

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

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Microbiologie Appliquée*

### THEME

---

**Etude du pouvoir antifongique de l'acide indole 3-  
acétique sur *Candida albicans***

---

**Présenté par :**

**M<sup>lle</sup>. ABIDI Fatma Zohra**

**M<sup>lle</sup>. BENZIANE Zahra**

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	M. BENACEUR Farouk	MCB	Université Amar Télidji-Laghouat
<b>Rapporteur :</b>	M. GOUZI Hicham	prof	Université Amar Télidji-Laghouat
<b>Examineur :</b>	M. ZERROUKI Houcine	MAA	Université Amar Télidji-Laghouat

**Soutenu publiquement le, 18 Juin 2019**

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*À mes très chers parents, avec tous mes remerciements et ma gratitude pour leur amour et leur soutien moral qu'ils m'ont prodigué durant tout mon étude*

*Que dieu les protègent et leur donne bonne santé*

*À mes chers frères : Billaal et Islam*

*À ma belle sœur : Habiba*

*À mon amie : zahra*

*À toutes mes amis*

*À tous les membres de ma famille*

*À tous mes enseignants de puis le primaire jusqu'à  
l'université*

*Fatma Zohra.*

## *Dédicaces*

*Je dédie mon modeste travail à mes parents les personnes les plus chers au monde, Ils sont l'exemple à mes yeux.*

*Que Allah les protège et les offre une longue vie et une bonne santé*

*Ma sœur unique nadjoua(je t'aime beaucoup)*

*Mes frères (mhamed ,yahia et bachir)*

*A toute ma famille*

*Tous mes proches*

*A mon binôme fatma Zohra*

*A tous ceux que j'aime*

*Zahra*

# ***Remerciements***

*Avant tout, on remercie, Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.*

*Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude notre encadreur Monsieur GOUZI Hicham, qui a accepté de nous encadrer et diriger ce travail.*

*Nous le remercions pour sa patience, son aide très précieuse et ses corrections sérieuses.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont à Monsieur BENACEUR Farouk, pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Un grand merci à Monsieur ZERROUKI Houcine, qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Nous tenons également à remercier tous les étudiants de notre promotion (2019-2020)*

*Nos remerciements vont également à tous les techniciens des laboratoires pédagogiques de Biochimie et Microbiologie de l'Université Amar Télidji-Laghouat  
Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

# Sommaire

---

	<i>Page N°</i>
Dédicace.....	<i>I</i>
Remerciements.....	<i>II</i>
Résumé.....	<i>III</i>
Liste des abréviations.....	<i>IV</i>
Liste des figures .....	<i>V</i>
Liste des photos .....	<i>VI</i>
Liste des tableaux.....	<i>VII</i>
Introduction.....	<i>I</i>

## Synthèse bibliographique

### Chapitre 1. Généralités sur *Candida albicans* et les candidoses

1. <i>Candida albicans</i> .....	3
1.1 Définition.....	3
1.2 Taxonomie.....	3
1.3 Caractères morphologiques.....	3
1.4 Habitat.....	4
1.5 Reproduction.....	5
1.6 Pathogénicité.....	6
2. Les candidoses.....	7
2.1 Aspect clinique.....	7
2.1.1 Les candidoses superficielles.....	7
2.1.2 Les candidose profondes.....	9
2.2 Facteur prédisposant a l'infection candidosique.....	10
2.3 Diagnostic biologique.....	11

### Chapitre 2 : Les antifongiques

1. Généralités sur les antifongiques.....	13
2. Cibles des antifongiques.....	13
3. Les différentes classes des antifongiques.....	14
3.1. Les polyènes.....	14
3.2. Les azolés.....	15
3.3. Flucytosine.....	16
3.4. Echinocandines.....	16
4. Traitements antifongiques.....	17

## *Sommaire*

---

5. Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques.....	18
<b>Matériel et méthodes</b>	
1. Matériel.....	19
1.1 Matériel biologique.....	19
1.1.1 Souche fongique <i>Candida albicans</i> .....	19
1.1.2 Les produit chimiques et milieux de culture.....	19
2. Méthode.....	19
2.1 Test de sensibilité de la souche.....	19
2.2 Détermination de l'activité antifongique de l'acide indole acétique.....	19
2.2.1 Méthode de disques.....	19
2.2.2 Méthode des puits.....	20
2.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice : CMI.....	20
<b>Résultats et discussion</b>	
1. Etude de l'effet de la nystatine sur <i>Candida albicans</i> .....	21
2. Effet antifongique de l'AIA sur <i>Candida albicans</i> .....	22
2.1 Méthode de diffusion en milieu solide.....	22
2.2 Evaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	24
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	26
<b>Références bibliographiques</b> .....	27
<b>Annexe</b>	

**Résumé :** Les levures pathogènes du genre *Candida* peuvent causer une infection grave chez l'homme et sont reconnues comme des agents majeurs des infections nosocomiales. Le but de notre travail est d'évaluer pour la première fois l'activité antifongique de l'acide indole-3-acétique vis-à-vis d'une souche de référence *Candida albicans* (IP444) par deux techniques de diffusion sur milieu solide sabouraud. La nystatine, un médicament antifongique, a été utilisée comme témoin positif au cours de notre étude. L'acide indole acétique possède une activité anticandidosique plus ou moins importante qui est faible par rapport à la nystatine. Les diamètres des zones d'inhibition obtenu avec la nystatine allant jusqu'à 37.50 mm tandis que l'acide-3- indole acétique a une activité antifongique, avec des diamètres des zone d'inhibition compris entre 11 et 37 mm. Les valeurs de la CMI pour la nystatine et l'acide indole acétique sont 12.8 mg/mL et 12 mg/disque respectivement. L'acide indole acétique est un composé naturel peut être utilisé comme un nouveau agent antifongique pour le traitement des candidoses.

**Mots clés :** *Candida albicans*, acide indole-3-acétique, activité antifongique, CMI.

**ملخص:** الخمائر المسببة للأمراض من جنس *Candida* يمكن أن تسبب التهاب خطير للبشر ، ويتم التعرف عليها كعوامل رئيسية لعدوى المستشفيات. الهدف من عملنا هو تقييم النشاط المضاد للفطريات لحمض -3 الإندول الخلي لأول مرة ضد سلالة مرجعية *Candida albicans* (IP444) من خلال تقنيتي انتشار متوسط صلب. سابورو. تم استخدام مضاد حيوي نيساتين ، وهو مضاد للفطريات ، كعنصر تحكم إيجابي في دراستنا. يحتوي حمض الإندول على نشاط مضاد للأدوية أكثر أو أقل أهمية وهو ضعيف مقارنة بالنيساتين. بأقطار مناطق التثبيط التي تم الحصول عليها من مادة النيساتين تصل إلى 37.50 مم ، في حين أن حمض الأسيتيك ثلاثي الإندول له نشاط مضاد للفطريات ، بأقطار منطقة تثبيط ما بين 11 و 37 مم. تبلغ قيم CMI الخاصة بحمض الإندول و النيساتين 12 مليجرام / مل و 12.8 ملغ / قرص على التوالي. حمض الإندول هو مركب طبيعي يمكن استخدامه كعامل جديد مضاد للفطريات لعلاج داء *Candida*

**الكلمات المفتاحية :** *Candida albicans*، حمض الإندول الخلي ، النشاط المضاد للفطريات, CMI .

**Abstract:** Pathogenic yeasts of the genus *Candida* can cause a serious infection in humans and are recognized as major agents of nosocomial infections. The purpose of our work is to evaluate for the first time the antifungal activity of indole-3-acetic acid against a *Candida albicans* reference strain (IP444) by two solid medium diffusion techniques. Nystatin was used as a positive control anti-fungal drug. Indole acetic acid has a more or less important anticandidosis activity which is weak compared to nystatin. The diameters of the inhibition zones obtained with nystatin up to 37.50 mm while the 3-indole acetic acid has antifungal activity, with diameters of the inhibition zone of between 11 and 37 mm. The CMI values for nystatin and indole acetic acid are 12.8 mg / mL and 12 mg / disc respectively. Indole acetic acid is a natural compound that can be used as a new antifungal Agent for the treatment of candidiasis.

**Key words:** *Candida albicans*, indole-3-acetic acid, antifungal activity, CMI.

## *Liste des abréviations*

---

- AIA** : Acide indole-3-acétique
- ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- ARN** : Acide Ribonucléique
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- CO** : Candidose osophagienne
- COP** : Candidose oro-Pharyngée
- °C** : Degrés Celsius
- DO** : Densité optique
- IP** : Institut Pasteur
- MGG** : Coloration de May-Grünwald-Giemsa
- MTL**: Mating Type Locus
- nm**: Nanomètre
- PAP** : papanicolaou
- PAS** : Acide périodique et Réactif de Schiff
- PCB** : Milieu de culture Pomme de terre, Carotte et Bile
- pH** : Potentiel hydrogène
- qsp** : quantité suffisante pure
- RA** : milieu de culture Riz-Agar
- RAT** : milieu de culture Riz-Agar et Tween
- SIDA**: Syndrome de l'immunodéficience Acquis
- µl**: Microlitre
- µm** : Micromètres
- VIH** : Virus immunodéficience humain
- %** : Pourcent

## *Liste des figures*

---

<b>Figure N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Morphologie de <i>Candida albicans</i> .....	<b>04</b>
<b>2</b>	Cycle reproductif des levures du genre <i>Candida</i> .....	<b>06</b>
<b>3</b>	Muguet à <i>Candida</i> .....	<b>07</b>
<b>4</b>	Candidose oesophagienne.....	<b>08</b>
<b>5</b>	Intertrigo interdigital candidosique.....	<b>09</b>
<b>6</b>	Septicémie à levures.....	<b>10</b>
<b>7</b>	Structure chimique de l'Amphotéricine B.....	<b>14</b>
<b>8</b>	Structure chimique de la nystatine.....	<b>14</b>
<b>9</b>	Dérivés azolés.....	<b>15</b>
<b>10</b>	Structure chimique de 5- fluorocytosine.....	<b>16</b>
<b>11</b>	Structure chimique de caspofungine.....	<b>16</b>
<b>12</b>	Schématisation des potentiels mécanismes moléculaires de résistance des champignons aux antifongiques.....	<b>18</b>

---

## *Liste des photos*

---

<b>Figure N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Résultats de l'effet de la nystatine sur <i>Candida albicans</i> IP444 déterminé par la méthode de puits.	<b>21</b>
<b>2</b>	Résultats de l'effet de la nystatine sur <i>Candida albicans</i> IP444 déterminé par la méthode de disques.	<b>21</b>
<b>3</b>	Résultats de l'effet de l'acide indole-3-acétique sur <i>Candida albicans</i> (IP444) déterminé par la méthode de diffusion sur disque	<b>22</b>
<b>4</b>	Résultats de l'effet de l'acide indole-3- acétique sur <i>Candida albicans</i> (IP444) déterminé par la méthode de diffusion sur puits	<b>23</b>
<b>5</b>	Résultats de l'effet de l'acide indole-3- acétique sur <i>Candida albicans</i> (IP444) déterminé par la méthode de diffusion sur disque.	<b>24</b>
<b>6</b>	Résultats de l'effet de l'acide-3-indole acétique sur <i>Candida albicans</i> (IP444) déterminé par la méthode de diffusion sur puits	<b>24</b>

---

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Cibles primaires et mode d'action de plusieurs antifongiques	<b>17</b>
<b>2</b>	Résultats de l'effet de la nystatine sur <i>Candida albicans</i> IP44	<b>22</b>
<b>3</b>	Résultat de la méthode des disques de l'effet antifongique de l'AIA sur <i>Candida albicans</i> IP444	<b>23</b>
<b>4</b>	Résultats de la méthode des puits de l'effet antifongique de l'AIA sur <i>Candida albicans</i> IP444	<b>23</b>
<b>5</b>	Résultat de la détermination de CMI par la méthode de disque de l'effet de l'AIA sur <i>Candida albicans</i>	<b>24</b>
<b>6</b>	Résultat de la détermination de CMI par la méthode de puits de l'effet de l'AIA sur <i>Candida albicans</i>	<b>25</b>

---

# *Introduction*

Au cours des 20 dernières années, le nombre d'infections fongiques invasives est en progression, en raison de l'augmentation du nombre de patients en état d'immunodépression sévère. Les candidoses sont les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine (Sekkat et *al.*, 2015 ).

L'accroissement des infections fongiques, notamment celles qui sont dues à la prolifération du genre *Candida*, parmi les patients immunodéprimés (patients ayant subi une transplantation d'organes et donc soumis à un traitement immunosuppresseur, patients immunodéprimés à la suite d'un traitement antimitotique ou d'une infection par le VIH) et le développement de souches résistantes aux médicaments utilisés soulignent la nécessité de la découverte de nouveaux agents antifongiques (Giordani et Kaloustian, 2006).

Les espèces de *Candida* sont un bon exemple; bien qu'ils soient considérés comme un micro-organisme commensal, vivant sans à-coups dans les plis et les crevasses chauds internes du tractus gastro-intestinal, ils peuvent causer des problèmes, principalement des infections vaginales (Brunke et Hube, 2013; Tsai et *al.*, 2013).

Les espèces *Candida* sont classées comme ayant une importance médicale majeure, à savoir *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilose*, *Candida stellatoidea*, *Candida krusei* et *Candida kyfer*, *Candida albicans* étant le plus important (Silva et *al.*, 2011; Sullivan et *al.*, 2004; Westwater et *al.*, 2007).

En effet, le développement d'une candidose est une complication hospitalière particulièrement redoutée en raison du risque de mortalité élevé (40 à 60%). *Candida albicans* est la cause principale des candidoses rencontrées. Le spectre des pathologies déterminées s'étend des mycoses superficielles aux infections profondes pouvant survenir en milieu hospitalier. Ces infections profondes peuvent affecter tous les organes avec un taux de morbidité et de mortalité important (Sekkat et *al.*, 2015 ).

Les infections à *Candida albicans*, autrefois opportunistes, est en passe de devenir une préoccupation majeure en raison de la multiplication du nombre de patients fragiles (multi-opérés, immunodéprimés, etc.), des problèmes de résistance de certaines souches aux médicaments usuels et de la cytotoxicité des antifongiques systémiques.

Face à ces constats, la recherche de nouveaux antifongiques naturels s'est avérée nécessaire et s'est orientée vers les molécules bioactives (Koffi et *al.*, 2013). Par conséquent, l'objectif principal de cette étude est d'évaluer le pouvoir antifongique d'acide indole 3-acétique (AIA) comme produits anticandidosiques. Dans cette perspective, les axes abordés dans ce travail sont les suivants :

- Évaluation de l'activité anticandidosique d'AIA par la technique de disque et de puits sur milieu solide sur *Candida albicans* (IP 444).
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'AIA.

Ce manuscrit comporte trois principales parties et sera séquencé comme suit :

La première partie concerne une synthèse bibliographique sur *Candida albicans* et candidose puis des généralités sur les antifongiques. La deuxième partie illustre le matériel biologique et les méthodes utilisés pour répondre aux objectifs fixés. La troisième partie décrit les résultats trouvés et leur comparaison avec ceux cités dans la littérature. L'étude est achevée par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et éventuellement des perspectives d'avenir.

# *Synthèse bibliographique*

*Généralités sur Candida  
albicans et les candidoses*

## 1. *Candida*

### 1.1 Définition

Les *Candida* sont des champignons levuriformes polymorphes se reproduisant par bourgeonnement. C'est une levure non capsulée, non pigmentée et aérobique, diploïde pouvant mesurer de 3 à 15  $\mu\text{m}$ . Elles sont fréquemment retrouvées dans les muqueuses et sur la peau, c'est pourquoi elles sont décrites comme des microorganismes commensaux (Damiens, 2012).

### 1.2 Taxonomie :(Born, 2013)

**Règne:** Champignons

**Phylum:** Ascomycètes

**Classe:** Saccharomycètes

**Ordre:** Saccharomycétales

**Genre:** *Candida*

### 1.3 Caractères morphologiques

*Candida albicans* peut exister sous quatre stades morphologiques différents :

#### 1.3.1 Les blastospores ou blastoconidies

Elles se présentent sous forme de petites cellules ovoïdes de 3,5 à 6 micromètres sur 6 à 10 micromètres. C'est la forme la plus courante de multiplication de *Candida albicans* saprophyte. Cette cellule peut émettre un bourgeon qui donnera une cellule fille identique à la cellule mère (Buffo et al., 1984).

#### 1.3.2 Le pseudo – mycélium

Mesurant de 500 à 600  $\mu\text{m}$  de longueur et de 3 à 5  $\mu\text{m}$  de largeur, composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien.

Chaque compartiment cellulaire est identique en longueur, contient la même quantité de matériel génétique, mais diffère du précédent en quantité de cytoplasme et de ces constituants.

Il se forme par croissance tubulaire à partir du bourgeon de la blastospore.

Le pseudo - mycélium restera attaché à la cellule mère et les deux cellules seront individualisées par une zone d'étranglement sans cloison vraie (Buffo et al., 1984).

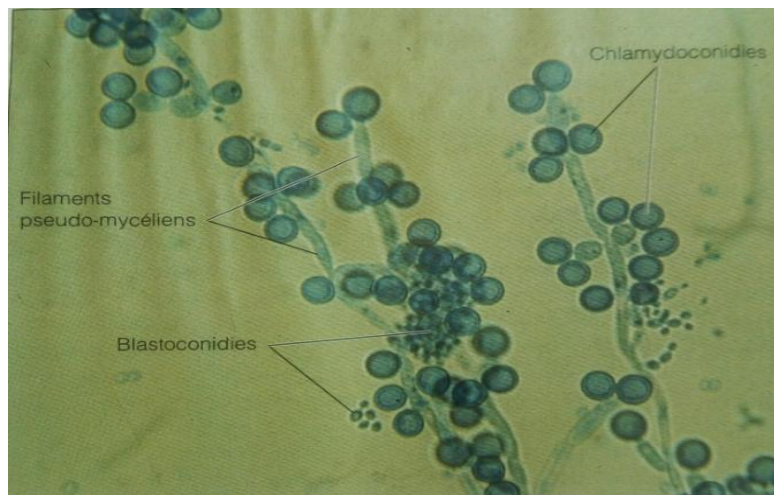
#### 1.3.3 Le mycélium

Champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *Candida albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte.

On peut en rencontrer dans les tissus infectés. Il s'agit de la blastospore qui a donné naissance à un tube germinatif pour former un vrai mycélium, dont chaque élément sera individualisé par de vraies cloisons (Buffo et *al.*, 1984).

#### 1.3.4 Chlamydoformes

Sont des structures terminales ou latérales arrondies. Elles sont formées par épaissement du thalle, mesurent deux fois la taille du blastospore et possèdent une paroi plus épaisse. Les chlamydoformes sont la forme de résistance de *Candida albicans* et participent à l'identification du champignon en laboratoire. Elles sont rarement mises en évidence *in vivo* (Cole et *al.*, 1991). Toutes ces transitions morphologiques se mettent en place en réponse à des changements de conditions environnementales, et permettent ainsi au champignon de s'adapter à différentes niches biologiques (Molero et *al.*, 1998).



**Figure 1:** Morphologie de *Candida albicans* (Tortora et *al.*, 2001).

#### 1.4 Habitat

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

## 1.5 La reproduction :

### 1.5.1 Reproduction asexuée

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

### 1.5.2 Reproduction sexuée

*C. albicans* a été considéré pendant très longtemps comme un champignon diploïde asexué. Mais depuis la découverte du Mating Type Locus (MTL) et des conditions nécessaires à la reproduction de *C. albicans*, a été établi un cycle parasexuel (reproduction et réduction du génome mais sans méiose) comme possible modèle de reproduction sexuée de *C. albicans* (Johnson, 2003). En analysant le génome de *C. albicans*, une région similaire au MTL de *S. cerevisiae* a été identifiée montrant ainsi que *C. albicans* porte les deux allèles du MTL et que c'est un diploïde  $a/a$  (Hull et Johnson, 1999). Les souches homozygotes pour le locus MTL sont compétentes pour le mating. La coïncubation des souches auxotrophiquement complémentaires  $a/a$  et  $\alpha/\alpha$  produit des tétraploïdes prototrophiques via la fusion intercellulaire (Hull et al., 2000 ; Magee et Magee, 2000). Puis une réduction chromatique (sans méiose et donc sans brassage génétique par simple perte aléatoire de chromosome) permet de revenir au stade diploïde.

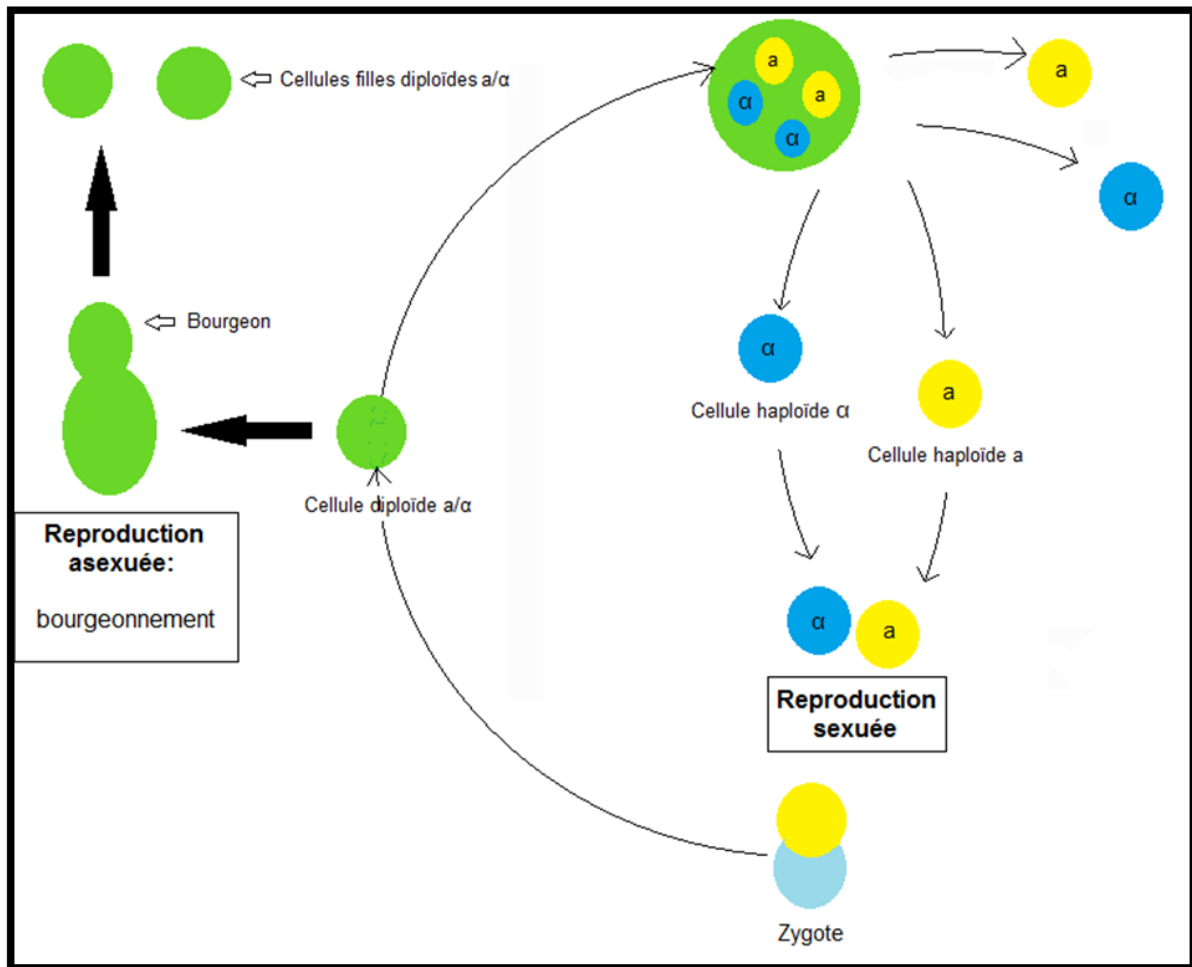


Figure 2 : Cycle reproductif des levures du genre *Candida* (Miossec, 2013).

## 1.6 Pathogénicité

*Candida albicans* est l'agent étiologique majeur des candidoses superficielles et profondes (Born, 2013).

*Candida albicans* est un membre de la flore normale du tractus digestif, de l'appareil respiratoire, du vagin et de la bouche. Chez les individus sains, *Candida albicans* ne cause pas de maladie. Son développement est inhibé par les autres microbes. Cependant si l'équilibre de la flore normale est troublé, *candida* peut se multiplier rapidement et produire une candidose (Prescott et al., 2003).

*Candida albicans* elle secrète des protéases qui modifient la membrane plasmique des cellules hôtes, ce qui permet la fixation de la levure à la cellule hôte puis sa croissance (Tortora et al., 2001).

## 2. Les candidoses

Les candidoses sont les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine (Pihet et Marot, 2013). Les champignons pathogènes impliqués dans ce processus infectieux sont des levures du genre *Candida*. Les *Candida* sont à l'origine de nombreuses atteintes cutanées, phanériennes, oro-oesophagiennes et systémiques graves (Lapierre, 1985 ; Midgley et al., 1998). Parmi elles, *Candida albicans* et *Candida tropicalis* sont très souvent isolées surtout *Candida albicans* (Dieng et al., 2005 ; Dupont et al., 1997). Les *Candida* sont des pathogènes opportunistes ayant une activité néfaste sur des terrains fragilisés pouvant conduire à des issues dramatiques. Cela est fréquent chez les immunodéprimés, surtout les personnes vivant avec le VIH, chez qui, l'évolution des candidoses est souvent mortelle.

### 2.1 Aspect clinique

#### 2.1.1 Les candidoses superficielles

Les candidoses superficielles sont les manifestations les plus communes et sont très variées :

**Candidoses digestives** : Les levures du genre *Candida* sont responsables de 90% des mycoses du tube digestif. Elles sont généralement provoquées par un passage à l'état pathogène de ces microorganismes endogènes à la faveur d'une défaillance de l'hôte. *C. albicans* est l'agent étiologique majeur. Il est à noter que si les candidoses digestives, comme les autres candidoses superficielles, ne présentent que très peu de risque de complication chez le sujet immunocompétent, il en est autrement chez les sujets immunodéprimés.

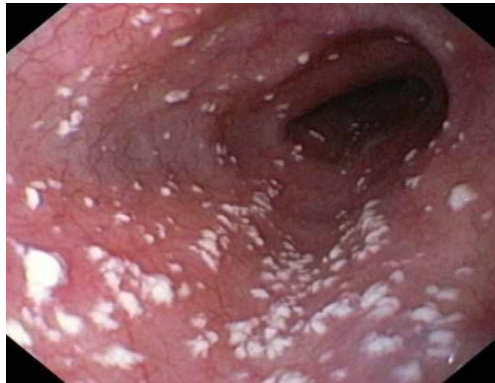
**Candidoses buccales** : Ces candidoses sont fréquentes aux âges extrêmes de la vie. Chez le nouveau-né, l'immaturité du système immunitaire et le développement incomplet de la flore buccale expliquerait une prévalence du muguet buccal de 5% à 7% (Chabasse et al., 2006).



**Figure 3:** Muguet à *Candida* (Bouchara et al., 2010)

**Candidose oropharyngée** : C'est l'infection fongique la plus répandue chez les sujets VIH+. Entre 80% et 90% des patients développeront cette pathologie au cours de l'évolution de leur maladie (Lucht, 1996 ; Ranganathan et Hemalatha, 2006).

**Candidose oesophagienne** : Candidose la plus fréquente après la candidose oropharyngée, elle est fréquente chez le sujet atteint du sida. Au moins 75% des patients séropositifs pour le VIH et atteints par une OPC sont également victimes d'une candidose oesophagienne (Lopez-Dupla et al., 1992 ; Reef et Mayer, 1995).



**Figure 4:** Candidose oesophagienne (Pierquin, 2010).

**Candidose gastro-intestinale** : L'infection à *Candida* est de loin la cause la plus fréquente d'oesophagite chez le patient VIH+ (plus de 20%), suivi par le cytomégalovirus (environ 10%) et le virus Herpes simplex (Chong et Lim, 2005). Il est généralement admis que la plupart des candidémies ont pour point de départ le tractus gastro-intestinal (Nucci et Anaissie, 2001).

**Candidose vaginale** : la majorité des cas de vulvovaginites candidosiques concernent des femmes en parfaite santé et répondent très bien à un traitement antifongique classique.

20% à 25% des patientes asymptomatiques en âge de procréer présentent une colonisation vaginale par des levures du genre *Candida* (Goldacre et al., 1979).

On estime que 75% des femmes connaîtront un épisode au moins de candidose vaginale durant leur vie, 40% à 45% plusieurs épisodes (Sobel, 1988).

**Candidoses cutanées** : L'intertrigo à *Candida* intéresse toutes les zones soumises à la macération: plis sous-mammaires, axillaires et inguinaux mais aussi le sillon inter-fessier et les espaces interdigitaux des mains et des pieds. La surcharge pondérale, le diabète, le port de vêtements serrés sont des facteurs favorisants (Chabasse et al., 2006).

La prévalence des levures du genre *Candida* est beaucoup plus élevée au niveau des mains (jusqu'à 40%) qu'au niveau des pieds (moins de 10%) ; (Foster et *al.*, 2004). Probablement par auto-contamination du sujet.



**Figure 5:** Intertrigo interdigital candidosique (Mokni et *al.*, 2014)

**La candidose cutanéomuqueuse chronique :** inclut un ensemble de maladies rares où la réponse immunitaire est altérée sélectivement contre les *Candida*. Elle se caractérise par une persistance ou une récurrence d'infections de la peau, des ongles et des muqueuses chez le nouveau-né ou le jeune enfant essentiellement causées par *Candida albicans* (Kirkpatrick,2001). Cette affection est souvent associée à une polyendocrinopathie auto-immune.

### **2.1.2 Les candidose profondes**

Les candidoses profondes, aussi appelées candidoses viscérales, sont le plus souvent des infections nosocomiales, et sont préoccupantes du fait de leur morbi-mortalité importante. Il s'agit le plus souvent d'une altération d'origine endogène ou exogène, comme nous l'avons vu, avec comme sites de dissémination les reins, le coeur, les poumons, le foie, les yeux, le système nerveux et la peau (Chabasse et *al.*, 2006). Leur prévalence a augmenté d'une manière régulière au cours des vingt dernières années et a même doublé entre 1980 et 1990 (ceci notamment à cause de l'utilisation de traitements immunosuppresseurs, de chimiothérapies extrêmement efficaces pour diminuer les réponses immunitaires et d'interventions chirurgicales lourdes...); (Chabasse et *al.*, 2006). Dans les candidoses profondes, il existe plusieurs types d'infections. On retrouve la candidémie qui se définit par l'isolement d'un *Candida* par au moins une hémoculture positive (Trapes, 2009).

Les candidoses dites profondes ou viscérales sont l'atteinte d'au moins un site profond, par exemple le péritoine. Puis, on peut déclarer une candidose disséminée ou systémique où l'on retrouve souvent plusieurs atteintes, comme la peau, les os, le coeur, les yeux, les reins et les méninges.



**Figure 6:** Septicémie à levures (Caraës, N. 2016 ).

## 2.2 Facteur prédisposant a l'infection candidosique

La prolifération de *Candida* est favorisée par des facteurs qui provoquent un déséquilibre de l'organisme (Musy, 1994).

Ces facteurs peuvent être intrinsèques ou extrinsèques:

**Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte :** Des facteurs physiologiques : l'âge, la grossesse...etc. Des facteurs locaux : la macération, l'humidité, les traumatismes ou les brûlures. Le terrain : une baisse de l'état général, les endocrinopathies telles le diabète, les immunodépressions dont le SIDA et toute autre affection infectieuse ou maligne telle le cancer ou les hémopathies.

**Les facteurs extrinsèques :** La prise de médicaments : des antibiotiques, des corticoïdes, des immunosuppresseurs et des hormones contraceptives. La chirurgie surtout digestive et cardiaque, les transplantations d'organes, la pose de cathéters intraveineux, de prothèses... etc. (Musy, 1994 ; Koenig, 1995).

### **2.3 Diagnostic biologique**

Le diagnostic biologique d'une candidose (Sullivan et *al.*, 2004 ; Vaubourdolle, 2007). Repose essentiellement sur la mise en évidence et l'identification de l'espèce en cause. Ce diagnostic passe par plusieurs étapes :

#### **2.3.1 Les prélèvements**

Les prélèvements sont variables et sont fonction de la localisation de la lésion. Ainsi, dans la candidose oro-pharyngée le prélèvement se fait par écouvillonnage stérile humidifié ; dans la candidose oesophagienne les prélèvements se font par cytobrossage et biopsie sous endoscopie. Ces prélèvements sont mis dans des flacons stériles après légère humidification sans fixateur.

#### **2.3.2 L'examen direct**

Il permet de juger le caractère pathogène de la souche et est corrélé à l'abondance de la culture. Il peut se faire entre lame et lamelle à l'état frais ou après coloration au bleu lactique ; en réalisant un frottis coloré au Gram, MGG ou au bleu de méthylène.

Pour un examen histologique des biopsies les colorations au PAS ou Gomori-Grocott peuvent être utilisées. Concernant les cytobrossages on peut utiliser des techniques d'imprégnation argentique ou la coloration de Papanicolaou (PAP). Cet examen permet d'observer l'état frais, des levures arrondies ou ovalaires, de 2 à 4 microns de diamètre, non pigmentées et non capsulées, bourgeonnantes, accompagnées ou non de filaments ou de pseudo-filaments mycéliens appartenant au genre *Candida spp.* Sur coupe histologique, des levures avec ou sans filaments. La réaction PAS est positive du fait de la présence de mucopolysaccharides dans la paroi.

#### **2.3.3 La culture**

Elle se fait sur milieu de Sabouraud additionné d'antibiotiques (gentamicine, chloramphénicol), ou milieu Sabouraud-Actidione pour *C. albicans* L'incubation se fait à une température variant de 30-37°C. Cependant, la culture seule des échantillons n'est pas suffisante pour distinguer une colonisation d'une infection invasive.

#### **2.3.4 L'identification**

Le développement des colonies se fait en 24-48h. L'identification se fait après isolement sur : Milieu Sabouraud : les colonies apparaissent blanc-crèmeuses, pouvant avoir une surface lisse (*C. albicans*), brillante ; Milieu chromogène tel que le Chromagar, les colonies apparaissent pigmentées, pouvant être verte (*C. albicans*).

L'identification plus spécifique des espèces du genre *Candida* repose sur les techniques suivantes (Vaubourdolle, 2007) :

- *le test de blastèse ou test de filamentation* en suspension dans un milieu riche (sérum de cheval) à 37°C, au bout de 4h on note l'apparition d'un tube germinatif à partir des levures.
- *la recherche de chlamydospores* sur milieux pauvres tels que RAT, RA ou PCB, à 25°C, les blastospores de *C. albicans* forment un pseudomycélium qui porte des spores arrondies à paroi épaisse, ce sont les chlamydospores.
- *les milieux RAT, RA ou PCB*, permettent de confirmer le genre *Candida*.
- *l'auxanogramme* qui est l'étude de l'assimilation des sucres par voie oxydative par les différentes espèces de *Candida*.
- *les sérologies et hémocultures* à la recherche de *Candida* ne contribuent pas au diagnostic de la CO ou de la COP en dehors d'une candidose disséminée.

# *Les antifongiques*

## 1. Généralités sur les antifongiques

Le développement de molécules antifongiques pour la médecine humaine n'a réellement débuté que vers 1980. Sauf en régions tropicales, les mycoses systémiques étaient rares et l'amphotéricine B, commercialisée en 1955, permettait de traiter ces mycoses vraies (blastomycose, histoplasmoses aux USA, par exemple). Dans les pays développés, l'incidence des mycoses opportunistes (candidoses systémiques, aspergilloses invasives, cryptococcose neuroméningée) a fortement augmenté parallèlement avec celle des traitements immunosuppresseurs, antibiotiques ou l'émergence du SIDA (Adriaenssens *et al.*, 2010).

La membrane fongique est constituée de protéines, de phospholipides et de stérols, dont l'ergostérol est le principal. Certains antifongiques auront pour cible cette membrane (polyènes) ou bien ses constituants (azolés, allylamines) ;( Granier , 2000). L'ergostérol est important pour la fluidité et l'intégrité membranaire mais aussi pour les fonctions d'enzyme liées à la membrane, jouant un rôle dans la croissance et la division cellulaire. La chitine synthétase fait partie de ces enzymes (Granier , 2003).

Les antifongiques sont des substances capables d'inhiber spécifiquement les différents champignons isolés en mycologie médicale. Ils agissent soit en détruisant les cellules fongiques (fongicides), soit en limitant leur développement (fongistatiques) (Kamil, 2015).

## 2. Cibles des antifongiques

- **L'ergostérol membranaire** : la membrane plasmique de la levure est constituée d'une bicouche lipidique incrustée de protéines. Cette membrane joue le rôle de barrière entre le microorganisme et l'extérieur, tout en permettant les échanges. L'ergostérol est un constituant essentiel nécessaire au maintien de la structure. L'activité fongique des dérivés azolés repose sur l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol, empêchant la constitution d'une membrane plasmique fonctionnelle. Les polyènes, tels que l'Amphotéricine B (AmB), quant à eux, interagissent directement avec ce constituant membranaire. Cette interaction forme des pores perméables dans la membrane de la levure (Lagane, 2007).

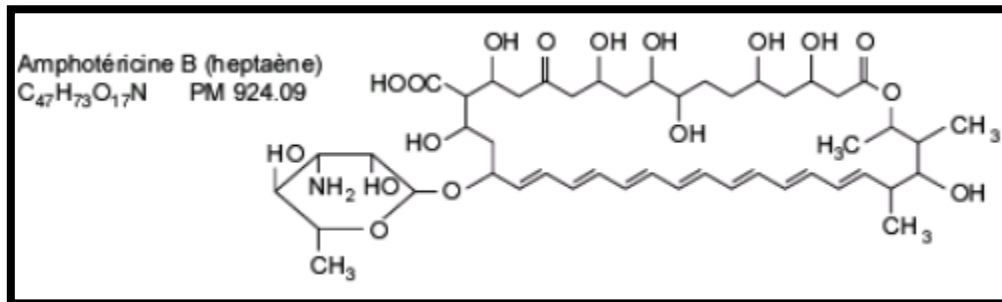
- **La paroi cellulaire fongique** : c'est la cible privilégiée des échinocandines. Elles inhibent la biosynthèse des glucanes de la paroi par l'inhibition de la  $\beta$ -1,3-glucane synthétase. Cela entraîne l'arrêt de la synthèse de la paroi cellulaire (effet fongistatique), suivi de sa destruction (effet fongicide) ;(Lagane, 2007).

- **Le métabolisme pyrimidique** : certains antifongiques tels que les dérivés pyrimidiques peuvent inhiber la biosynthèse d'ADN ou encore interférer avec la traduction des ARNm en protéines fongiques (Lagane, 2007).

### 3. Les différentes classes des antifongiques

#### 3.1 Les polyènes

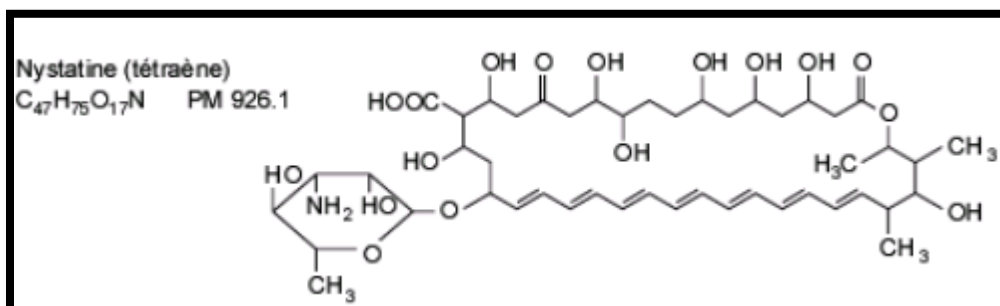
De la famille des antibiotiques antifongiques, l'amphotéricine B est l'agent le plus couramment employé produit par des bactéries du genre *streptomyces*, ces antibiotiques se combinent aux stérols de la membrane plasmique des mycètes, ce qui rend cette dernière très perméable et cause la mort de la cellule (Tortora et *al.*, 2001).



**Figure 7:** Structure chimique de l'Amphotéricine B (Bourouda, 2010).

#### ➤ Nystatine

La nystatine (produite par *Streptomyces noursei*) : elle est active à l'égard de la plupart des dermatophytes et contre de nombreux agents responsables de mycoses profondes. Cependant, la nystatine présente une toxicité qui limite son utilisation à un usage exclusivement topique (notamment des infection à *candida* de la région buccale et de la région vulvo-vaginale) ; (Giordani et Kaloustian, 2006).



**Figure 8:** Structure chimique de la nystatine (Bourouda, 2010).

### 3.2 Les azolés

Dont les imidazoles et les triazoles ,sont des agents antifongiques qui entravent surtout la synthèse des stérols de la membrane des mycètes ,les imidazoles tels que le clotrimazoles et le miconazole sont généralement administrés par voie topique pour traiter les mycoses cutanées comme le pied d'athlète ou les infections vaginales à champignons .pris oralement ,le kétoconazole, un autre imidazole, est efficace contre de nombreuses infections fongiques systémiques . Les infections fongiques systémiques sont souvent traitées avec le fluconazole et l'itraconazole, qui sont des triazoles (Tortora et *al.*, 2001).

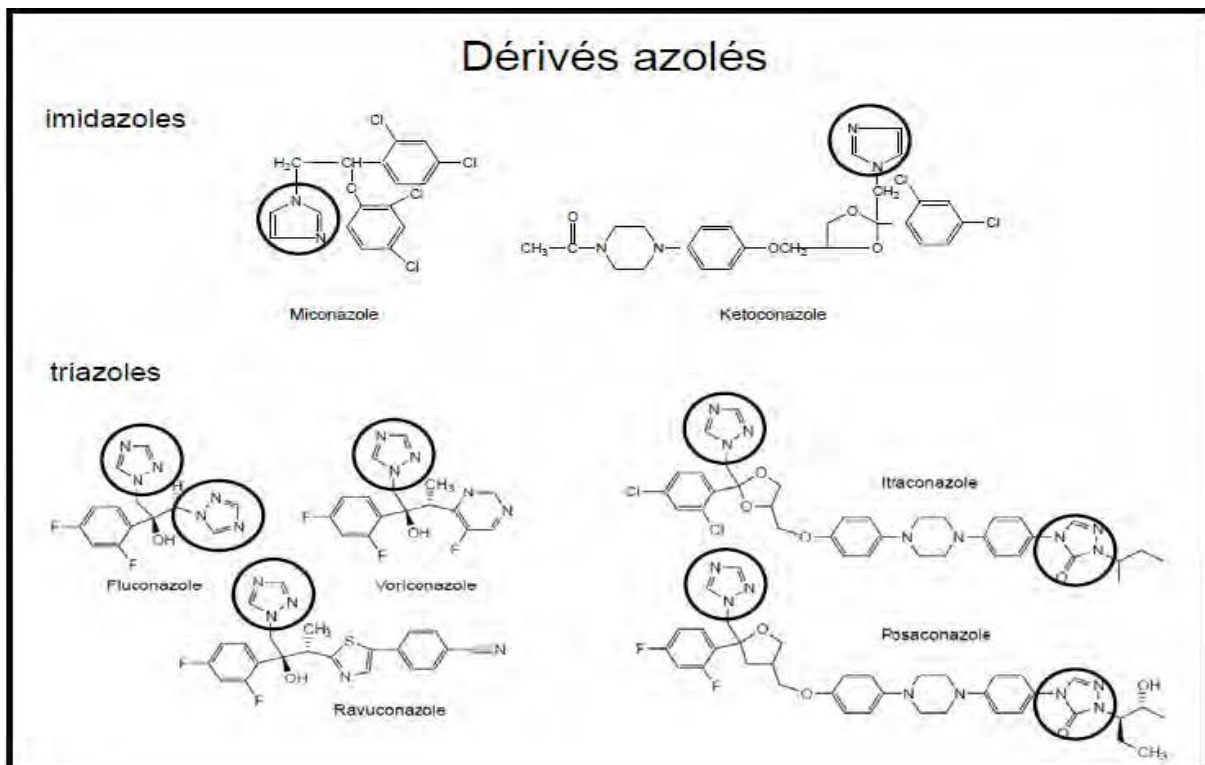


Figure 9: Dérivés azolés (Pelayo, 2013).

### 3.3 Flucytosine

Est un antifongique qui interfère avec la synthèse de l'ADN et de l'ARN. Elle est absorbée de façon préférentielle par les cellules fongiques. Son spectre d'action ne couvre que quelques infections fongiques systémiques (Tortora et al., 2001).



Figure 10: Structure chimique de 5- fluorocytosine (Bourouda, 2010).

### 3.4 Echinocandines

Les échinocandines représentent une nouvelle classe d'agents antifongiques administrés par voie parentérale. Elles inhibent la glucane synthase, responsable de la synthèse du  $\beta$ -(1,3)-D-glucane, constituant majeur de la paroi fongique.

En brisant l'intégrité structurale de la cellule fongique, elles entraînent un déséquilibre osmotique, puis finalement sa lyse (Denning, 2003).

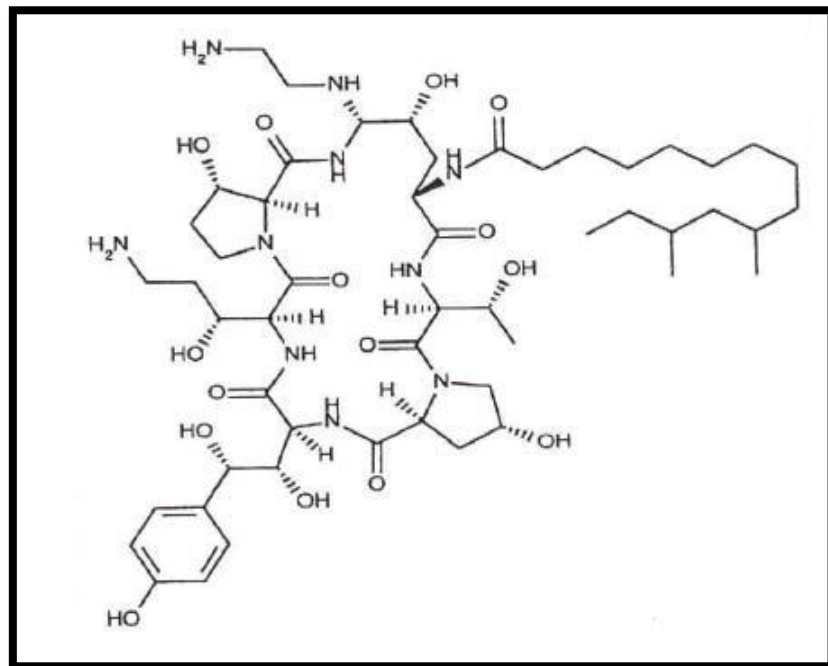


Figure 11: Structure chimique de caspofungine (Bourouda, 2010).

#### 4. Traitements antifongiques

*Candida*, comme son hôte humain, est un organisme eucaryote, et de ce fait, le nombre de cibles thérapeutiques potentielles est limité. Une bonne molécule thérapeutique est caractérisée par un large spectre d'action dans le règne fongique, une action fongicide plutôt que fongistatique et peu ou pas d'effets sur les cellules de l'hôte. Les premiers traitements par la nystatine et l'amphotéricine B, qui ont pour cible l'ergostérol de la membrane plasmique, ont été disponibles dans les années 50. L'arsenal antifongique s'est considérablement enrichi ces dernières années avec la commercialisation des nouvelles formulations lipidiques de l'amphotéricine B et le développement de molécules originales dans des classes d'antifongiques nouvelles (Elkirat, 2010).

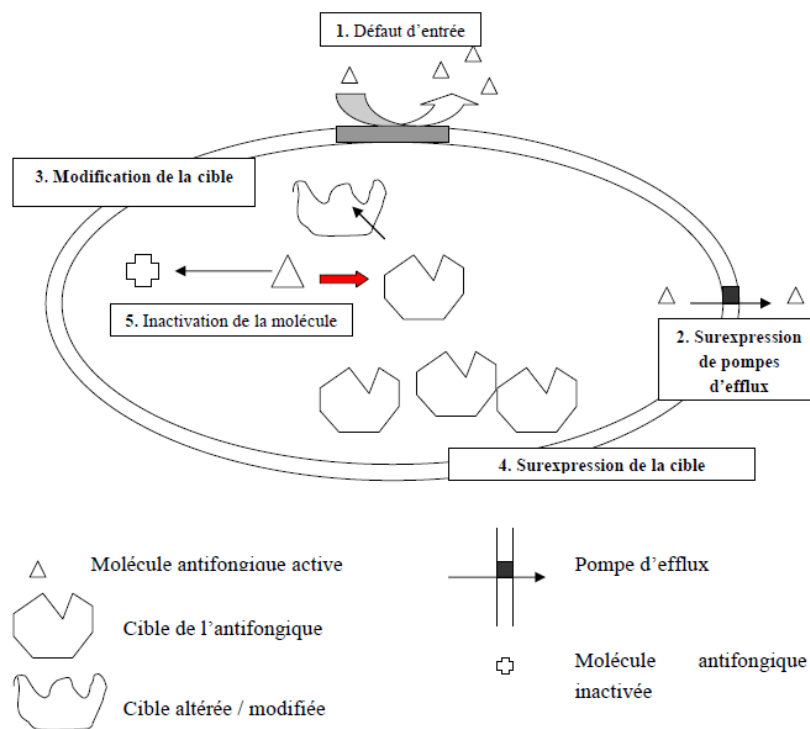
**Tableau 01:** Cibles primaires et mode d'action de plusieurs antifongiques (Spampinato et Leonardi, 2013).

Classe d'antifongique	Mode d'action	Médicaments
Azolés	Inhibiteurs de la lanostérol 14- $\alpha$ -déméthylase	Miconazole Econazole Kétoconazole Fluconazole Itraconazole Voriconazole Posaconazole
Echinocandines	Inhibiteurs de la (1,3) - $\beta$ -D-glucane synthase	Caspofungine Micafungine Anidulafungine
Polyènes	Fixation d'ergostérol	Nystatine Amphotéricine B
Analogues Nucleoside	Inhibiteurs de la synthèse ADN / ARN	Flucytosine
Allylamines	Inhibiteurs de la squalène-époxydase	Terbinafine Amorolfine Naftifine
Thiocarbomates	Inhibiteurs de la squalène-époxydase	Tolnaftate Tolciclate
antibiotique	Interaction avec la $\beta$ -tubuline	Griseofulvine

### 5. Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques

L'antifongique doit pénétrer dans la cellule fongique intacte et se fixer sur sa cible pour perturber le fonctionnement cellulaire et parvenir à un effet fongistatique. Deux mécanismes moléculaires de résistance aux antifongiques (Ghannoum et Rice, 1999) :

- La modification ou la surexpression de la cible ;
- La surexpression de pompes membranaires d'efflux, ce qui diminue ;
- L'accumulation dans la cellule de l'antibiotique.



**Figure12 :** Schématisation des potentiels mécanismes moléculaires de résistance des champignons aux antifongiques (Yang et Lo, 2001).

# *Matériels et Méthodes*

## **1. Matériels**

### **1.1 Matériel biologique**

#### **1.1.1 Souche fongique *Candida albicans***

L'évaluation de l'activité antifongique de l'acide indole 3- acétique (AIA) a été faite sur la souche de référence *Candida albicans* (IP 444). Cette souche est fournie par le Laboratoire Vétérinaire Régionale de la wilaya de Laghouat.

#### **1.1.2 Les produit chimiques et milieux de culture**

Le méthanol (99.5%) est utilisé comme solvant pour préparer une solution d'acide indole 3-acétique à 200 mg/mL. La sensibilité de la souche *Candida albicans* est déterminée par la nystatine.

La culture de la levure *Candida albicans* est réalisée dans le milieu solide Sabouraud. L'eau physiologique est utilisée pour la préparation de l'inoculum (Annexe).

## **2. Méthode**

### **2.1 Test de sensibilité de la souche**

La sensibilité de la levure *Candida albicans* (IP444) est déterminée par la mesure de l'effet de la nystatine à différentes concentrations sur milieu sabouraud solide par la méthode de disques et de puits. Dans des boites de Pétri préalablementensemencées avec un inoculum d'une DO de 0.1 mesurée à 620 nm d'une suspension fongique on dépose à l'aide d'une pince stérile des disques de papier Whatman N°3 de 10 µl de la nystatine ou 30 µl de la nystatine par puits à différentes concentration. Les boites de pétri sont incubées à 37°C pendant 48 h. Le diamètre de la zone d'inhibition (mm) est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

### **2.2 Détermination de l'activité antifongique de l'acide indole 3-acétique**

Deux méthodes sont réalisées dans cette étude pour la détermination de l'activité antifongique de l'AIA :

#### **2.2.1 Méthode de disques**

Des disques de papier wattman stérile N°3 de 6 mm de diamètre imprégnés de 10 µl d'acide indole 3-acétique à 200 mg/mL sont déposés à la surface d'un milieu Sabouraud préalablementensemencé avec un inoculum d'une DO mesurée à 620 nm préparé à partir d'une culture pure de *Candida albicans*. L'un des disques est imprégné du méthanol seulement servant comme témoin négatif. Les boites sont incubées à 37 °C pendant 48h.

### **2.2.2 Méthode des puits**

L'activité inhibitrice de l'acide indole 3-acétique est déterminée par la méthode des puits. Qui consiste à effectués des boites déjà ensemencées par la suspension fongique à l'aide d'un écouvillon.

Un volume de 30 µl d'acide indole 3-acétique à 200 mg/mL est ajouté à l'aide d'une micropipette dans les puits de chaque boite. Dans une boite de Pétri, le puit est rempli seulement avec du méthanol pur à la place d'AIA qui est utilisée comme témoin négatif.

Les boites sont incubées à 37 °C pendant 48h. Les diamètres des zones d'inhibition seront mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

### **2.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice : CMI**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) : c'est la concentration minimale pour laquelle il n'y a aucune croissance visible à l'oeil nu. (Yaye et *al.*, 2011).

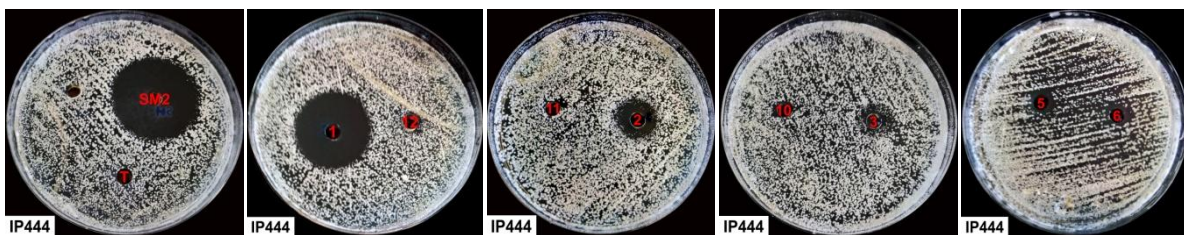
La CMI d'acide indole 3-acétique est déterminée selon la méthode de la dilution en milieu solide. Nous avons préparé une série de dilution d'acide indole 3-acétique pour avoir des concentrations comprises entre 1,2-40 mg/mL. 10 µl de l'acide indole 3-acétique à été poser sur des disques de 6 mm de diamètres qui par la suite déposés eux-mêmes sur milieu gélosé préalablement ensemencé et 30 µl de l'acide indole 3-acétique injectés dans les puits. Les boites, ainsi préparés sont, incubées à 37°C pendant 48 h. L'inhibition de la croissance est traduite par l'apparition de halos clairs au tour des disques et puits et les résultats sont exprimés en mesurant le diamètre de ces zones d'inhibition.

# *Résultats et discussion*

## 1. Etude de l'effet de la nystatine sur *Candida albicans*

La sensibilité de la souche *Candida albicans* (IP444) a été étudiée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance fongique en présence de différentes concentrations de la nystatine comme agent antifongique standard.

D'après les photos (1) et (2) on constate que la nystatine exerce un effet antifongique plus ou moins élevé sur *Candida albicans* avec formation d'un halo autour des disques ou des puits montrant ainsi que cette levure était sensible à cet agent antifongique et que l'activité antifongique augmente avec l'augmentation de la nystatine.



**Photo 1 :** Résultats de l'effet de la nystatine sur *Candida albicans* (IP444) déterminé par la méthode de puits.



**Photo 2 :** Résultats de l'effet de la nystatine sur *Candida albicans* (IP444) déterminé par la méthode de disques.

On remarque aussi que le méthanol n'a aucun effet antifongique sur la levure et il a été utilisé comme solvant pour préparer la nystatine.

En présence d'une concentration finale de la nystatine à 64  $\mu\text{g/mL}$  un diamètre d'inhibition d'environ 10.75 et 14.02 mm ont été obtenus par les méthodes de disque et de puits respectivement. La valeur de la CMI a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque qui égale à 12.8 mg/mL.

**Tableau 2 :** Résultats de l'effet de la nystatine sur *Candida albicans* (IP444).

Nystatine (mg/mL)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	
	Méthode des disques	Méthode des puits
0.00256	6.00	9.46
0.0128	6.00	13.32
0.064	10.75	14.02
8	11.91	15.34
200	29.28	23.13
1000	32.35	37.54

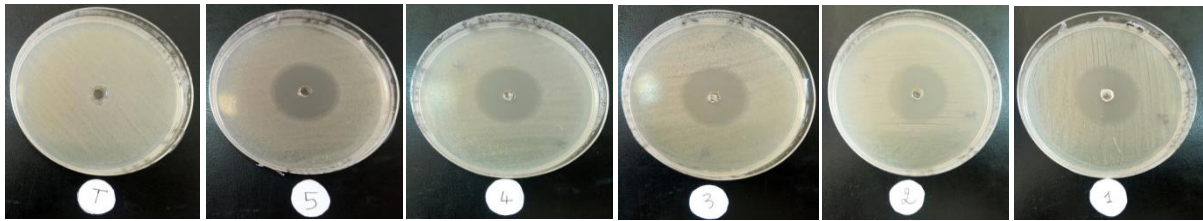
## 2. Effet antifongique de l'acide indole 3-acétique sur *Candida albicans*

### 2.1 Méthode de diffusion en milieu solide

L'effet antifongique de l'acide indole 3-acétique (AIA) sur la croissance de *Candida albicans* (IP444) sur milieu sabouraud a été étudié par deux techniques de diffusion (méthode de disque et des puits). D'après les photos (3) et (4) on remarque que le diamètre d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration de l'AIA dans le milieu. Le méthanol n'a aucun pouvoir antifongique sur la levure.



**Photo 3 :** Résultats de l'effet de l'acide indole 3-acétique sur *Candida albicans* (IP444) déterminé par la méthode de diffusion sur disque. T : Témoin ; 1 :200 mg/ml ; 2 :150 mg/ml ; 3 :100 mg/ml ; 4 :75 mg/ml ; 5 :50 mg/ml.



**Photo 4 :** Résultats de l'effet de l'acide indole 3- acétique sur *Candida albicans* (IP444) déterminé par la méthode de diffusion sur puits. T : Témoin ; 1 :200 mg/ml ; 2 :150 mg/ml ; 3 :100 mg/ml ; 4 :75 mg/ml ; 5 :50 mg/ml.

Les résultats de la mesure des zones d'inhibitions sont indiqués dans les Tableau (3) et (4).

L'AIA a 50 mg/mL exerce une activité anti-candidosique élevée avec un diamètre d'inhibition d'environ 17 et 30 mm, déterminé par les méthodes de diffusion sur disque et puits, respectivement.

**Tableau 3 :** Résultat de la méthode des disques de l'effet antifongique de l'AIA sur *Candida albicans* (IP444).

AIA (mg/mL)	0	50	75	100	150	200
Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	6,00 ±0,00	17,45 ±0,33	19,95± 0,21	20,1 ±4,94	23,8 ± 2,12	26,8 ± 2,54

**Tableau 4 :** Résultat de la méthode des puits de l'effet antifongique de l'AIA sur *Candida albicans* (IP444).

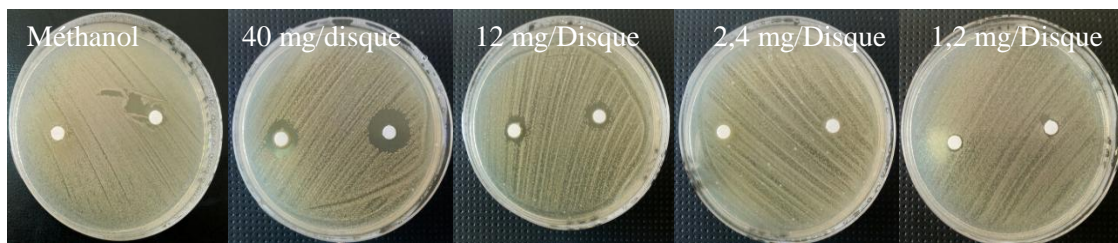
AIA (mg/mL)	0	50	75	100	150	200
Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	6,00 ±0,00	29,9±0,00	28,85±1,2	28,9±0,98	29,25±0,35	30,5±0,00

## 2.2 Evaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

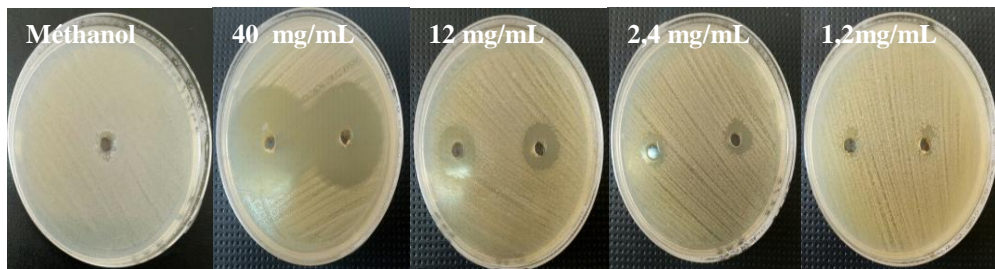
L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a consisté à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien nécessaire pour inhiber totalement la croissance fongique (Kanoun et *al.*, 2015).

La CMI d'acide indole acétique est déterminé selon la méthode de la dilution en milieu solide et les résultats ainsi trouvés sont regroupés dans les Tableaux (5) et (6). Par rapport aux résultats décrits précédemment, la nystatine a le pouvoir anticandidosique le plus élevée par rapport à l'acide indole 3-acétique.

D'après les photos (5) et (6) on constate que la valeur de la CMI est de 12 mg/disque et 2,4 mg/puits.



**Photo 5:** Résultats de l'effet de l'acide indole 3- acétique sur *Candida albicans* (IP444) déterminé par la méthode de diffusion sur disque.



**Photo 6 :** Résultats de l'effet de l'acide indole 3-acétique sur *Candida albicans* (IP444) déterminé par la méthode de diffusion sur puits.

Les résultats trouves sont regroupés dans le tableau (5) et (6). Les valeurs indiquées sont les moyennes de deux mesures.

**Tableau 5 :** Résultat de la détermination de CMI par la méthode de disque de l'effet de l'AIA sur *Candida albicans*.

AIA (mg/mL)	0	40	12	2,4	1,2
Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	6,00±0,00	16,14±1,3	11,07±0,31	6,00±0,00	6,00±0,00

**Tableau 6 :** Résultat de la détermination de CMI par la méthode de puits de l'effet de l'AIA sur *Candida albicans*.

AIA (mg/mL)	0	40	12	2,4	1,2
Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	6,00±0,00	37,12±0,007	17,13±0,45	11,83±0,28	6,00±0,00

Selon les travaux menés par Rao et *al.* (2010), l'acide indole 3-acétique induit une transition morphologique au niveau de la croissance de la levure *Candida albicans* qui se traduit par l'apparition des formes myceliennes moins pathogènes. Ces memes auteurs ont constaté que l'AIA est capable d'inhiber la croissance de *Candida albicans* sur milieu solide.

Chitra et *al.* (2017) ont trouvé qu'un hydrogel à base d'acide indole 3-acétique à 200 µg/mL est capable d'inhiber la croissance de la levure *Candida albicans* où une zone d'inhibition d'environ 15.67 mm a été observée.

L'effet antifongique de l'AIA peut être aussi expliqué par son pouvoir mutagène (Doi et *al.*, 1973).

# *Conclusion et perspective*

## *Conclusion*

---

Le genre *Candida* comprend environ 200 espèces différentes, mais seules quelques espèces sont des agents pathogènes opportunistes pour l'homme et sont à l'origine d'infections lorsque l'hôte devient affaibli ou immunodéprimé. Les infections à *Candida* peuvent être superficielles ou invasives. Les infections superficielles affectent souvent la peau ou les muqueuses et peuvent être traitées avec succès par des antifongiques topiques. Cependant, les infections fongiques invasives mettent souvent la vie en danger, probablement en raison de méthodes de diagnostic inefficaces et de thérapies antifongiques initiales inappropriées. Ici, nous passons brièvement en revue nos connaissances actuelles sur les espèces pathogènes du genre *Candida* et les causes d'infection à levures, puis nous concentrons sur les médicaments antifongiques et les mécanismes de résistance actuels. Un aperçu des nouvelles alternatives thérapeutiques pour le traitement des infections à *Candida* est également fourni.

Pour cette raison nous avons évalué l'activité anticandidosique d'AIA par la technique de disque et de puits sur milieu solide sur *Candida albicans* (IP 444). Les résultats trouvés dans cette étude ont clairement montré que *C.albicans* a exercé une activité inhibitrice assez importante malgré que le rendement de l'AIA était plus au moins faible par rapport aux autres antifongiques utilisés dans des études précédentes.

Les CMI trouvées, ont montré l'efficacité thérapeutique et l'importance de l'AIA par rapport à la nystatine comme antifongique de référence.

L'acide indole 3-acétique a une bonne activité contre la souche fongique *Candida albicans*. Par conséquent, d'autres études plus poussées sont souhaitables afin de comprendre le mécanisme d'action et aussi de tester son effet sur d'autres microorganismes tels que les bactéries et les moisissures.

# *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

- Adriaenssens, N., Coenen, S., Muller, A., Vankerckhoven, V., Goossens, H.** (2010). European surveillance of antimicrobial consumption (ESAC): outpatient systemic antimycotic and antifungal use in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65, 769-774.
- Born, F.** (2013). Les candidoses buccales: revue de littérature, Thèse de doctorat : no.Méd.dent. 714 ; <http://archive-ouverte.unige.ch/unige:27981>. Université Genève, 143pages.
- Bouchara ,J.P., Pihet , M., De Gentile, L., Chabasse, D.** (2010). Les levures et levures.Cahier de bioformation Biologie médicale 44, 14-34.
- Bourouda ,N.**(2010).Place de l'antifongogramme dans la prise en charge des infections fongiques. Thèse de doctorat. Université Mohammed, 202pages.
- Brunke, S., Hube, B.** (2013). Two unlike cousins: *Candida albicans* and *C.Glabrata* infection strategies. *Cell. Microbiol* 15, 701–708.
- Buffo, J., Herman, M.A., Soll , D.R.** (1984) .A characterization of pH-regulated dimorphism in *Candida albicans*. *Mycopathologia* 85, 21-30.
- Caraës,N.**(2016) . Épidémiologie des candidoses profondes au Centre Hospitalier.Universitaire de Rouen ,201 Pages.
- Chabasse, D., Robert, R., Marot, A., Pihet , M.**( 2006). *Candida* pathogènes. Paris.
- Chitra, G., Franklin, D. S., Sudarsan, S., Sakthivel, M., Guhanathan., S.** (2017). Preparation, antimicrobial and antioxidant evaluation of indole-3-acetic acid-based pH responsive bionanocomposites.20 Pages.
- Chong, V.H., Lim, C.C.** (2005). Human immunodeficiency virus and endoscopy: Experience of a general hospital in Singapore. *J Gastroenterol Hepatol* 20,722-726.
- Cole, G. T., Seshan, K. R., Phaneuf, M. Lynn, K. T.**( 1991). Chlamydospore-like cells of *Candida albicans* in the gastrointestinal tract of infected, immunocompromised mice. *Can JMicrobiol* 37, 637-646.
- Damiens, S.** (2012). Les médiateurs de l'immunité anti-*Candida* : outils d'analyse physiopathologique et intérêt diagnostique. Université de Lille 2, 120page.
- Denning, D.W.** (2003). Echinocandin antifungal drugs. *Lancet* 362, 51-1142.
- Dieng , Y., Faye-Niang, M.A., Ndour-Diop, A.** (2005). Sensibilité aux antifongiques des souches de *Candida* responsables de candidoses oropharyngées chez des sujets vivant avec le VIH. *Sidanet* 2, 8-835 .
- Doi,S., Takahashi,T., Yanagishima,N.**(1973).Auxin-induced cell mutants in *saccharomyces cerevisiae*. Induction, and biochemical and genetic characters. 3,185-195.
- Dupont, B., Improvisi ,L., Dromer, F.** (1997). Facteurs d'échec clinique du traitement des candidoses oropharyngées au cours du sida. *Lett Infectiol* 6 , 23–30 .
- El kirat, C .S.** (2010). Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des interactions *Candida* – phagocytes ; Application à la caractérisation du gène *OLE2* codant une désaturase chez *C. lusitaniae*. Université Victor Segalen Bordeaux 2, 187pages.
- Foster, K.W.,Ghannoum, M.A., Elewski, B.E.** (2004). Epidemiologic surveillance of cutaneous fungal infection in the United States from 1999 to 2002. *J Am Acad Dermatol* 50 ,748-752.
- Ghannoum ,M.A., Rice ,L.B.** (1999). Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 12, 501-517.
- Giordani, R., kaloustian, J.** (2006). Action anticandidosique des huiles essentielles : Leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. 3, 121-124.
- Goldacre, M.J., Watt, B., Loudon, N., Milne, L.J., Loudon, J.D., Vessey, M.P.**(1979).Vaginal microbial flora in normal young women. *Br Med J* 1,1450-1455.

## Références bibliographiques

---

- Granier , F.**(2000) .Les infections fongiques invasives. *La presse médicale*, 29,2051.
- Granier , F.**(2003). Antifongiques : classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance. *Antibiotiques*, 5, 39–48.
- Hull, C. M., Johnson, A. D.**( 1999). Identification of a mating type-like locus in the asexual pathogenic yeast *Candida albicans*. *Science* 285, 5-1271 .
- Hull, C. M., Raisner, R. M. Johnson,A. D.** (2000). Evidence for mating of the "asexual" yeast *Candida albicans* in a mammalian host. *Science* 289, 10-307.
- Johnson, A.**( 2003). The biology of mating in *Candida albicans*. *Nat Rev Microbiol* 1,16, 106 .
- Kamil, N.** (2015).Les mycoses superficielles selon une série de l'hôpital Ibn Sina de rabat. Thèse de doctorat. Université Mohammed v rabat.154pages.
- Kanoun,K ., Abbouni,B., Boudissa,S., Bouhafs,N., Seddiki,M.**(2015).Étude de l'activité des extraits de feuilles de *Punica granatum* Linn sur *Candida albicans* et *Rhodotorula* spp.12page.
- Kirkpatrick, C.H.** (2001). Chronic mucocutaneous candidiasis. *Pediatr Infect Dis J* 20,197-206.
- Koenig, H.** (1995).Guide de mycologie médicale. Édition marketing S.A. Paris. 268 Pages
- Koffi , A.M., Tonzibo, Z..F., Delort, L., Ruiz, N., Caldefie-Chézet, L., Chalchat, J.C.** (2013). Corrélation entre la composition chimique et l'activité antifongique des huiles essentielles à prédominance thymol sur *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*. 11,134-139.
- Lagane, C.** (2007). Rôle de l'il-13et des ligands de PPAR- $\gamma$  dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *candida albicans*. Implication de PPAR- $\gamma$ . Université Toulouse III-Paul Sabatier.151pages.
- Lapierre, G.** (1985). Dermatoses fongiques superficielles. Maloine SA ,ed Dermopharmacologie clinique . Paris, 313 p .
- Lopez-Dupla, M., Mora, S.P., Pintado, G., Valencia, V.O.E., Uriol, P.L.,Khamashta, M.A.Aguado, A.G.** (1992). Clinical, endoscopic, immunologic, and therapeutic aspects of oropharyngeal and esophageal candidiasis in HIV-infected patients: a survey of 114 cases. *Am J Gastroenterol* 87,1771-1776.
- Lucht, E., Nord, C.E.** (1996). Opportunistic oral infections in patients infected with HIV-1. *Rev Med Microbiol* 7,151-163.
- Magee, B. B., Magee,P. T.**(2000). Induction of mating in *Candida albicans* by construction of MTL $\alpha$  and MTL $\alpha$  strains. *Science* 289, 3-310 .
- Massou, S., Ahid, S.,Azendour, H.** (2013). Les candidoses systémiques en réanimation médicale: analyse des facteurs de risque et intérêt de l'index de colonisation. *Pathol Biol* 61, 12-118 .
- Midgley, G., Roderick, J.H., Clayton, M.Y.** (1998). Atlas de poche de mycologie. Flammarion Médecine–Science. Paris, pp 1–93
- Miossec ,C** .(2013). Septicémies à *Candida spp.* : mise au point d'une technique d'extraction d'ADN de levures à partir de sang total et d'une PCR *Candida* en temps réel. Université de Nantes.160pages.
- Mokni, M., Dupin, N .,Del Giudice, P.** (2014). Dermatologie infectieuse. Elsevier Masson SAS. 331 pages.
- Molero, G., Díez-Orejas, R., Navarro-García, F., Monteoliva , L., Pla , J., Gil ,C., Sánchez-Pérez ,M., Nombela ,C.** (1998). *Candida albicans*: genetics, dimorphism and pathogenicity. *Internatl. Microbiol*1, 95–106.
- Musy-Preault, C.** (1994). Les maladies de la peau: acné, eczéma, mycose, herpès, allergies solaires. Collection: santé. Albin Michel S.A. Paris, pages 69-81.
- Nucci, M., Anaissie, E.** (2001). Revisiting the source of candidemia: skin or gut *Clin Infect Dis* 33,1959-1967.

## Références bibliographiques

---

- Odds, F. C.** (1979). *Candida* and Candidosis, Leicester University Press ed, London.
- Odds, F. C.** (1985). Morphogenesis in *Candida albicans*. Crit Rev Microbiol 12,45-93.
- Pelayo ,C.S.**(2013).Les antifongiques azoles : utiles et efficaces mais non dénuées de danger. Adaptation de la thérapie antifongique chez une patiente atteinte d'histoplasmosse. Thèse de doctorat. Université Toulouse III-Paul Sabatier.109pages.
- Pierquin ,A.L.** (2010).Mycoses opportunistes et immunodépression. thèse en vue d'obtention le diplôme d'Etat de docteur en pharmacie, université Henri Poincaré-Nancy1, 118page.
- Pihet, M., Marot, A.** (2013). Diagnostic biologique des candidoses. Rev Francoph Labo. 450,47–61.
- Prescott, L.M.,Harley,P.J., Klein ,A.D.**(2003).Microbiologie. Paris. 1028 pagers.
- Ranganathan, K., Hemalatha, R.** (2006). Oral lesions in HIV infection in developing countries: an overview. Adv Dent Res 19,63-68.
- Rao,R.P., Hunter,A., Kashpur,O., Normanly,J.** (2010).Aberrant Synthesis of Indole-3-Acetic Acid in *Saccharomyces cerevisiae* Triggers Morphogenic Transition, a Virulence Trait of Pathogenic Fungi185: 211–220
- Reef, S.E., Mayer, K.H.** (1995). Opportunistic candidal infections in patients infected with human immunodeficiency virus: prevention issues and priorities. Clin Infect Dis 21,99-102.
- Segretain, G., Drouhet, E., Mariat, F.**( 1987). Diagnostic de laboratoire en mycologie médicale 5ème édition., Maloine ed, Paris.
- Sekka, Z.L., Rouani, M. Ghazi, S. Il Idrissi, A. Arahou, M. Hassikou, R.** (2015). Caractérisation chimique des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica* et évaluation de leur potentiel anticandidosique.10pages.
- Silva,S., Henriques,M., Hayes,A., Oliveira,R., Azeredo,J., Williams, D.W.** (2011).*Candida glabrata* and *Candida albicans* co-infection of an in vitro oralepithelium. J. Oral Pathol. Med 40, 421–427.
- Sobel, J.D.** (1988). Pathogenesis and epidemiology of vulvovaginal candidiasis. Ann NY Acad Sci 544,547-557.
- Spampinato, C., leonardi,D.**(2013).*Candida* Infections, Causes, Targets, and Resistance Mechanisms: Traditional and Alternative Antifungal Agents.13pages.
- Staebell, M., Soll ,D. R.** (1985). Temporal and spatial differences in cell wall expansion during bud and mycelium formation in *Candida albicans*. J Gen Microbiol 131,1467-80.
- Sullivan,D.J., Moran,G.P., Pinjon,E., Almosaid,A., Stokes, C., Vaughan, C., Coleman,D.C.** (2004). Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. FEMS Yeast Res 4,369-376.
- Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L.** (2001).Introduction à la microbiologie. Canada. 944pages.
- Trapes, L.**(2009). Candidose systémique. DESC Réanimation. [http://www.medecine.unilim.fr/formini/descreaso/candidose\\_invasive](http://www.medecine.unilim.fr/formini/descreaso/candidose_invasive).
- Tsai, P.W., Chen, Y.T., Hsu, P.C., Lan, C.Y.** (2013). Study of *Candida albicans* and its interactions with the host: a mini review. Biomedicine 3, 51–64.
- Vaubourdolle , M .**( 2007). Infectiologie. *Collection Le Moniteur Internat*. Rueil Malmaison :Wolters Kluwer.
- Westwater,C., Schofield,D.A., Nicholas, P.J., Paulling, E.E., Balish, E.** (2007). *Candida glabrata* and *Candida albicans*; dissimilar tissue tropism and infectivity in agnotobiotic model of mucosal candidiasis. FEMS Immunol. Med. Microbiol 5, 134–139.
- Yang, Y.L., Lo, H.J.** (2001). Mechanisms of antifungal agent resistance. Journal of Microbiology. Immunology and Infection 34, 79-86.

## *Références bibliographiques*

---

**Yaye, Y . G., kra, A. K. M., Bognan ACKAH ,J. A. A., DJAMAN, A. J.**(2011). Evaluation de l'activité antifongique et essai de purification des principes actifs des extraits de *terminalia mantaly* ,une combretacée,sur la croissance in vitro de *candida albicans*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, V 80, 953 – 964.

*Annexe*

## *Annexe*

---

### **Composition de milieu de culture : Sabouraud**

Eau distillée.....	qsp 1000 mL.
Peptone.....	5g.
Dextrose.....	40g.
Agar-agar.....	15g.
Casein.....	5g.
pH.....	5,6(±0,2).

### **Eau physiologique :**

NaCl.....	9g.
Eau distillé.....	qsp1000mL.

**ملخص:** الخمائر المسببة للأمراض من جنس *Candida* يمكن أن تسبب التهاب خطير للبشر، ويتم التعرف عليها كعوامل رئيسية لعدوى المستشفيات. الهدف من عملنا هو تقييم النشاط المضاد للفطريات لحمض 3-الإندول الخلي لأول مرة ضد سلالة مرجعية *Candida albicans* (IP444) من خلال تقنيتي انتشار متوسط صلب. سابورو. تم استخدام مضاد حيوي نيساتين، وهو مضاد للفطريات، كعنصر تحكم إيجابي في دراستنا. يحتوي حمض الإندول على نشاط مضاد للأدوية أكثر أو أقل أهمية وهو ضعيف مقارنة بالنيساتين. بأقطار مناطق التثبيط التي تم الحصول عليها من مادة النيساتين تصل إلى 37.50 مم، في حين أن حمض الأسيتيك ثلاثي الإندول له نشاط مضاد للفطريات، بأقطار منطقة تثبيط ما بين 11 و 37 مم. تبلغ قيم CMI الخاصة بحمض الإندول و النيساتين 12 ملجرام / مل و 12.8 ملغ / قرص، على التوالي. حمض الإندول هو مركب طبيعي يمكن استخدامه كعامل جديد مضاد للفطريات لعلاج داء *Candida*

**كلمات مفتاحية:** *Candida albicans*، حمض الإندول الخلي، نشاط مضاد للفطريات، CMI

---

**Abstract :** Pathogenic yeasts of the genus *Candida* can cause a serious infection in humans and are recognized as major agents of nosocomial infections. The purpose of our work is to evaluate for the first time the antifungal activity of indole-3-acetic acid against a *Candida albicans* reference strain (IP444) by two solid medium diffusion techniques. Nystatin was used as a positive control anti-fungal drug. Indole acetic acid has a more or less important anticandidosis activity which is weak compared to nystatin. The diameters of the inhibition zones obtained with nystatin up to 37.50 mm while the 3-indole acetic acid has antifungal activity, with diameters of the inhibition zone between 11 and 37 mm. The CMI values for nystatin and indole acetic acid are 12.8 mg/ml and 12 mg/disc, respectively. Indole acetic acid is a natural compound that can be used as a new antifungal agent for the treatment of candidiasis.

**Keywords :** *Candida albicans*, indole-3-acetic acid, antifungal activity, CMI.

---

**Résumé :** Les levures pathogènes du genre *Candida* peuvent causer une infection grave chez l'homme et sont reconnues comme des agents majeurs des infections nosocomiales. Le but de notre travail est d'évaluer pour la première fois l'activité antifongique de l'acide indole-3-acétique vis-à-vis d'une souche de référence *Candida albicans* (IP444) par deux techniques de diffusion sur milieu solide sabouraud. La nystatine, un médicament antifongique, a été utilisée comme témoin positif au cours de notre étude. L'acide indole acétique possède une activité anticandidosique plus ou moins importante qui est faible par rapport à la nystatine. Les diamètres des zones d'inhibition obtenus avec la nystatine allant jusqu'à 37.50 mm tandis que l'acide-3-indole acétique a une activité antifongique, avec des diamètres des zones d'inhibition compris entre 11 et 37 mm. Les valeurs de la CMI pour la nystatine et l'acide indole acétique sont 12,8 mg/mL et 12 mg/disque respectivement. L'acide indole acétique est un composé naturel peut être utilisé comme un nouveau agent antifongique pour le traitement des candidoses.

**Mots clés :** *Candida albicans*, acide indole-3-acétique, activité antifongique, CMI.

---