à la limite inférieure de tolérance (20°C) de cet organisme d'après (Jordan,1999).

Bien que la Spiruline est un organisme vivant en milieu alcalin. Les valeurs de pH plus élevés obtenus dans l'expérience étaient de 10.23 cette valeur de pH n'est avérés ni pas nocive et cette dernière concordent avec l'étude de Richmond (1988). Qui montre que la valeur maximale du pH pour la croissance de la spiruline est de 10.30 La détermination du pH peut être utilisée comme un indicateur de l'activité de Photosynthèse.

Les concentrations de la spiruline en moyenne étaient de l'ordre d'une valeur minimale de biomasse est de 2.3 g/l. puis une valeur maximale de la concentration de biomasse est de 40 g/l.

Les analyses biochimique de l'extrait de la spiruline nous a permis d'obtenir une teneur de 21.8% des glucides cette résultat concorde avec l'étude faite par Jourdan (1999) indique que les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des spirulines.

Pour les lipides nous avons obtenus un taux de 10.2% Selon les publications de Girardin (2005), Ross et Dominy (1990) et Xue et al(2002). La valeur du poids sec en

lipides totaux varient de 5,6 à 11 % en poids, et même 14,3 % au maximum (**Babadzhanov et al., 2004**). Ces variations quantitatives mais aussi qualitatives sur la composition de ces lipides peuvent provenir de la méthode d'extraction et du moyen d'analyse utilisé ou simplement de la variété d'*Arthrospira platensis*.

La teneur en protéines brutes est l'un des critères utilisés pour évaluer la valeur nutritive d'un aliment. L'évaluation du taux de protéines brutes d'algue Spiruline révèle qu'elle contient environ **52.9%** de protéines. Cette valeur apparait inférieur au résultat de (**Jourdan, 1999**), où la valeur elle comprise entre 60 et 70% de son poids sec. Selon (**Falouet, 2006**), Cette différence peut être expliquée par l'influence de la différence dans les méthodes de culture, récolte, et conservation des échantillons trouvés.

L'isolement des souches pathogènes à partir des gens infectés nous a permis d'obtenir trois (3) souches fongiques *Alternaria sp Scopulariopsis sp. Et Scytalidium spp.*

Le genre *Alternaria* est parmi les moisissures cosmopolites les plus couramment isolées dans les onychomycoses (**Chabasse et Pihet, 2014**). Le mode d'attaque de l'ongle par cette moisissure est proche de celui des dermatophytes, mais l'évolution de l'onychomycose est plus lente et il y a rarement d'autres atteintes mycosiques associées (intertrigo). L'infection commence généralement au niveau distal ou éventuellement au niveau latéral de l'ongle et progresse vers le bord proximal (**Baran, 2004**).

Le genre *Scopulariopsis*, décrit par **Bainier en 1907** est principalement composé d'espèces telluriques, fréquemment retrouvées dans la nourriture et le papier, mais également présentées comme contaminant de laboratoires. Parmi les espèces de *Scopulariopsis* responsables de pathologies humaines, *Scopulariopsis brevicaulis* (**Hocquette et al., 2005**). Cette moisissure est connue de longue date comme agent d'onychomycose. Au départ, il s'agit d'une onychomycose disto-latérale. L'ongle présente des bandes de couleur blanchâtre, jaunâtre à brune. Elles sont déposées de façon longitudinale, côte à côte (**Chabasse et al., 2009**).

Les *Scytalidium spp* sont des moisissures kératinophiles appartenant au groupe des champignons à filaments septés. On distingue deux espèces pathogènes: *S. dimidiatum* et son variant non pigmenté *S. hyalinum*. En zone tropicale et subtropicale (Afrique, Amérique, Asie et Antilles), *S. dimidiatum* et *S. hyalinum* sont souvent responsables d'onxyis des mains et des pieds. Ces lésions étant comparables à celles occasionnées par les dermatophytes, *Scytalidium*

spp fait partie des moisissures appartenant au groupe des pseudodermatophytes. Concernant les atteintes palmaires, il faut préciser que pour *Scytalidium spp* celles-ci sont généralement bilatérales, contrairement aux dermatophytes qui eux, occasionnent une atteinte palmaire plutôt unilatérale (**Chabasse et al., 2009**).

Les études de l'effet antifongique des extraits de la spiruline et leurs applications sur les maladies mycosiques sont très rare, quelques travaux tels que l'étude d'**Usharani et al (2015)**. montre que l'extrait de la spiruline donne le diamètre d'inhibition le plus moins comparable aux d'autre solvant tel que l'extrait méthanolique qui est le mieux, et donc une efficacité antifongique modéré de l'extrait éthanolique par rapport aux autres extrait.

D'autre travail du **Rania et al (2008)**. Montre aucun effet antifongique de l'extrait de la spiruline, alors que leur extrait méthanolique montre un effet majeur contre ces pathogènes fongiques. D'après **Abedin et Taha (2008)**. Ces différences peuvent être due à l'espèce de la spiruline utilisée et aux espèces fongiques testés, ils ont utilisé l'extrait d'*Arthrospira platensis* et les souches fongiques *Aspergillus Sp* et *Candida Sp*.

Ce travail originale nous a permis d'adapter une technique de culture *in-vitro* et suivre de la spiruline *Arthrospira platensis* dans les conditions optimale de développement, et la récupération de la biomasse obtenu suivie par un séchage et broyage afin de la réalisation des analyses biochimiques pour la détermination du taux des protéines, lipides et glucides de cette cyanobactérie. Et l'extraction du produit algal afin de tester son activité antifongique contre trois souches pathogènes causales de l'onychomycose isolées à partir des gens infecté.

Les résultats de la culture de la spiruline montrent que la couleur est tournée au vert à partir du bleu-vert qui est caractéristique pour les cyanobactéries. Cette phénomène est expliquer par l'épuisement de l'azote dans le milieu de culture, ce qui met la spiruline en face de l'utilisation de la phycocyanine responsable de la couleur caractéristique bleu-vert tant que source de d'Azote.

La température initiale de l'eau de culture dans les premiers jours est d'environ **34°C** donc elle était proche à l'optimum de **35°C** pour la bonne croissance de la Spiruline, elle diminue jusqu'à **32.8°C** mais reste largement supérieure à la limite inférieure de tolérance **20°C**.

La Spiruline est un organisme vivant en milieu alcalin, maximale du pH pour la croissance de la spiruline est de **10.30** dans notre culture la valeur du pH à rester entre **10.23** et **9.98**.

Nous avons obtenu une biomasse de de 2.3 g/l. puis une valeur maximale de la concentration de biomasse est de 40 g/l.

L'extraction du 20g du produit algal nous ont permis d'avoir un rendement de 85% et les analyses biochimiques montrent que notre souche *Arthrospira platensis* a une teneur de **21.8%** des glucides avec un taux de **10.2%** des lipides, mais concernant les protéines la valeur été un peu faible **52.9%** par rapport aux normes d'autres études. Et cela peut être dû aux conditions culture, récolte, et conservation de l'échantillon.

L'isolement des souches pathogènes à partir des gens infectés nous a permis d'obtenir trois (3) souches fongiques *Alternaria sp Scopulariopsis sp. Et Scytilidium spp.*

L'effet antifongique des extraits de la spiruline et leurs applications sur les maladies mycosiques sont très rare, nous avons eus un fort effet inhibiteur pour la souche *Alternaria sp* de 13 mm pour la concentration la plus faible 2.5mg/l et une inhibition maximale de 20mm pour la concentration 7.5mg/l.

La souche *Scopulariopsis sp* semble d'être résistante, avec un diamètre d'inhibition de 13 mm pour la concentration la plus forte 10mg/l, Pour *Scytalidium spp* une inhibition modérée pour la concentration la plus forte donne un effet inhibiteur de 19mm.

Peu d'études sont réalisées sur l'effet antifongique de l'extrait de la spiruline et surtout sur les souches pathogènes causales de l'onychomycose, mais quelques-uns tels que l'étude faite par **Abedin et Taha (2008)**, montre que l'extrait de la spiruline donne le diamètre d'inhibition le plus moins comparable aux d'autre solvant tel que l'extrait méthanolique qui est le mieux, et donc une efficacité antifongique modéré de l'extrait éthanolique par rapport aux autres extrait.

Il serait important de faire :

- ✓ Une recherche et l'isolement des souches locales et les mettent en culture.
- ✓ De penser à la création des fermes aquacoles qui traite et pratique ce type de culture.
- ✓ étude approfondit et plus complet des principaux groupes chimiques potentiellement actifs.
- ✓ Etudes complémentaires, renforcer l'effet antifongique de la spiruline vis-à-vis les pathologies médicales.
- ✓ Réalisation d'autres activités de l'espèce *Arthrospira platensis*.

Références bibliographiques

A

A.D. V., 2007 - Annales de Dermatologie et de Vénérologie, Vol. 134:7-16.

Abd El Baky H. H., El-Baroty G.S. (2013). Healthy benefit of microalgal bioactive substances. Journal of Aquatic Science, 2013, Vol. 1, n° 1, p.11-2.

Abdelaziz A.M., Mahmoud K. M., Elsayy E.M., Bakr A.M., 2010 – Nail changes in kidney transplant recipients. Nephrology Dialysis Transplantation 25, (1) :274 -277.

Adou-Bryn K, Yeo N, Kassi E A, Ouhon J, Assoumou A, Penali KL, Koné M. Intertrigo interdigito-plantaire. Etiologie mycosique chez les militaires marins à Abidjan (Côte d'Ivoire). A propos de 200 cas. J Mycol Med. 1997:142- 144.

B

Babadzhanov A.S., Abdusamatova N., Yusupova F.M., Faizullaeva N., Mezhlumyan L.G. and Malikova M.Kh. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan . Chemistry of Natural Compounds. 2004; 40 (3): p. 276-279.

Baran R, Pierard E. Onychomycoses. Les abrégés. 2004; Paris, Masson: 278.

Barnett H., 1972. Illustrated genera of imperfect fungi . 3rd edition, Burgess Publishing Co, 273 pp.

Bolaños B. Dermatophyte feet infection among students enrolled in swimming courses at a university pool. Boletín De La Asociación Médica De Puerto Rico. 1991;83(5):181-4.

Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthier S, Guy P, Larpent JP, Reymond P, Sanglier JJ Vayssier, Y Veau, P 1990. Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle.

Boukenadel F., 2001. Contribution à l'étude de *Verticillium dahlia*, agent de la verticilliose
Bouanoun, D, Hilan, C, Carabeth, F, Sfeir, R, 2007. Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss Phytothérapie , p 129-134.

Boukachabine K. et Agoumi. A., 2005 - Onychomycosis in Morocco: experience of the parasitology and medical mycology laboratory from Rabat children hospital (1982-2003), Annales De Biologie Clinique 63, (6): 639–642.

Brayant, M.P., Pfenning , N., Hotl, J.G(EDS), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* , Vol.3,p.1771, Baltimore :William and Wilkins.

C

Castenholz R.W.,(1989). Subsection III,Order *Oscillatoriales* .In Stanley ,J.T. ,

Chabasse D, Pihet M, Bouchara J.P. Émergence de nouveaux champignons pathogènes en médecine. *Revue Francophone des Laboratoires* (2009) ; N°416:71-86.

Chabasse D, Bouchara J-P, De Gentile L, Brun S, Cimon B, Penn P. Les dermatophytes, *Cahier de formation en biologie médicale* N°31. 2004.

Chabasse D, Pihet M., 2014- Les onychomycoses à moisissures. *Journl Mycol Med,Vol.24:261- 268.*

Chabasse D., Contet-Audonneau N., Bouchara J.P., Anne-Marie B., 2008 - Moisissures, Dermatophytes, Levures : Du prélèvement au diagnostic. Editions bioMérieux.190p.

Chabasse D., Danies M., Guigueni C., 2010- Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Ed. Elsevier Masson, Paris, 504p

Charpy L., Langlade M. J., Alliod R., 2008 : La Spiruline peut-elle être un Atout pour la Santé et le Développement en Afrique ? Institut de recherche pour le développement, Marseille, p 6, 16.

Chauvin, M.F. (2011). Traitement des onychomycoses. *Rev. Francoph. Lab.* 2011, 71–75.

Chen C.Y., Chen Y.C., Huang H.C., Huang C.C., Lee W.L., Chang J.S., (2014). Engineering strategies for enhancing the production of eicosapentaenoic acid (EPA) from an isolated microalga *Nannochloropsis oceanica* CY2. *Biores Technol.*, vol. 147, p. 160-167.

Cohen Z., 1997. The chemicals of Spirulina. In: Vonshak A. ed. *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology. Taylor and Francis; London: pp. 175f204.

Cohen Z., Vonshak A., Richmond A.,(1997).Fatty acid coposition of spirulinaq trains grown under various environmental conditions. *Phytochemistry*, vol 26,p 2255-2258.

Contet-Audonneau N., 2005- Les Onyxis à Moisissures. *Revue Francophone des Laboratoires,Vol. 373 : 35-43.*

D

De philippis R. and Vincenzini M. 1998. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their applications possible. *FEMS.Micro.Review*.22: 151-175.

Delmas V., Brémond-Gignac D., 2008-Anatomie générale, Elsevier Masson, 366P.

Develoux M., Bretagne S., 2005-*Candidoses et levures diverses*, EMC – Maladies Infectieuses 2, (3): 123,129-133.

Develoux M., Bretagne S., 2005-*Candidoses et levures diverses*, EMC – Maladies Infectieuses 2, (3): 123,129-133.

Duy,T.N., Lam P.K.S.Shaw G.R.,CONNELL D.W., (2000). Toxicology and Risk Assessment of Freshwater Cyanobacterial (Blue –Green Algal) Toxins in Water , *Reviews of environmental Contamination and Toxicology* ,vol.163,p.113-186.

F

Falquet J., Hurni J.P., (2006).The nutritional aspect of Spirulina . Antenna technologies : www.antenna.ch/documents/1-25p.

Feuilhade M., 2011-Traitement des onychomycoses. *Revue Francophone des Laboratoires*,

Fox R.D. *Spiruline, Technique pratique et promesse*. Aix en provence: Edisud; 1999.

Fox,D.,1999. *Spiruline,Technique pratique et promesse*”, Aix en Provence:Edi.Sud,246p .

G

Gardeva E.G., Toshkova R.A., Yossifova L.S., Minkova K., Ivanova N.Y., Gigova L.G., (2014).Antitumor activity of C-phycoyanin from *Arthonema africanum*(Cyanophyceae).*Brazilian Archives of Biology and Technology*, vol. 57, p.675-684.

Girardin-Andréani C. Spiruline : système sanguin, système immunitaire et cancer. *Phytothérapie*. 2005; 4:p.158-161.

Goksan T, A et Zekruyaoulu, Ü.(2007): The Growth of *Spirulina platensis* in Different Culture Systems Under Greenhouse Condition .*Turk J Biol* : 47-52.

Grillot R. *Les Mycoses Humaines: démarche diagnostic*. Collection Option Bio. Editions Scientifiques et Médicales. 1996, Paris, Elsevier Masson: 392.

Guiraud J P (2003) Microbiologie alimentaire Edition: Dunod Paris 609p.

Gupta A.K., Jain H.C., Lynde C. W., Macdonald P., 2000-Prevalence and epidemiology of **Hocquette A, Grondin M, Bertout S, Mallié M.** Les champignons des genres *Acremonium, Beauveria, Chrysosporium, Fusarium, Onychocola, Paecilomyces, Penicillium, Scedosporium et Scopulariopsis* responsables de *hyalohyphomycoses*. Journal de Mycologie Médicale. (2005); (15):136-149.

J

Jordan P ,2006. Cultivez votre spiruline : manuel de culture artisanal Publication Antenna Technologies.

Jordan, 1999.Sugar as a source of carbon for spirulina (*Arthrospira platensis*) culture, international biotechnology, Inde, PPP58, 96,97.

Jourdan - Cultivez votre Spiruline. Manuel de culture artisanale pour la production de la spiruline. Publication Antenna Technologies (dernière mise à jour 1/3/2006) (2006).

K

Kashyap B, Bhalla P et Kaur R. Onychomycosis - epidemiology, diagnosis and management. Indian Journal of Medical Microbiology .2008; 26, no. 2 (2008): 108.

Kimura U., Takeuchi K., Kinoshita A., Takamori K., Hiruma M., Suga Y., 2012-Treating onychomycosis of the toenail: clinical efficacy of the sub-millisecond 1,064 nm Nd: YAG laser using a 5 mm spot diameter. Journl Drugs Dermatol, Vol. 11:496-504.

L

Lanouette P. Le Médecin du Québec 2011 ; 40: 67-70.

Lavoie I., Laurion I., Warren A ., Vincent W.F ., (2007). Les fleurs d'eau de Cyanobactéries, revue de littérature.INRS rapport no 916, xiii ,124 p.

Lebeaux D., Lanternier F., Lefort A., Lecuit M., 2009 -Risque infectieux fongique au cours des maladies systémiques. *La Presse Médicale*, Vol. 38, (2): 260-273.

M

Marangoni A, Foschi C, Micucci M, NahuiPalomino RA, GallinaToschi T, Vitali B, et al.In vitro activity of *Spirulina platensis* water extract against different *Candida* species isolated from vulvo-vaginal candidiasis cases. Sturtevant J, éditeur. PLOS ONE. 30 nov 2017;12(11):e0188567.

Monod, M., Lurati, M., and Baudraz-Rosselet, F. (2013). Diagnostic des onychomycoses à moisissures et importance pour le traitement - revmed. Rev. Médicale Suisse 9, 730–733.

N

Nzenze A.Z., Ngoungou E.B., Mabikamamfoumbi M., Bouyouakotet M.K., Avomemba I.M, Kombila J.,2011-Les onychomycoses au Gabon : aspects cliniques et mycologiques. Journal de Mycologie Médicale., 21(4) : 248–255.

O

Ogasawara Y., Hiruma M., Muto M. Ogawa H., 2003 - Clinical and mycological study of onychomycosis in patients visiting physicians' offices: a multicenter canadian survey of 15,000 patients, *Journal Of The American Academy Of Dermatology* 43,(2 Pt 1):244-248.

P

Pulz O., Gross W. Valuable products from biotechnology of microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology. 2004; 65: p. 635-648.

R

Rania M.A. Abedin and Hala M. Taha, Antibacterial and Antifungal Activity of Cyanobacteria and Green Microalgae, Evaluation of Medium Components by PlacketBurman Design for Elucidation and Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis*. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry, 3(1): 22-31.2008.

Richmond A., (2004). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology .Blackwell Science Ltd. (3-4): 114-119.

Richmond A., 1986.Microalgae of economic potentials. In Richmond, A. (ed.) Handbook of algal mass culture, CRC Press, Florida. pp. 199-243.

RichmondA.,(1988).Spurilina. In : Borowitzka M. A., Borowitzka L. J.(Eds), MicroalgalBiotech.Cambridge University Press, Cambridge, pp 85-121. Marines Université de Toliara, Toliara Madagascar. 160 p.

Ross E., Dominy W. The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry .Poultry Science. May 1990; 69 (5): p. 794-800.

S

Sall M.G, Dankoko B., Badiane M., Ehua E. et Kuakuwin N. *Résultats d'un essai de*
Sarada R, Pillai MG and Ravishankar GA., 1998. Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. *Process Biochemistry* 34: 795- 801.

Sataneke C., 2014- La petite affection du pied : Prise en charge à l'officine. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie, 106p.

Scrivener J.N., 2011 - Onychomycoses : épidémiologie et clinique. *Revue Francophone des*
Sguera S ., (2008). *Spirulina platensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activité thérapeutiques.* Thèse de Doctorat , Université Henri Poincaré-Nancy 1 Faculte De pharacie .162p.

Shalaby E.A., Shanab S.M.M., (2013). Antiradical and antioxidant activities of different *Spirulina platensis* extracts against DPPH and ABTS radical assays. *J Mar BiolOceanogr.*, vol.2, n°1, p.1-8.

Shemer-Trau H., Davidovici B., Grunwald M.H., 2008 - *Onychomycosis due to artificial*
Soorajee A., 2012- Rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge des onychomycoses. Adaptation des stratégies selon l'origine géographique. Thèse de doctorat, faculté de Pharmacie., Lorraine. 155p.

T

Tabara K , Anna E Szewczyk, Wojciech Bienias, Agnieszka Wojciechowska, Marta Pastuszka , Magdalena Oszukowska , Andrzej Kaszuba . Amorolfine vs. ciclopirox - lacquers for the treatment of onychomycosis. 2015 Feb;32(1):40-5. doi: 10.5114/pdia.2014.40968. Epub 2015 Feb 3.

Thomazeau S., (2006). Diversité phylogénétique et toxinique des cyanobactéries du Sénégal et du Burkina Faso.Mémoire de Master , Université Pierre et Marie Curie- Paris 6,44p.

U

Usharani, G. Srinivasan, S. Sivasakthi and P. Saranraj, Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis* Solvent Extracts Against Pathogenic Bacteria and Fungi, *Advances in Biological Research* 9 (5): 292-298, 2015.

V

Viguié-Vallanet C., et Bonnet C., 2014 - Dermatomycoses métropolitaines (hors pityriasis versicolor). EMC- Dermatologie 98 :380-390.

Vo T-S., Ngo D-H., Kim S-K., (2015).Nutritional and pharmaceutical properties of microalgal spirulina.Chapter 19.Handbook of Marine Microalgae.*Biothechnology advanced*. 585 p Copyright © 2015 Elsevier Inc.*Vol. 432: 71-75.*

Vonshak A., (2000).*spirulina platensis* (arthrospira) Physiology , cell-biology and biotechnology .Copyright Taylor & Francis Ltd.252p.

W

Walling Hobart W., 2009 - Primary hyperhidrosis increases the risk of cutaneous infection: a case-control study of 387 patients. Journal of the American Academy of Dermatology,Vol61(2): 245-246.

X

Xue C., Hu Y., Saito H., Zhang Z., Li Z., Cai Y., Ou C., Lin H., Imbs A. Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*. Food Chemistry. 2002; 77: p. 9.13.

Annexe I

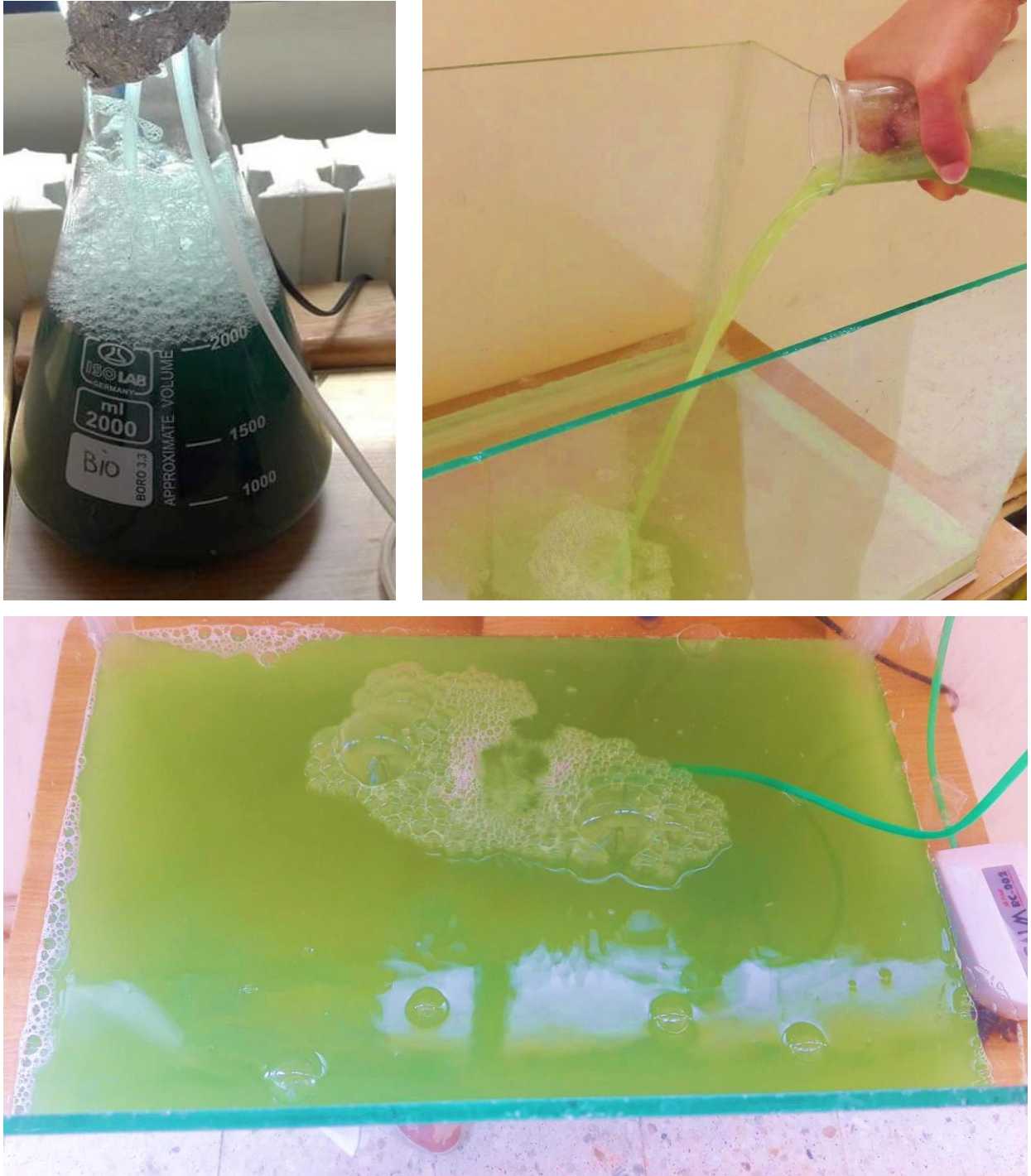


Figure 14 : préculture et ensemencement de la spiruline (originale, 2021).

Annexe II

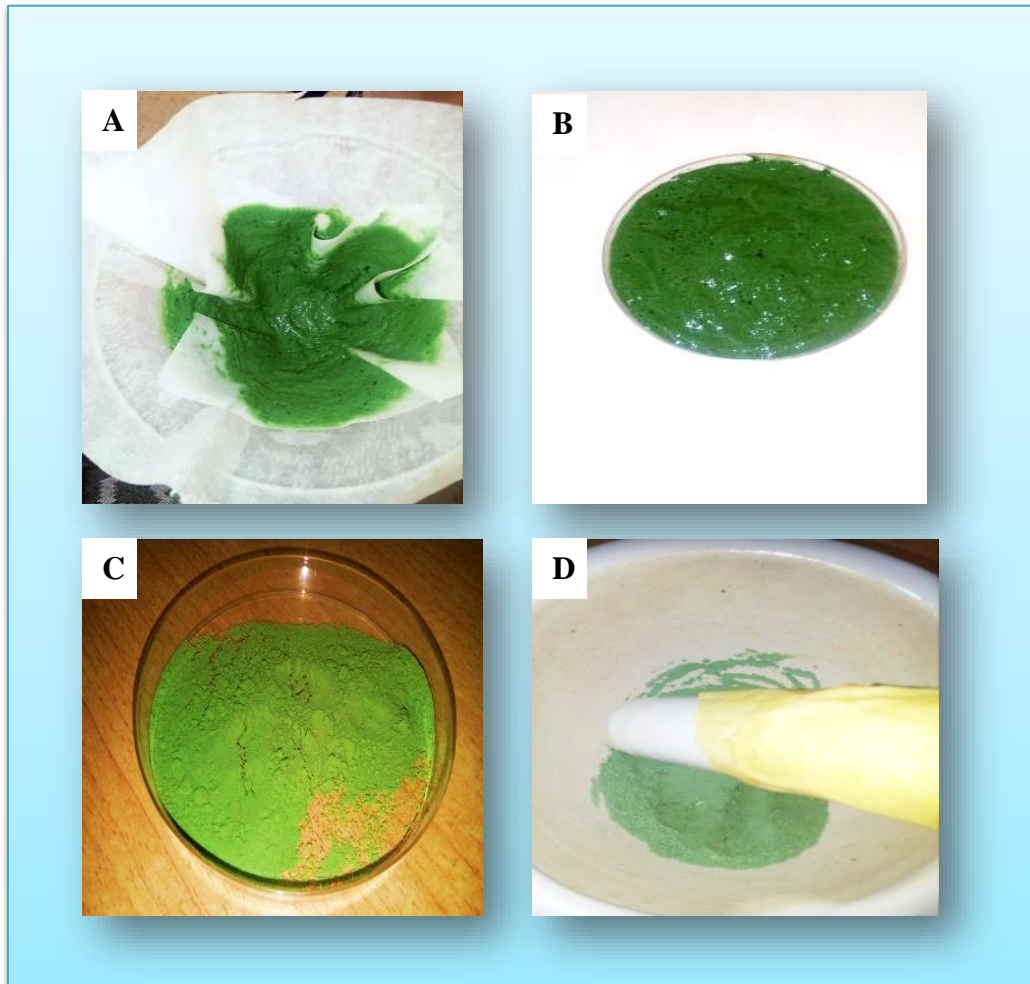


Figure 15 : (A) Filtration ; (B) Obtention de la biomasse ; (C) Séchage ; (D) broyage (originale, 2021).

Annexe III

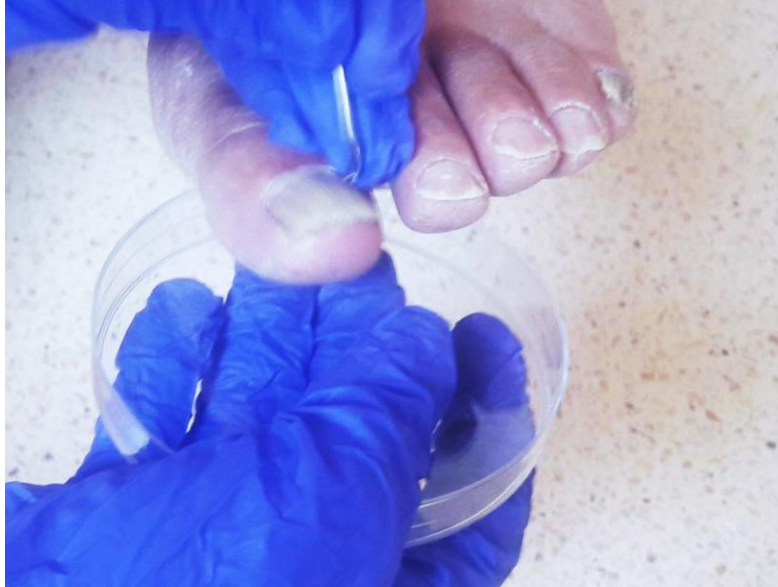


Figure 16 : Prélèvement mycologique unguéal (originale, 2021).



Figure 17 : Mise en culture des échantillons (originale, 2021).

Résumé

Ce travail original nous a permis de produire et suivre *in-vitro* de la spiruline *Arthrospira platensis* et la récupération de la biomasse obtenu suivi par un séchage et broyage afin de réaliser des analyse biochimique pour la détermination des taux de protéines, lipides et glucides, et l'obtention de l'extrait éthanolique pour le tester sur trois souches pathogènes causales de l'onychomycose.

A vu des résultats obtenus de la culture de la spiruline nous constatons que la couleur est tournée du bleu-vert au vert foncé cela est expliqué par l'utilisation de la phycocyanine qui est responsable de cette couleur caractéristique bleu-vert tant que source de d'Azote.

La température est optimale 35°C pour la bonne croissance de la spiruline notre culture avais une température entre 34 °C et 32,8. Le pH maximal pour la croissance de la spiruline est de 10.30 dans notre culture la valeur de la Spiruline est resté entre 10.23 et 9.98.

Nous avons obtenu un rendement de 85% de l'extrait de la spiruline, concernant le teste de l'activité antifongique contre les trois souches pathogènes isolées. L'isolement des souches pathogènes à partir des gens infectés nous a permis d'obtenir trois (3) souches fongiques *Alternaria sp* ; *Scopulariopsis sp*. Et *Scytalidium spp*.

L'effet antifongique de l'extrait de la spiruline présente un effet inhibiteur de la croissance de 13 mm la concentration la plus faible 2.5mg/l et une inhibition maximale de 20mm pour la concentration 7.5mg/l. pour la souche *Alternaria sp*. La souche *Scopulariopsis sp* semble d'être résistante, avec un diamètre d'inhibition de 13 mm pour la concentration la plus forte 10mg/l, et une inhibition modérée pour la concentration la plus forte donne un effet inhibiteur de 19mm Pour *Scytalidium spp*.

Il serait important de faire une étude approfondit sur l'activité biologique des extraits de la spiruline vis-à-vis les pathologies médicales, et la détermination des principaux groupes chimiques potentiellement actifs. Un développement des méthodes et moyens de culture de la spiruline et d'autre espèces locales bénéfiques.

Mots clés : culture *in-vitro*, la spiruline *Arthrospira platensis*, extrait éthanolique, analyse biochimique, onychomycose, souches pathogènes, activité antifongique.

ملخص

سمح لنا هذا العمل الأصلي بإنتاج ومتابعة سبيرولينا *Arthrospira platensis* في المختبر واستعادة الكتلة الحيوية التي تم الحصول عليها متبوعاً بالتجفيف والطحن من أجل إجراء تحليل كيميائي حيوي لتحديد مستويات البروتينات والدهون والكربوهيدرات ، والحصول على المستخلص الإيثانولي. لاختباره على ثلاث سلالات ممرضة تسبب فطار الأظافر.

في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها من ثقافة سبيرولينا نلاحظ أن اللون تحول من اللون الأخضر المزرق إلى الأخضر الداكن لشرح استخدام الفيكوسيانين المسؤول عن هذا اللون الأزرق والأخضر المميز كمصدر للنيتروجين.

درجة الحرارة المثلى هي 35 درجة مئوية للنمو الجيد للسبيرولينا كانت درجة حرارة ثقافتنا بين 34 درجة مئوية و 32.8 درجة مئوية. الحد الأقصى لدرجة الحموضة لنمو السبيرولينا هو 10.30 في ثقافتنا ، وظلت قيمة السبيرولينا بين 10.23 و 9.98.

حصلنا على عائد 85% من مستخلص السبيرولينا ، فيما يتعلق باختبار النشاط المضاد للفطريات ضد السلالات الثلاثة المسببة للأمراض المعزولة من الأشخاص المصابين. سمح عزل السلالات المسببة للأمراض من الأشخاص المصابين بالحصول على ثلاث (3) سلالات فطرة

Scytalidium spp و *Scopulariopsis sp* ؛ *Alternaria sp*

يظهر التأثير المضاد للفطريات لمستخلص السبيرولينا تأثير مثبط للنمو يبلغ 13 مم عند أدنى تركيز 2.5 مجم / لتر وأقصى تثبيط 20 مم للتركيز 7.5 مجم / لتر. لسلالة *Alternaria sp* يبدو أن سلالة *Scopulariopsis sp* مقاومة ، بقطر تثبيط يبلغ 13 مم لأعلى تركيز 10 مجم / لتر ، والتثبيط المعتدل لأعلى تركيز يعطي تأثيراً مثبطاً قدره 19 مم لـ *Scytalidium spp*.

سيكون من المهم إجراء دراسة متعمقة حول النشاط البيولوجي لمستخلصات سبيرولينا ضد الأمراض الطبية ، وتحديد المجموعات الكيميائية الرئيسية التي يحتمل أن تكون نشطة. تطوير طرق ووسائل استزراع السبيرولينا والأنواع المحلية الأخرى المفيدة.

الكلمات المفتاحية: الزرع في المختبر ، سبيرولينا *Arthrospira platensis* ، المستخلص الإيثانولي ، التحليل الكيميائي الحيوي ، فطار الأظافر ، السلالات المسببة للأمراض ، النشاط المضاد للفطريات.

Abstract:

This original work allowed us to produce and follow *in-vitro* spirulina *Arthrospira platensis* and recovery of the biomass obtained followed by drying and grinding in order to carry out biochemical analysis for the determination of the levels of proteins, lipids and carbohydrates, and obtaining the ethanolic extract to test it on three pathogenic strains causative of onychomycosis.

In view of the results obtained from the culture of spirulina we note that the color is turned from blue-green to dark green is to explain the use of phycocyanin which responsible for this characteristic blue-green color as a source of nitrogen .

The temperature is optimal 35 ° C for the good growth of spirulina our culture had a temperature between 34 ° C and 32.8. The maximum pH for the growth of spirulina is 10.30 in our culture the value of Spirulina has remained between 10.23 and 9.98.

We obtained an 85% yield of the spirulina extract, concerning the test of antifungal activity against the three pathogenic strains isolated from infected people. Isolation of pathogenic strains from infected people allowed us to obtain three (3) fungal strains *Alternaria sp*; *Scopulariopsis sp*. And *Scytalidium spp*.

The antifungal effect of the spirulina extract shows a growth inhibitory effect of 13 mm at the lowest concentration 2.5 mg / l and a maximum inhibition of 20 mm for the concentration 7.5 mg / l. for the strain *Alternaria sp*. The strain *Scopulariopsis sp* appears to be resistant, with an inhibition diameter of 13 mm for the highest concentration 10mg / l, and moderate inhibition for the highest concentration gives an inhibitory effect of 19mm For *Scytalidium spp*.

It would be important to do an in-depth study on the biological activity of spirulina extracts against medical pathologies, and the determination of the main potentially active chemical groups. Development of methods and means to produce spirulina and other beneficial local species.

Key words: *in-vitro* culture, spirulina *Arthrospira platensis*, ethanolic extract, biochemical analysis, onychomycosis, pathogenic strains, antifungal activity.

Introduction

Chapitre I

Les onychomycoses.

Chapitre II

Généralités sur la spiruline

Arthrospira platensis.

Chapitre III

Matériel et méthodes

Chapitre IV

Résultats et discussion

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes