

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 environnementale et infectieuse

THEME

**Etude de l'effet antifongique de l'extrait
dichlorométhanique de l'algue marine
Asparagopsis aramata sur *Candida albicans***

Présenté par :

M^{lle}. BEDRAOUI Meriem

M^{lle}. ALLANE Rekia

Devant le jury :

Président : BENACEUR Farouk, Maître Assistant Classe B

Rapporteur : GOUZI Hicham, Maître de Conférences Classe A

Examineur: LEBOUKH Mourad, Maître Assistant Classe A

Soutenu publiquement le : 24 Mai 2017.

	Pages
Dédicaces.....	I
Remerciements.....	II
Résumé	III
Liste des figures.....	VI
Liste des photos.....	V
Liste des tableaux.....	VI
Liste des abréviations.....	VII
Introduction.....	1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : les candidoses et *Candida albicans*

I. Les candidoses.....	3
I.1 Classification des candidoses.....	3
I.1.1 Les candidoses superficielles.....	3
I.1.2 Les candidoses systémiques ou profondes	4
I.2 Diagnostic biologique	5
II. La levure <i>Candida albicans</i>	6
II.1 Taxonomie.....	6
II.2 Caractères généraux	6
II.3 Pathogénicité	8
II.4 Les antifongiques.....	8
II.4.1 Les antifongiques naturels	8
II.4.2 Les antifongiques de synthèse	9
II.5 Mécanismes de résistance.....	10

Chapitre 2 : Généralités sur les algues marines

I. Définition et morphologie des algues	12
II. Classification des algues.....	13
II.1 Les algues vertes (Chlorophycées)	13
II.2 Les algues brunes (Phéophycées)	14
II.3 Les algues rouges (Rhodophycées)	15
III. Les utilisations des algues	15
III.1 Agrofourrages et traitement de l'eau	15
III.2 Produits de santé et de bien-être.....	16

Sommaire

III.3 Algues alimentaires.....	16
III.4 Dans la biotechnologie	17
III.5 Dans le traitement des eaux usées	17
IV. <i>Asparagopsis armata</i>	17
IV.1 Définition et morphologie	17
IV.2 Ecologie	18
IV.3 Taxonomie	18
IV.4 Reproduction	19

Matériel et méthodes

I. Matériel.....	20
I.1 Matériel biologique.....	20
I.1.1 L'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i>	20
I.1.2 Souche fongique <i>Candida albicans</i>	20
I.2 Les produits et milieux de culture	21
II. Méthode.....	21
II.1 Préparation des extraits	21
II.2 Préparation de l'antifongique de référence: la nystatine	22
II.3 Préparation des précultures	22
II.4 Détermination de l'activité anticandidose	22
II.4.1 Technique de diffusion en milieu solide	22
II.4.1.1 Méthode de disques	22
II.4.1.2 Méthode des puits	23
II.4.2. Détermination de la CMI par la méthode de dilution en milieu solide	23

Résultats et discussion

I. Etude de l'effet antifongique de a nystatine.....	25
II. Effet antifongique de l'extrait dichlorométhanique d' <i>Asparagopsis armata</i>	26
Conclusion	29
Références bibliographiques	30

Annexe

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah le Miséricordieux, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail.

Que je dédie :

A mes chers parents qu'ils trouvent ici toute ma gratitude, pour ses encouragements incessants, leur soutien tout le long de mes études, les bénédictions et les conseils qu'ils n'ont cessé de me prodiguer. Que dieu les protège et leur donne bonne santé ;

A mes sœurs Maria et Khadidja ;

A mes frères Abderrahim, Abdallah et Lokman ;

A mes cousines et cousins ;

A mes deux familles Bedraoui et Khencha ;

A ma chère amie Rekia, Bouchra, Amina et mes collègues du laboratoire et à tous mes amies d'enfances, pour les bons moments qu'on a partagés ensemble ;

A tous mes enseignants depuis mes études primaires jusqu'à L'université sans exceptions ;

A tous ceux et celles qui m'ont aidé et soutenu même par la bonne parole.

Meriem.

Dédicaces

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail
que je dédie A:*

*Mes très chers parents que Dieu les protège pour leur patience, leur
amour, leur confiance et leur encouragement qui m'ont toujours poussée
à aller plus loin ; je leur suis très reconnaissante.*

*Mes très chers frères Abderrahman et Abdelaziz, que ce
travail soit pour eux un exemple à suivre.*

Que Dieu Les Bénisse

*Mes amis (es) depuis mon enfance et jusqu'à présent,
pour leur fidélité surtout mon adorable amie et sœur*

Meriem Bedraoui.

Sans oublier mes chères

Maroua Khorsi et Romaissa Merizegui

La famille Allane.

La famille Dada.

Et à tous ceux qui ont cru en moi

Rekia.

Remerciements

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

Nos remerciements sont en particulier à :

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

Tous les membres du jury BENACEUR Farouk (Maître Assistant Classe B),
LEBOUKH Mourad (Maître Assistant Classe A) et GOUZI Hicham (Maître de
Conférences Classe A) d'avoir accepté de présider et d'examiner ce rapport de
stage, qu'ils trouvent ici le témoignage de notre gratitude.

Mr. Yousfi Mohamed, Mr. Benadjila Abderrahman et Mme. Maidi Leila pour
leur soutien précieux et aide inestimable.

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

Toute l'équipe administrative et enseignante du département de Biologie de
l'Université Amar Telidji.

Nos collègues étudiants(es), avec qui nous avons eu le plaisir d'étudier durant
ces cinq dernières années.

Nos parents et à toutes nos familles pour leur amour, leurs soutiens et surtout
pour leurs prières.

Et à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin durant ces années d'études.

Résume :

L'incidence des infections fongiques invasives due à *Candida albicans* a considérablement augmenté ces dernières années. Notre travail s'inscrit dans le cadre de la découverte de nouveaux agents antifongiques naturels à partir d'une algue marine rouge *Asparagopsis armata*. Le matériel algal a été extrait par épuisement en utilisant le dichlorométhane comme solvant. L'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait dichlorométhanique a été réalisée vis-à-vis d'une souche de référence *Candida albicans* (IP444). La nystatine, un médicament antifongique standard, a été utilisée comme témoin positif au cours de notre étude. Les résultats de l'activité antifongique ont montré que l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* possède une activité antifongique, avec des diamètres des zones d'inhibition allant jusqu'à 54 mm. En outre, la concentration minimale inhibitrice (CMI) était de 0,66 mg/Disque. Cette dernière reste inférieure à celle de la nystatine (CMI = 0,3 µg/Disque). Ces résultats suggèrent que l'algue rouge *Asparagopsis armata* récoltée des cotes marine d'Algérie peut être utilisée comme source de nouveaux agents antifongiques.

Mots clés : *Asparagopsis armata*, dichlorométhane, *Candida albicans*, activité antifongique.

Abstract:

The incidence of invasive fungal infections due to *Candida albicans* has dramatically increased during these last years. Our work is inscribed in the frame of finding of new natural antifungal agents from marine red algae *Asparagopsis armata*. The algal material was extracted by exhaustion using dichloromethane as solvent. Evaluation of antimicrobial activity of the dichloromethanic extract was carried out against reference yeast strain *Candida albicans* (IP444). Results showed that this extract have an interesting antifungal activity, with inhibition zone diameters can be rise to 39 mm. In addition, the MIC of the dichloromethanic extract was 1 µg/ml. It remain lower than those of nystatin against the same strain (MIC = µg). These results suggest that *Asparagopsis armata* collected from Algerian coast can be used as a potential source of new antifungal agents.

Keywords : *Asparagopsis armata*, dichloromethane, *Candida albicans*, antifungal activity.

ملخص:

نواتج إصابات الفطرية الغازية التي في تزايد في سنوات الأخيرة ناجمة عن *Candida albicans* عملنا متضمن في إطار اكتشاف عوامل جديدة طبيعية مضادة للفطريات انطلاقاً من طحلب الأحمر البحري *Asparagopsis armata* المادة الطحلبية استخرجت بالاستنفاد بالاستعمال ثنائي الكلور الميثان كمذيب. وأجري تقييم نشاط مضاد الفطريات للمستخلص ثنائي كلور ميثاني أجري ضد الاصل المرجعية *Candida albicans* (IP444).

النيساتين، هو دواء القياسي المضاد للفطريات، الذي استعمل كشاهد إيجابي في هذه الدراسة .

أظهرت نتائج نشاط المضاد ان مستخلص ثنائي الكلور للطحلب الأحمر البحري *Asparagopsis armata* .

يمتلك نشاط مضاد للفطريات، بأقطار لمناطق التثبيط تصل حتى 39مم. من جهة أخرى الحد الأدنى للتركيز المثبط [ت.ا.م] قدرت ب 1 ميكروغرام/مل. هذه الأخيرة تبقى أقل من تلك الخاصة بالنيساتين (ت.ا.م. = 1 ميكروغرام/ميكروليتر). وتشير هذه النتائج أن الطحالب الحمراء المحصودة من جهة البحرية الجزائرية يمكن استعماله كمصدر للمضادات الفطرية الجديدة.

الكلمات المفتاحية: *Asparagopsis armata*, *Candida albicans* ، ثنائي كلور الميثان، النشاط المضاد للفطريات .

Liste des figures

	Pages
Figure 01. Muguet du nourrisson	03
Figure 02. La candidose œsophagienne.....	04
Figure 03. Photo de microscopie à contraste de phase <i>C. albicans</i> dans sa forme mycélienne	07
Figure 04. <i>C. albicans</i> vue microscopique des chlamydospores.....	07
Figure 05. Observation macroscopique des colonies de <i>C.albicans</i>	08
Figure 06. Formules chimiques de la Nystatine.....	09
Figure 07. L'amphotericine B	10
Figure 08. Principaux stratagèmes des mécanismes de résistance contre les différents agents antifongiques	11
Figure 09. <i>Ulva lactuca</i>	14
Figure 10. <i>Laminaria digitata</i>	14
Figure 11. <i>Palmaria palmata</i>	15
Figure 12. <i>Asparagopsis armata</i>	18
Figure 13. Cycle de vie du <i>l'Asparagopsis armata</i>	19

Liste des photos

	Pages
Photo 1 : Photographie de Salamandre.....	20
Photo 2 : Colonies de <i>Candida albicans</i>	20
Photo 3 : Photo de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i> A. Algue sèche ; B. Algue broyer.....	21
Photo 4 : Photo de la macération d'algue marine <i>Asparagopsis armata</i>	21
Photo 5 : L'évaporateur rotatif de type Heidolph 4010 digital.....	22
Photo 6 : Les dilutions d'extrait d'algue.....	23
Photo 7 : Effet de la nystatine sur <i>Candida albicans</i> déterminé par la méthode de disque (CIP 444) (Méthode de disques).....	25
Photo 8 : Résultats de l'effet de l'extrait dichlorométhanique d' <i>Asparagopsis armata</i> sur <i>Candida albicans</i> (IP444) (Méthode de puits).....	26
Photo 9 : Résultats de l'effet de l'extrait dichlorométhanique d' <i>Asparagopsis armata</i> sur <i>Candida albicans</i> (IP444) (Méthode des disques).....	26

Liste des tableaux

	Pages
Tableau 1. Les principaux caractères morphologiques et biochimiques de <i>C.albicans</i>	08
Tableau 2. Classification des algues selon leurs pigmentations.....	13
Tableau 3. Les mesures des diamètres de l'antibiogramme en présence de l'antifongique (Nystatine).....	25
Tableau 4. Détermination de la valeur de CMI par la méthode de disque.....	27
Tableau 5. Détermination de la valeur de CMI par la méthode de puits.....	27

Liste des abréviations

A

AMB : Amphotericine B.

ATF : antifongique.

C

°C : Degrés Celsius.

Cm : centimètre.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

D

D : Diamètre.

DO : Densité optique.

DMSO : Dimethylsulfoxyde.

G

g : Gramme.

g/l : Gramme par litre.

g/mL : Gramme par millilitre.

H

h : Heur.

I

IP : Institut Pasteur.

M

m : Mètre.

mg/mL : Milligramme par millilitre.

mg/Disque : milligramme par disque.

mg/puit : milligramme par puit.

min : Minute.

mL : Millilitre.

mm : Millimètre.

Liste des abréviations

N

nm : Nanomètre.

Q

qsp : quantité suffisante pure.

R

Rpm : round par minute.

T

T : Témoins.

Tab : Tableau.

U

UFC : Unité Formant Colonie.

UFC/ml : Unité Formant Colonie par millilitre.

V

VIH : Virus immunodéficience humain.

% : Pourcent.

µg/Disque : microgramme par disque.

µl : Microlitre.

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

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

Selon Garnier (2016), 70 % des chocs septiques à levures, parmi les patients hospitalisés en soins intensifs, sont dus à des *Candida albicans* et 22 % à des *Candida* non *albicans*.

Par conséquent, un grand intérêt a été réservé, au cours de la dernière décennie à l'étude des candidoses, tant de point de vue biologique, que de point de vue nosologique et thérapeutique. Cette importance donnée à l'étude des candidoses fait suite à l'apparition de la résistance des souches aux médicaments les plus communément utilisés et aux complications que ces germes produisent chez des patients à profil clinique particulier, ce qui rend nécessaire l'identification de nouvelles molécules issues des substances naturelles en basant surtout sur les substances extraites à partir des plantes de types des algues (**Zidaa et al., 2017 ; Senhaji et al., 2005**).

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

La biomasse algale des côtes marines Algérienne n'as pas encore était exploité comme source potentielle d'agent antimicrobien. Par conséquent l'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'activité antifongique de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis*

armata non encore étudiée à notre connaissance sur la levure *Candida albicans* par la méthode de diffusion sur milieu solide.

L'effet antifongique de l'extrait algal est comparé à celui de la nystatine comme antifongique de référence. Les valeurs CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) de ses deux agents ont été déterminées.

La première partie de ce mémoire est consacrée à une revue bibliographique des différents éléments relatifs à notre travail. Le premier chapitre est consacré aux candidoses et à l'agent pathogène. Dans un second chapitre, nous décrivons les algues marines et l'algue étudiée.

Dans une deuxième partie, nous présentons le matériel et les méthodes utilisés pour réaliser nos objectifs. Enfin, dans la dernière partie, nous discutons nos résultats et nous abordons nos perspectives de recherche en continuité de ce travail.

I. Les candidoses

Les candidoses s'observent dans toutes les régions du globe. Elles sont dues à la multiplication de levures appartenant à la flore normale du sujet. A la faveur d'une rupture de l'homéostasie, ces levures se mettent à proliférer au sein de leur biotope naturel (candidose superficielle) et peuvent envahir les tissus voisins (candidoses invasives) (**Born, 2013 ; Bonnetblanc, 2012**).

I.1 Classification des candidoses :

Il existe deux types de candidoses : les candidoses superficielles et les candidoses systémiques ou profondes.

I.1.1 Les candidoses superficielles

Les infections de la peau et des muqueuses peuvent se produire aussi bien chez les sujets sains que chez les individus immunodéprimés (**Pierquin, 2010**).

Les candidoses cutanées se développent dans les zones de transpiration, comme l'aîne, les aisselles, les zones interdigitales, et sur les endroits brûlés ou écorchés (**Pierquin, 2010**). Elles peuvent résulter de contacts répétés avec l'eau, de traumatismes mécaniques ou chimiques (**Hay et al., 1988**).

C. albicans peut infecter différentes muqueuses : la cavité buccale, la muqueuse vaginale et l'œsophage (**Pierquin, 2010**).

L'une des candidoses les plus connues touchant la cavité buccale est le muguet qui affecte fréquemment le nouveau-né, les patients traités par des antibiotiques à large spectre et les personnes immunodéprimées, surtout celles atteintes du SIDA (**Pierquin, 2010 ; Jerome et al., 2004 ; Madigan et Martinko 2007 ; Quevauvilliers et al., 2007**).

Cette infection apparaît sous forme de taches blanches sur une muqueuse érythémateuse de la paroi buccale avec des petites plages d'aspect «lait caillé» (**Rangel -Frausto et al., 1999**).



Figure 1 : Muguet du nourrisson (Pierquin, 2010)

Les candidoses œso-gastro- intestinales sont souvent liées à la prise prolongée d'antibiotiques qui détruisent la flore bactérienne intestinale et permettent à *C. albicans* de

proliférer. Ces candidoses ont un aspect de pseudomembranes blanches adhérentes à la muqueuse inflammatoire, parfois ulcérée (Flattery *et al.*, 1996).



Figure 2 : La candidose œsophagienne (Pierquin, 2010)

C'est une infection particulièrement fréquente chez les sujets porteurs du VIH, les cancéreux et les leucémiques (Pierquin, 2010).

Les candidoses génitales ou vulvo-vaginites sont également fréquentes, elles affectent un grand nombre de femmes bien portantes en âge de procréation, elles sont causées par les médicaments (cures répétées d'antibiotiques), les œstrogènes, les corticoïdes, les immunosuppresseurs (Pierquin, 2010) et la grossesse (Totora *et al.*, 2001). Les symptômes évocateurs de la vaginite sont le prurit, la présence de leucorrhées blanches avec une muqueuse vaginale érythémateuse à aspect pseudomembraneux blanchâtre (Odds, 1988). **1.1.2 Les candidoses systémiques ou profondes**

Elles sont rares dans la population générale, mais elles représentent une complication redoutée en milieu hospitalier (Beck-Sague et Jarvis, 1993; Pfaller *et al.*, 1998; Kao *et al.*, 1999).

Les candidoses systémiques relèvent de deux mécanismes différents sur le plan physiopathologique. Elles peuvent en effet être la conséquence de contaminations nosocomiales « exogènes » souvent chez les patients ayant des cathéters intravasculaires (produits de perfusion, transmission manuportée). Elles peuvent aussi être consécutives au passage vers le sang et les organes profonds de levures ayant colonisé des sites digestifs et/ou génito-urinaires « endogènes ». On note que l'espèce *C. albicans* est responsable d'environ la moitié des infections (Pierquin, 2010).

Le diagnostic de candidoses systémiques est souvent difficile et retardé. Il existe des localisations secondaires liées à une dissémination hématogène comme les localisations

cutanée, oculaire, cardiaque, hépatosplénique, ostéoarticulaire, neuroméningée et pulmonaire (**Pierquin, 2010**).

I.2 Diagnostic biologique

Le Diagnostic est avant tout l'examen clinique ; l'examen mycologique ne fera que confirmer la clinique ou dans les cas difficiles, établir ou orienter le diagnostic. Une culture positive, mais sans symptomatologie clinique, ne signifie pas une infection fongique (**Vallanet, 2005**).

Le diagnostic biologique ou dite mycologique des infections candidosiques est difficile et manque souvent de sensibilité. La stratégie diagnostique s'appuie d'une part sur la recherche directe d'éléments fongiques (examen direct, culture, antigénémie et PCR) et d'autre part sur la recherche indirecte (recherche d'anticorps) (**Fournier, 2011**).

Le diagnostic biologique des candidoses superficielles peut se faire soit :

- par examen direct après prélèvement au niveau des lésions (tout dépend du site de l'infection) (**Pierquin, 2010**);

- par une mise en culture : on observera des cultures blanches crémeuses (**Pierquin, 2010**) ;

- *CHROMagar Candida (CHROMagar)*:

C'est un milieu qui contient un substrat chromogène qui permet l'identification présomptive immédiate de *C. albicans* en donnant une couleur (vert) (**Marnes, 2008 ; Cardinale, 2001**).

- La recherche par culture est facile à effectuer et reste la méthode de référence sur milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile) on obtient des chlamydosporés (**Dembele, 2007 ; Vallanet, 2005**) ;

- par identification par le test de blastèse (**Pierquin, 2010**). Ce test permet l'identification de *C. albicans* en moins de 4 heures (**Cardinale, 2001 ; Risipail, 2005**).

Décrit par Taschdjian en 1960 et inspiré des travaux de Reynoldts et Braune qui avaient montré en 1956 que les constituants du sang favorisaient la formation de filaments par certaines levures (**Cardinale, 2001 ; Risipail, 2005**).

Pour identifier l'espèce on utilise des galeries API-ID32C (bioMérieux®). L'identification se fait par des caractères biochimiques qui reposent sur l'assimilation de différents substrats (**Fournier, 2011**).

Les candidoses systémiques peuvent diagnostiquées par :

- les hémocultures ;

- le sérodiagnostic avec recherche des anticorps anti-Candida et recherche de l'antigène circulant ;

-examens directs et mises en culture après prélèvements au niveau des sites périphériques (bouche, expectoration, selles, urines) ou après biopsie pour toutes les lésions accessibles (**Pierquin, 2010**).

II. La levure *Candida albicans*

II.1 Taxonomie (Benmezad, 2016; Born, 2013).

Embranchement : Ascomycota

Classe : Ascomycetes

Ordre : Saccharomycetales

Famille : Saccharomycetaceae

Genre : *Candida*

Espèce : *Candida albicans*



II.2 Caractères généraux

Candida albicans est une levure diploïde, sa taille varie entre 3 et 15 µm de diamètre, (**Rustchenko-Bulgac et Howard 1993**), non capsulée et non pigmentée (**Pierquin, 2010**).

Elle est formée à partir d'une cellule initiale selon un processus de bourgeonnement donnant naissance à des cellules sphériques ou oblongues encore appelées blastospores ou blastoconidies, la forme des blastospores peut changer de la forme ovoïde (**Odds, 1988**).

C. albicans présente deux stades morphologiques spécifiques, ce qui lui confère le caractère de champignon dimorphique avec une transition des blastoconidies à la forme filamenteuse : la première forme est celle des blastoconidies, la seconde est celle du mycélium vrai. Lorsque les conditions de croissance sont défavorables, *C. albicans* peut prendre la forme d'une grosse spore ronde, réfractaire, à paroi très épaisse qui se forme à l'extrémité des rameaux pseudomycéliens ; la chlamydospore (**Warren et Shadomy, 1991**).

La seule structure différenciant la levure (*C.albicans*) d'une cellule eucaryote « classique » est la présence d'un système vaculo-vésiculaire, évoluant en relation avec le cycle cellulaire et la division et impliqué en majeure partie dans la synthèse de la paroi (**Barelle et al., 2006**). Cette dernière donne à la levure sa forme et sa stabilité mécanique. Elle est aussi une zone de contact entre la cellule et son environnement (**Ruiz-Herrera, 2006**).

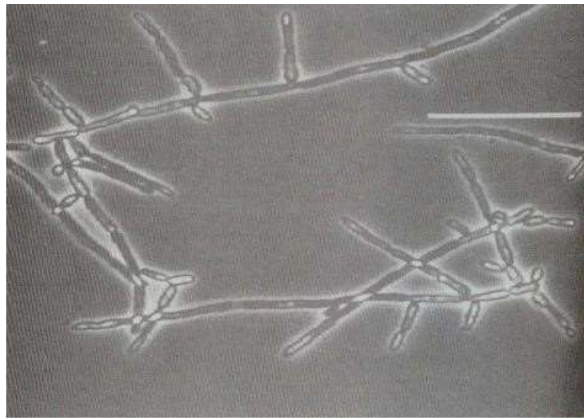


Figure 3 : Photo de microscopie à contraste de phase de *C. albicans* dans sa forme mycélienne (**Chami, 2005**).

Les caractères macroscopiquement apparaissent sous forme de colonies blanches à crémeuses la texture peut être pâteuse, lisse, brillante, sèche, ridée ou terne (**Fournier, 2011**).

Les *Candida* poussent sur une gélose Sabouraud contenant des antibiotiques antibactériens à 25°C ou 37°C selon l'origine du prélèvement. Les colonies de levures sont visibles en 24 à 48 heures.

C. albicans se caractérise microscopiquement par la production des blastoconidies, rondes ou allongées, et la plupart des pseudo-hyphes qui peuvent être longs, incurvés ou ramifiés. Certaines espèces présentent des formes de résistances appelées chlamydospores (**Fournier, 2011**).



Figure 4 : *C. albicans* vue microscopique des chlamydospores (**Pierquin, 2010**)



Figure 5: Observation macroscopique des colonies de *C. albicans*
(Dominique, 2013)

C. albicans est rarement isolé de l'environnement. Chez l'Homme, cette levure peut coloniser de nombreux sites et vivre en commensale à l'intérieur du tube digestif, des voies urogénitales (Mok *et al.*, 1984).

Le Tableau (1) ci-dessous regroupe les principaux caractères morphologiques et biochimiques de *C. albicans* : (Fournier, 2011)

	<u>Morphologie</u>		<u>Auxanogramme</u>							<u>Zymogramme</u>				<u>Autres caractères</u>		
<u>La levure</u>	Pseudo ou vrai filament	Chlamydospores	Glucose	Maltose	Saccharose	Galactose	Lactose	Raffinose	Xylose	Glucose	Maltose	Saccharose	Lactose	KNO ₃	Urée	Résistance à l'actidione
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	±	-	-	-	+

II. 3 Pathogénicité

Candida albicans est l'agent étiologique majeur des candidoses (Les infections opportunistes dues à des champignons levuriformes, du genre *Candida*) superficielles et profondes (Born, 2013 ; Hart et Shears, 1997).

C. albicans fait partie de la microflore normale du tractus gastro-intestinale, de la bouche et du vagin. Ce microorganisme ne cause généralement pas de maladie car les populations bactériennes de ces régions empêchent la croissance de *C. albicans*. En absence de microflore normale, le champignon prolifère et provoque la maladie (Jerome *et al.*, 2004 ; Totoro *et al.*, 2001).

C'est un agent pathogène opportuniste qui a besoin d'un changement d'immunité local ou général pour provoquer une inflammation (Candega, 1977). 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 (Totoro *et al.*, 2001).

II.4 Les antifongiques

Les antifongiques se répartissent en deux catégories : les antifongiques naturels et les antifongiques de synthèse.

II.4.1 Les antifongiques naturels

La nystatine (produite par *Streptomyces noursei*) : particulièrement actif sur *Candida albicans* par voie orale (dans les mycoses du tube digestif). Cependant, la nystatine présente une toxicité qui limite son utilisation à un usage exclusivement topique (notamment des infections à *Candida* de la région buccale et de la région vulvo-vaginale) ; (Quevauvilliers, 2007 ; Faure, 2009 ; Giordani et Kaloustian, 2006).

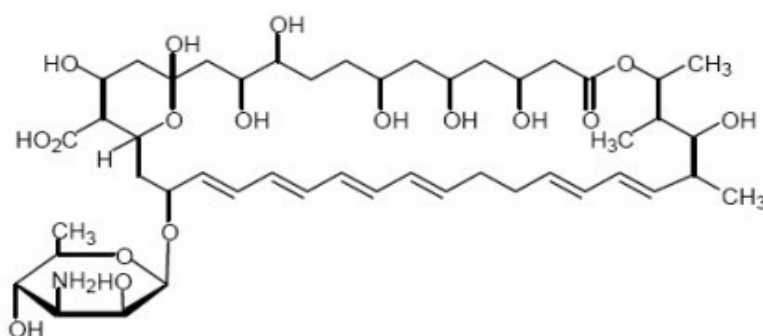


Figure 6: formules chimiques de la Nystatine (Chami, 2005).

L'amphotericine B (synthétisée par *Streptomyces nodosus*) : qui est la molécule de référence avec un large spectre (candidose, aspergillose, cryptococcose), elle est utilisée pour la chimiothérapie intraveineuse des mycoses profondes, son coût est faible mais sa toxicité, en particulier rénale, est importante. Les formes liposomales d'AMB présentent une meilleure tolérance mais leur coût est très élevé (Faure, 2009 ; Giordani et Kaloustian, 2006).

L'AMB possède un spectre d'activité très large sur les champignons filamenteux et sur les levures, en particulier du genre *Candida* (Pappagianis *et al.*, 1979).

En plus de son effet fongicide, l'AMB inhibe, à faible concentration, l'adhésion de *C. albicans* sur l'épithélium buccal ainsi que la formation de tube germinatif (Abu-El Teen *et al.*, 1989).

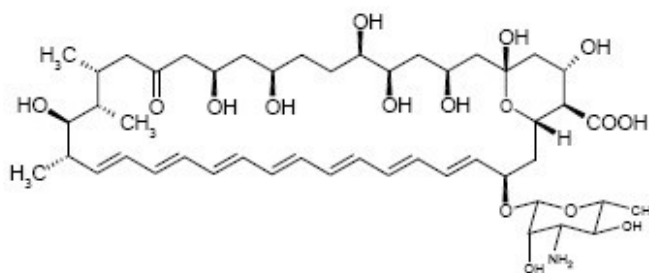


Figure 7 : L'amphotericine B (Giordani et Kaloustian, 2006).

II.4.2 Les antifongiques de synthèse :

Par exemple la flucytosine qui est active contre les espèces de *Candida* (Giordani et Kaloustian, 2006).

On distingue des médicaments utilisés pour le traitement des candidoses de la peau ou des muqueuses qui consiste en l'application locale de miconazole, de clotrimazole, la nystatine et fluconazole (Jerome *et al.*, 2004 ; Cardinale, 2001 ; Gerard *et al.*, 2001). Alors que dans le cas d'une candidose systémique, l'administration de ketoconazole par voie orale ou d'amphotéricine par voie veineuse sont les traitements habituels (Totora *et al.*, 2001).

II.5 Mécanismes de résistance :

Un germe est dit résistant à un agent antimicrobien quand la CMI de celui-ci est supérieure à la concentration sanguine maximale médicamenteuse à une posologie standard. Cette résistance peut être naturelle ou acquise (Chami, 2005), ces résistances acquises surviennent rarement, mais principalement après l'exposition à un antifongique, et peuvent correspondre à un état d'adaptation transitoire ou définitif (Sanglard et Odds, 2002; Sanglard *et al.*, 1997).

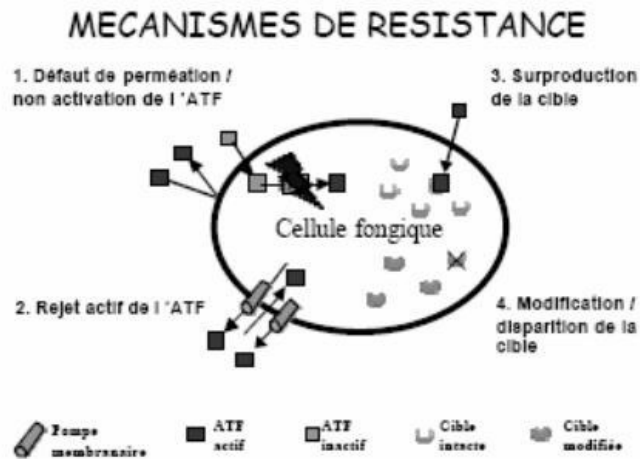


Figure 8 : Principaux stratagèmes des mécanismes de résistance contre les différents agents antifongiques (Grillot et Noël, 1999)

Les quatre mécanismes de résistances connus sont : (Chami, 2005)

- Une modification de la cible ;
- La cellule fongique peut soit modifier sa perméabilité pour l'agent antifongique, soit agir par la mise en place d'une pompe d'efflux ce qui a pour conséquence un rejet de la molécule antifongique ;
- Une surproduction de la cible (phénomène connu avec les azolés) ;
- Une perte de la cytosine-désaminase.

I. Définition et morphologie des algues

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

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

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

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

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

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

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

II. Classification des algues

Le critère de classification des algues est leur pigmentation (Tab 2), qui permet de définir plusieurs grands groupes : les algues rouges, les algues brunes, les algues vertes (Sandrine, 2004 ; Lecointre *et al.*, 2001 ; Nil, 2012 ; Farid *et al.*, 2012).

Tableau 2 : classification des algues selon leurs pigmentations : (Belmokhtar, 2012).

Algues	Pigments
Algues vertes: Chlorophyceae	chlorophylle A seule
Algues rouges: Rhodophyceae	Chlorophylle A + biliprotéines (phycoerythrine : rouge)
Algues brunes: Phaeophyceae	Chlorophylle A + Xanthophylle (jaunes) (fucoxanthine)

II.1 Les algues vertes (Chlorophycées)

Elles sont de formes très variées, uni- ou pluricellulaires (Sandrine, 2004 ; Lecointre et Belin, 2001).

Elles possèdent des plastes d'un vert franc contenant de la chlorophylle a et b (Sandrine, 2004 ; Lecointre, et Belin, 2001).

Sa taille est également réduite, et elle se situe dans des limites similaires à celle des algues rouges (Belmokhtar, 2012), auxquelles sont associés des carotènes et des xanthophylles. La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures. La plupart des algues vertes vivent en eau douce ou en milieux marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre.

Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale (Sandrine, 2004 ; Lecointre et Belin, 2001).



Figure 9: *Ulva lactuca* (Mesnildrey *et al.*, 2012).

II.2 Les algues brunes (Phéophycées)

La grande majorité des algues brunes sont marines (Sandrine, 2004 ; Lecointre et Belin, 2001). La couleur brune de ces algues résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène (Sandrine, 2004 ; Lecointre et Belin, 2001).

Elles ne produisent jamais d'amidon et les matières de réserve consistent en laminarine et en mannitol (Belmokhtar, 2012).

Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions qui a souvent 20 m de long (Belmokhtar, 2012), varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens.



Figure 10: *Laminaria digitata* (Mesnildrey *et al.*, 2012)

II.3 Les algues rouges (Rhodophycées)

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

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



Figure 11: *Palmaria palmata* (Mesnildrey *et al.*, 2012).

III. Les utilisations des algues

Les utilisations des algues, marines sont très diverses et leur importance augmente continuellement. Près de deux cents genres d'algues marines benthiques (correspondant sans doute à plusieurs milliers d'espèces) sont cités dans la littérature scientifique pour avoir été exploités, ou étudiés en vue d'une exploitation, dans une région quelconque du globe (Delepine, 1974).

III.1 Agrofournitures et traitement de l'eau

Depuis longtemps les populations littorales fertilisaient leurs terres à l'aide des macroalgues surtout avec les grandes algues brunes qui sont recueillies généralement au niveau des plages, puis lavées et coupées (Lucil *et al.*, 2012).

Elles sont aussi transformées en poudre, extraits liquides ou microbilles et sont épandues sur les terres (Bras *et al.*, 2014).

Les algues sont également utilisées comme ingrédient dans la fabrication d'aliment pour le bétail (Bras *et al.*, 2014).

En effet les algues produisent des substances protectrices contre les agressions par les gastéropodes pour l'alimentation animale, les fuciales sont utilisées comme additifs alimentaires pour leurs qualités digestives. Elles sont transformées en farines mélangées à la nourriture (Bras *et al.*, 2014).

On peut également signaler que le maerl est utilisé dans les stations de traitements d'eau potables pour les traitements de l'eau, pour la reminéralisations, la correction du PH et de l'agressivité de l'eau (Bras *et al.*, 2014).

Agar, Alginate et carraghénanes sont ainsi devenus des ingrédients incontournables de l'industrie agroalimentaire (Bras *et al.*, 2014).

L'emploi des fertilisants naturels devrait permettre une diminution de la quantité d'engrais chimiques et des traitements phytosanitaires classiques polluant le sol ou/et la récolte (**Lucile et al., 2012**).

III.2 Produits de santé et de bien-être

Les espèces d'algues utilisées par la filière cosmétique sont souvent les mêmes que celles utilisées pour les applications alimentaires (**Bras et al., 2014**).

L'étiquette de produits tels que des crèmes et des lotions indique parfois qu'ils contiennent en particulier des «extraits d'éléments marins», des «extraits d'algues», des «extraits d'algues marines» ou d'autres mentions semblables. Cela signifie généralement qu'on a ajouté l'un des hydrocolloïdes extraits des algues marines (**Points Saillants Des Études Spéciales De La FAO, 2004**).

La filière cosmétique utilise les algues sous forme d'extraits de plantes, broyées (pour les gommages par exemple) ou en tant qu'agents de coloration. Etant donné que le marketing joue un rôle important dans l'industrie des cosmétiques, les algues sont souvent utilisées afin de véhiculer une image de produits naturels apportant les bienfaits de la mer. Les extraits d'algues sont également utilisés par le secteur pharmaceutique. Les principes actifs extraits des algues sont utilisés comme anti-inflammatoire œsophagien, pour lutter contre l'embonpoint, pour leur effet laxatif ou encore pour les pansements (**Brault, 1998**).

Phycocolloïdes dans les secteurs de l'agroalimentaire, de la chimie et de la microbiologie (**Bras et al., 2014**).

III.3 Algues alimentaires

Les algues sont consommées en Asie depuis l'aube de l'humanité. En Occident, cette consommation directe d'algues est plus marginale et plus récente. Elles ont été récemment approuvées pour une consommation humaine (comme légumes et condiments), ouvrant ainsi de nouvelles opportunités pour l'industrie agro-alimentaire (**Lucile et al., 2012**).

Certaines espèces d'algues peuvent être consommées comme des légumes. Plusieurs processus de conservation des algues peuvent être utilisés : elles peuvent être séchées, congelées, mises en bocaux, salées ou servies fraîches (**Bras et al., 2014**).

Ces espèces contiennent des protéines, lipides, vitamines et minéraux et constituent donc une source d'aliment précieuse. Environ 75% de la production d'algues produites mondialement (8 millions de tonnes d'algues fraîches) est destinée à l'alimentation humaine directe (**Lucile et al., 2012**).

Les algues rouges sont la source d'agar et de l'agarose. Les genres *Gelidium*, *Gracilaria*, *Acanthoptelasma* et *Pterocladia* sont les principaux producteurs de ces matériaux (Lucile *et al.*, 2012).

Le mucilage extrait à chaud de ces algues donne après purification, déshydratation et broyage la poudre d'agar-agar utilisée essentiellement pour gélifier un grand nombre de produits alimentaires mais aussi les milieux de culture pour les microorganismes ou les cultures *in vitro* (Lucile *et al.*, 2012).

III.4 Dans la biotechnologie

Le processus biotechnologique des macroalgues marines a trois éléments : La cellule et le développement de culture cellulaire, la conception de photobioréacteur, et l'identification des stratégies pour obtenir la biosynthèse de métabolites secondaires (synthèse biomimétique). L'ingénierie biotechnologique (biomoléculaire) des macroalgues marines pour la production de ces composés est un domaine nouveau émergent de la biotechnologie marine. Les Rhodophycées contiennent une protéine particulière appelée phycoérythrine (PE) qui est déjà utilisée dans les applications biotechnologiques comme colorant ou teinture dans des réactions d'immunofluorescence (Fleurence, 1999).

III.5 Dans le traitement des eaux usées

La technique dite de lagunage représente une alternative économique et efficace à des systèmes de traitement (les rejets des villes, de l'industrie, des fermes aquacoles, des entreprises agricoles). La capacité des algues à absorber les nutriments issus d'élevages piscicoles a été démontrée à partir de cultures d'algues en bassin (Cohen et Nori, 1991).

L'intérêt de l'utilisation des macroalgues pour le traitement des eaux usées en eau salée a été démontré dès la fin des années 70 dans des mélanges d'eau usée et d'eau de mer. De plus, la biomasse algale formée est potentiellement valorisable, notamment pour l'alimentation des poissons. Toutefois, les milieux riches en azote comme les effluents des fermes piscicoles, où les macroalgues sont utilisées comme biofiltres, peuvent augmenter leur teneur en protéines (Lahaye *et al.*, 1991).

IV. *Asparagopsis armata*

IV.1 Définition et morphologie

Asparagopsis armata est une algue rouge marine pluricellulaire, Son thalle se présente sous forme de touffes roses au contour pyramidal, de 15 à 30 cm de long .Il est ramifié et est constitué par une alternance de rameaux longs à croissance indéfinie, de rameaux courts, encore appelés brachyblastes, et de rameaux épineux, en forme de "harpon", par l'intermédiaires quels les

frondes d'*Asparagopsis armata* s'accrochent aux algues environnantes. Ces deux derniers rameaux ont une croissance limitée (Sandrine, 2004; Natalie, 2011).

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

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



Figure 12 : *Asparagopsis armata* (Boudouresque, 2010)

IV.2 Ecologie

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

Egalement présente en Nouvelle-Zélande et en Tasmanie, elle s'est naturalisées sue les côtes européennes par le biais du canal de suez depuis les années 1920. C'est ainsi que son aire de répartition s'est étendue des cotes algériennes ou elle fut décrite des 1923(Sandrine, 2004 ; Dijoux, 2014).

Aux côtes françaises méditerranéennes et atlantiques, jusque dans les îles britanniques sa présence est constatée sur l'île d'Ouessant des 1936 par chemin (Sandrine, 2004 ; Dijoux, 2014).

IV.3 Taxonomie (Dijoux, 2014 ; Sandrine, 2004)

Embranchement : Rhodophyta

Classe : Florideophyceae

Ordre : Bonnemaisoniales

Famille : Bonnemaisoniaceae

Genre : *Asparagopsis*

Espèce : *Asparagopsis armata*

IV.4 Reproduction

La reproduction des algues est à la fois sexuée. La reproduction sexuée fait appel à des cellules spécialisées, les gamètes, qui fusionnent pour donner naissance à un œuf appelé zygote. La reproduction asexuée, quant à elle, s'effectue à l'aide de spores, cellules qui ne fusionnent pas mais donnent directement naissance à un autre individu (Sandrine, 2004 ; Natalie, 2011).

Dans la majorité des cas, la descendance d'un individu comporte une succession de générations alternativement gamétophytique (thalle producteurs de sporophytes), morphologiquement semblables (cycle isomorphe) ou non (cycle hétéromorphe) (Sandrine, 2004 ; Natalie, 2011).

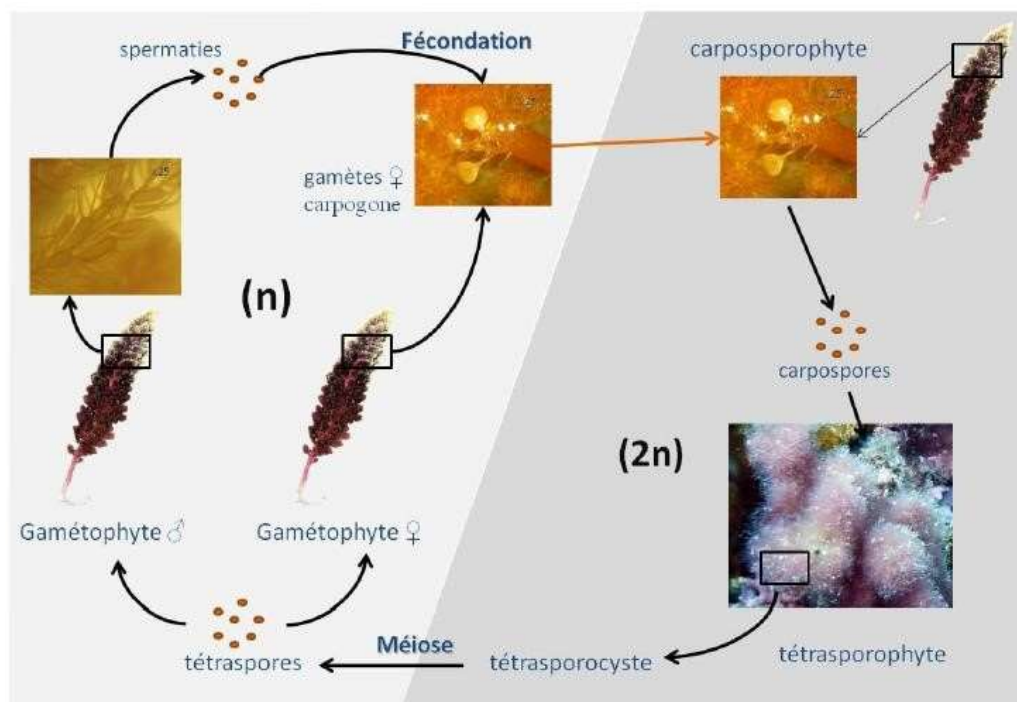


Figure 13 : Cycle de vie de l'*Asparagopsis armata* (Dijoux, 2014)

I. Matériel

I.1 Matériel biologique

I.1.1 L'algue marine rouge *Asparagopsis armata*

L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* a été récoltée en mois d'avril 2017 à une profondeur d'environ 50 cm de la surface d'eau de mère de la plage Salamandre (Mostaganem, 09°02'50'' longitude Ouest et 32°44'42'' l'altitude nord), située sur la côte Méditerranéenne Algérienne. Les échantillons d'algue récoltée ont été rincés sur place avec de l'eau de mer afin d'éliminer tous les débris adhérents qui pourrait influencer l'évaluation des activités biologiques.



Photo 1 : Photographie de Salamandre (Google maps, 2017).

I.1.2 Souche fongique *Candida albicans*

L'activité antifongique de l'extrait algal a été testée sur *Candida albicans* (IP 444) fournie par le laboratoire de recherche des antibiotiques et des antifongiques de l'Université de Tlemcen.



Photo 2 : Colonies de *Candida albicans* (Allane et Bedraoui, 2017).

I.2 Les produits et milieux de culture

Les principaux produits chimiques utilisés dans cette étude sont la nystatine et le diméthyle sulfoxyde (DMSO). La levure *Candida albicans* est cultivée en milieu solide sabouraud (Annexe).

II. Méthode

II.1 Préparation des extraits

L'algue *A. armata* séchée à l'air libre pendant 2 jours (photo 3.A) est broyée à l'aide d'un mortier en poudre plus ou moins fine. 25g de la poudre algale est introduite dans un flacon contenant 200 ml de dichlorométhane (99.99%). Le mélange obtenu est agité à 250 rpm pendant macéré 24 heures à l'abri de lumière et à température ambiante.



Photo 3: Photo de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* (Allane et Bedraoui, 2017).

A. Algue séche ; B. Algue broyeur.



Photo 4 : Photo de la macération d'algue marine *Asparagopsis armata* (Allane et Bedraoui, 2017).

Le macéra obtenu est filtré trois fois à l'aide un papier filtre (Wattman N° 1). Le filtrat est évaporé à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (photo 5) réglé à 45°C.



Photo 5: L'évaporateur rotatif de type Heidolph 4010 digital (Allane et Bedraoui, 2017).

Le résidu sec obtenu est récupéré par le DMSO (diméthylsulfoxyde) pour une concentration finale de 200g/l. L'extrait algal de nature huileuse et de couleur verte, est conservé à 4°C dans un tube en verre hermétiquement fermé pour son utilisation ultérieure.

II.2 Préparation de l'antifongique de référence: la nystatine

Pour évaluer la sensibilité de la souche fongique *C. albicans*, nous avons utilisé la Nystatine comme antifongique de référence. La nystatine est préparée à une concentration finale de 50 mg/mL en utilisant le DMSO (99.99%) comme solvant.

II.3 Préparation des précultures

La levure *Candida albicans* a été cultivée dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre contenant le milieu sabouraud (pH 5.6). Après 48h d'incubation à 37°C un inoculum d'une densité optique de 0.1 mesurée à 620 nm a été préparé dans de l'eau physiologique stérile.

II.4 Détermination de l'activité anticandidose

II.4.1 Technique de diffusion en milieu solide

II.4.1.1 Méthode de disques

Pour tester l'activité antifongique d'algue *A. armata* et de la nystatine, nous avons adopté la technique de diffusion standardisée. C'est à partir de disques imprégnés par 10µl d'extrait de l'algue étudiée ou de la nystatine sont déposés sur le milieu gélosé Sabouraud préalablement

ensemencé avec un inoculum de $0,1 \text{ DO}_{620 \text{ nm}}$ de *C. albicans* (10^8 UFC/mL) à l'aide d'un écouvillon. L'un des disques est imprégné du DMSO (99.99%) seulement servant comme témoin négatif.

Pour permettre une bonne diffusion des extraits, les boîtes de Pétri sont déposées sur la paille pendant 30 à 60 minutes avant l'incubation. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 48h.

II.4.1.2 Méthode des puits

Afin de tester l'activité inhibitrice de l'algue rouge *A. armata*, on a fait la méthode des puits qui consiste à effectuer des puits dans les boîtes déjà ensemencées par la suspension fongique à l'aide d'une pipette pasteur stérile, le volume de l'extrait injecté dans les puits de chaque boîte étant de $40\mu\text{l}$. Une boîte servant de témoin négatif est ensemencée par le DMSO. Les boîtes, ainsi préparées, sont incubées (pendant 48h à 37°C).

II.4.2. Détermination de la CMI par la méthode de dilution en milieu solide

Après avoir effectué les tests préliminaires d'activité, par la méthode de diffusion (méthode des puits, et de disques), nous avons procédé à la détermination des CMI de l'extrait dichlorométhanique et de la nystatine selon la méthode de la dilution en milieu solide.

Pour cela, nous avons effectué tout d'abord une série de dilution de l'extrait algal pour avoir des solutions à concentrations croissantes de $0,6 \text{ mg/mL}$ à 200 mg/mL . De même, nous avons préparé une série de dilution à partir de la solution mère de nystatine (50 mg/mL) dont les concentrations sont comprises entre 0.1 et 50 mg/mL .



Photo 6 : Les dilutions de extrait d'algue (Allane et Bedraoui, 2017).

10 µl de chaque solution a été posé sur des disques de 6 mm de diamètre qui par la suite déposés eux-mêmes sur milieu gélosé préalablement ensemence. Les boîtes, ainsi préparés, sont incubées (pendant 48h à 37°C).

À la fin de l'incubation, nous avons noté l'activité de l'extrait d'algue *A. armata* et celle de la nystatine, en mesurant la zone d'inhibition, claire, autour des disques, à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats de la lecture sont exprimés selon trois niveaux d'activité :
Forte activité est estimée pour un diamètre qui est supérieur à 15 mm ($D > 15$). Pour les valeurs comprises entre 9 et 14 mm ($9 \leq D \leq 14$), l'activité est moyenne, alors que pour un diamètre qui est inférieur a 8 mm ($D < 8$), on considère que l'activité est faible (**Genovese *et al.*, 2012**).

I. Etude de l'effet antifongique de la nystatine

On remarque que le diamètre d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration de la nystatine (Photo 1). On note également que le DMSO n'a pas inhibé la croissance de la souche fongique pour cette raison qu'il était choisis comme un bon diluant pour effectuer la série de dilution.

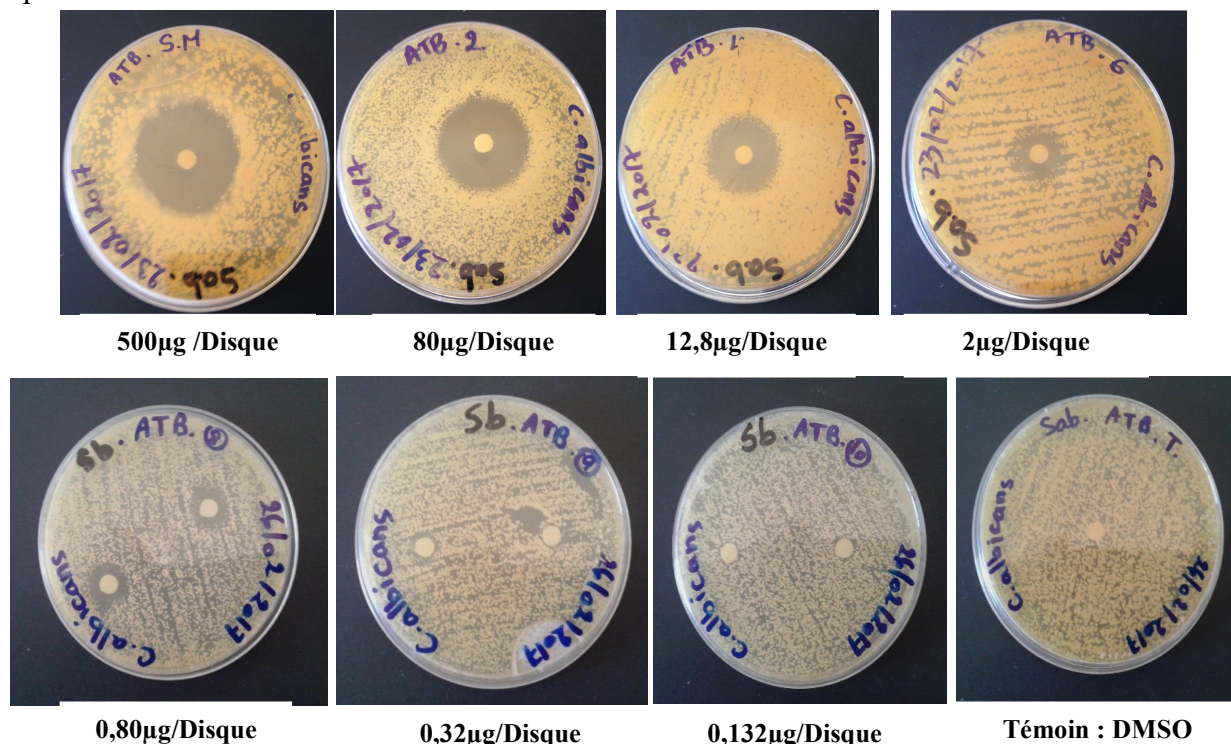


Photo 1 : Effet de la nystatine sur *Candida albicans* déterminé par la méthode de disque (IP 444).

Le **Tableau (3)** reporte les valeurs en millimètre des zones d'inhibition déterminées pour l'effet de la nystatine sur la croissance *Candida albicans* en milieu solide. La souche fongique est relativement résistante vis-à-vis de la nystatine aux concentrations inférieures à 2 µg/disque. La nystatine à 2 µg/disque provoque une inhibition de 14.35 mm. La concentration minimale inhibition (CMI) déterminée par la méthode diffusion sur disque est égale à 0.3 µg/disque.

Tableau 3 : les mesures des diamètres de l'antibiogramme en présence de l'antifongique (Nystatine)

Nystatine (µg/Disque)	0*	0.13	0.32	0.80	2	12.8	80	500
Diamètres d'inhibition (mm)	6.00 ±0.00	6.00 ±0.00	10.40 ±0.40	13.30 ±0.70	14.35 ±0.27	19.90 ±0.00	26.00 ±0.00	39.70 ±0.14

* : Diméthyl sulfoxyde (100%)

Nos résultats sont relativement similaires par rapport à ceux trouvés par Saidani et al. (2012). Ces auteurs ont trouvé une valeur de CMI pour *Candida albicans* (ATCC 1024) de 1 µg/disque.

Chami (2005) a trouvé que la nystatine exerce un effet antifongique très important sur *C. albicans*.

II. Effet antifongique de l'extrait dichlorométhanique d'*Asparagopsis armata*

L'effet antifongique de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* a été étudié vis-à-vis de la souche de référence *Candida albicans* (IP444) et les résultats ainsi trouvés par deux techniques de diffusion en milieu Sabouraud gélosé sont indiqués dans les Photos (1) et (2). D'après ces résultats, on remarque que l'extrait dichlorométhanique exerce un effet anticandidose et que son pouvoir antifongique augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

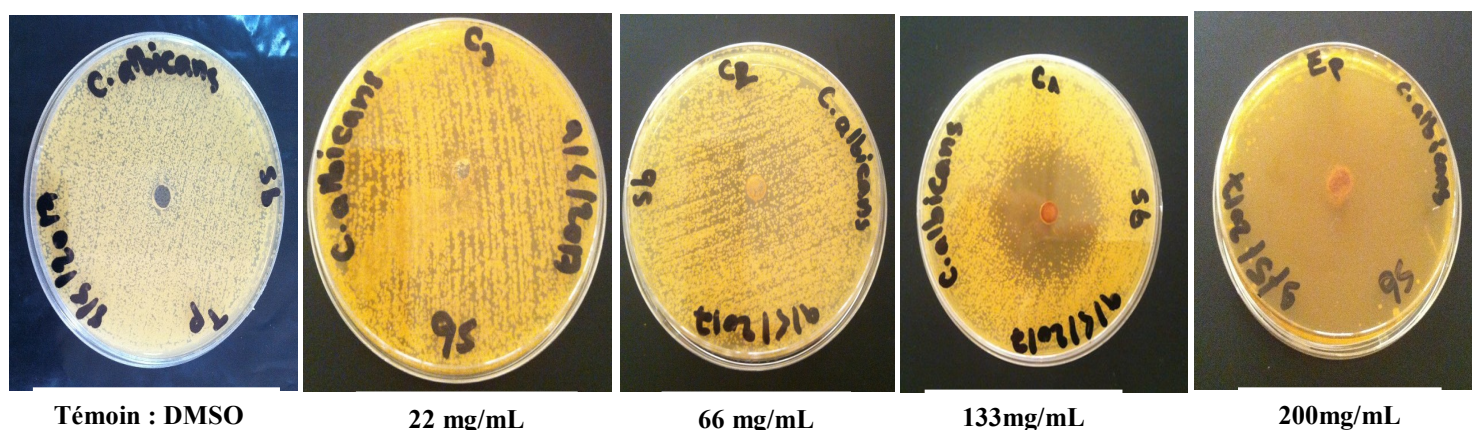


Photo 5 : Résultats de l'effet de l'extrait dichlorométhanique d'*Asparagopsis armata* sur *Candida albicans* (IP444).



Témoin : DMSO

22mg/mL

66mg/mL

133mg/mL

200mg/mL

Photo 5 : Résultats de l'effet de l'extrait dichlorométhanique d'*Asparagopsis armata* sur *Candida albicans* (IP444).

On constate qu'autour du puits (ou du disque) la présence d'un halo d'inhibition qui s'explique par l'inhibition de la croissance de la levure. Les zones d'inhibition observées peuvent atteindre des diamètres de 17 et 54 mm, déterminés par les méthodes de diffusion sur disque et puits, respectivement. L'extrait dichlorométhanique inhibe presque totalement la croissance de la levure à une concentration de 8 mg/puits.

Cette activité antifongique sur *Candida albicans* a été aussi démontrée par **Bensamir et al.** (2005). Le DMSO ne présente aucun effet antifongique et a été utilisé comme solvant.

La CMI est déterminé à partir d'une gamme de concentrations, comme étant la concentration minimale de l'extrait qui inhibe totalement la croissance fongique (**Senhaji O. et al 2006 ; V.-G. de Billerbeck et al., 2002**).

Après 48 h d'incubation à 37°C, l'activité antifongique est mesurée comme étant le diamètre (en mm) de la zone d'inhibition qui apparaît autour des disques. Les mesures des diamètres sont résumées dans les tableaux suivants :

Tableau 4 : Détermination de la valeur de CMI par la méthode de disque

Extrait dichlorométhanique mg/Disque	0	2	1.33	0.66	0.22
Diamètres (mm)	6±0	17,205±2,72	12,435±0,28	11,82±0,25	6±0

Tableau 5 : Détermination de la valeur de CMI par la méthode de puits.

Extrait dichlorométhanique mg/puit	0	8.00	5.33	2.66	0.88
Diamètres (mm)	6.0±0.0	54.42±0.00	32.15±0,83	6.00±0.00	6.00±0.00

D'après les résultats de ces deux tableaux, on constate que la valeur de CMI dépend fortement de la méthode d'évaluation du pouvoir antifongique. Les valeurs de CMI ainsi déterminées par la méthode de diffusion sur disque et puits sont respectivement, 0.66 et 5.33 mg. Ces valeurs sont nettement inférieures par rapport à celle de la nystatine (0.3 µg) qui demeure donc l'antifongique le plus efficace sur *Candida albicans*. La faible efficacité de l'extrait dichlorométhanique par rapport à la nystatine s'explique par la faible pureté de l'agent antifongique algal tandis que la nystatine est un produit pur.

De nombreuses études ont révélé que les extraits d'algue rouge du genre *Asparagopsis* a un effet antifongique et pourrait être utilisée pour le traitement des infections fongiques.

Manilal et al. (2009) ont montré que l'extrait méthanolique d'*Asparagopsis taxiformis* de la cote marine de l'Inde inhibe la croissance de la levure *Candida albicans* avec un diamètre d'inhibition de 24 mm. Ces auteurs ont trouvé que l'activité de cette algue dépend de la saison pendant laquelle a été effectuée la récolte.

Les résultats obtenus par **Bansemir et al. (2005)** ont rapportés qu'un effet inhibiteur significatif a été observé avec les extraits dichlorométhaniques d'algue rouge *A. armata* avec des zones d'inhibition assez importantes en les comparant avec les extraits méthanoliques et les extraits aqueux, ce qui confirme nos résultats.

L'activité antifongique de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* peut être attribuée à la présence des métabolites halogénés en particulier les bromophénols, les terpénoides, et les acides gras halogénés (**Bhakuni et Rawat, 2005; Bourgougnon et Stiger-Pouvreau, 2011; Tringali, 1997; Ballesteros et al., 1992; Demirel et al., 2011**).

De plus, **Guedes et al. (2012)** ont trouvé que les extraits dichlorométhaniques des algues marines rouges *Hypnea musciformis* et *Padina gymnospora* provoquent des zones d'inhibitions de 10 et 15 mm, respectivement déterminées par la méthode de diffusion sur puits.

Les algues marines y compris les algues rouges, sont une source naturelle des composés biologiques actifs, vue leur grande activité : antivirale, antifongiques, antibactérienne,...

Pour cette raison nous avons intéressé sur l'étude de l'activité antifongique de l'algue rouge *Asparagopsis armata* récoltée sur la côte marine Salamandre de la wilaya de Mostaganem, la souche choisie pour le test était la levure *Candida albicans*.

Les résultats trouvés dans cette étude ont clairement montré que l'*A. armata* a exercé une activité inhibitrice assez importante malgré que le rendement de l'extrait était plus au moins faible par rapport aux autres extraits utilisés dans des études précédentes, cela signifie que le Dichlorométhane était un bon solvant d'extraction. Le rendement d'extraction peut être influencé par les variations saisonnières ou bien au cycle de développement de l'algue elle-même.

Les CMI trouvées, ont montré l'efficacité thérapeutique et l'importance de l'extrait de l'algue rouge *A. armata* par rapport à l'antifongique de référence utilisé dans cette étude (la nystatine).

Pour cela, on souhaite bien de développer et de chercher d'autres méthodes d'extraction en utilisant plusieurs solvants d'extraction afin de l'obtention de maximum de composées bioactifs responsables de cette activité antifongique.

A

1. **Abu-El Teen, K., Ghannum, M., Stretton, R.I.** (1989). Effects of sub-inhibitory concentrations of antifungal agents on adherence of *Candida* spp. to buccal epithelial cells in vitro. *Mycoses* 32:551-562.
2. **Alcamo, E.** (1996). Microbiology, State University of New York, 264 pages.

B

3. **Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S., Lindequist, U.** (2005). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria, 6pages.
4. **Barelle C.J., Richard M.L., Gaillardin C., Gow N.A and Brown A.J.** (2006). *Candida albicans* VAC8 is required for vacuolar inheritance and normal hyphal branching. *Eukaryot. Cell.* 5: 359-367.
5. **Beck-Sague, C., Jarvis, W.R.** (1993). Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United states. 1980-1990. National nosocomial infections surveillance system. *J. Infect. Dis.* 167: 1247-1251.
6. **Belmokhtar, M.** (2012). *Cystoseira amentacea* v. *stricta*: indicateur de la qualité des eaux côtières de l'ouest algerien, thèse magister, université d'Oran ES-scena ,faculté des sciences,63 pages.
7. **Benmezdad, A.** (2016). *Candida* et candidoses, université de Constantine, faculté de médecine, 12 pages.
8. **Billerbeck, V.G., Roques, C., Vanière, P., Marquier, P.** (2002) .Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles, revue hygiènes, 6 pages
9. **Boudouresque, C.F.** (2010). Structure et fonctionnement des écosystèmes benthiques marins.Master d'Océanographie. Perturbations, 50 pages.
10. **Born, F.** (2013). Les candidoses buccales : revue de littérature, Thèse de doctorat : no. Méd. dent. 714 ; <http://archive-ouverte.unige.ch/unige:27981>. Univ. Genève, 143 pages.
11. **Bonnetblanc J.-M.** . (2012). Infections cutanéomuqueuses bactériennes et mycosiques : *Candida albicans*, *Annales de dermatologie et de vénéréologie*, 139, A40—A46, 7 pages.

C

12. **Caraès, N.** (2016).Thèse Epidémiologie des candidoses profondes au centre Hospitalier Universitaire de Rouen. Université de Rouen UFR de médecine et de Pharmacie.
13. **Chavanet, P.** (1997). Amphotéricine B déoxycholate (Fungizone) : vieux médicament, nouvelles versions. *Rev Med Interne.* 18 : 153-165.
14. **Candega, Y. S.** (1977). Contribution à l'étude de la candidose bucco pharyngée en milieu pédiatrique dakarois Thèse Mèd. ; N°9 Dakar (Sénégal).
15. **Cardinale, V.** (2001). Université Henri Poincare. Les Candidoses Vaginales Recidivantes à *Candida Albicans*, Thèse Doctorat en Pharmacie Faculté De Pharmacie, 154 pages.
16. **Chami, F.** (2005). Evaluation in vitro de l'Action Antifongique des Huiles Essentielles d'Origan et de Girofle et de leurs Composés Majoritaires in vivo. Application dans la Prophylaxie et le Traitement de la Candidose Vaginale sur des Modèles de Rat et de

Souris Immunodéprimés, Thèse de Doctorat d'Etat Es-Sciences, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, Faculté des Sciences Dhar El Mehrez, Fès, 129 pages.

17. **Chochillon, C.** (2005). Faculté Des Sciences Pharmaceutiques Et Biologiques De Paris, Antifongigrammes.
18. **Cohen, I., Neori, A.** (1991). *Ulva lactuca* biofilters for marine fishpond effluents I. Ammonia uptake Kinetics and nitrogen content. *Bot.Mar.*34, 475-482.

D

19. **Delepine, R.** (1974). Rôle Des Algues Marines Dans L'économie Régionale De L'océan Indien Occidental ; Rapports au Comité Scientifique pour la Recherche Antarctique. Paris, 292 pages.
20. **Dembele, A.** (2007). Etude épidémio-clinique de la candidose bucco-pharyngée au Centre National d'Odonto Stomatologie (CNOS) de Bamako Thèse Doctorat, université de Bamako faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie, 77 pages.
21. **Dijoux, L.** (2014). La diversité des algues rouges du genre *Asparagopsis* en nouvelle Calédonie : Approche in situ et moléculaire, thèse doctorat de biologie marine, université pierre et marie curie, 228 pages.
22. **Dominique.** (2013). *Candida* : la levure aux deux visages.

E

23. **Eric, O.** (2004). Réseau Benthique Région Bretagne, Cartographie prédictive de la répartition verticale des ceintures algales, 8 pages.

F

24. **Farid, Y., Chennaoui, M., Assobhei, O., Etahiri, S.** (2012). Screening Des Algues Marines D'oualidia A La Recherche D'activités Antimicrobienne Et Anti-Inflammatoire, 18 pages.
25. **Flattery, A.M., Abruzzo, G.K., Charles, J.G., Jeffrey, G.S., Bartizal, K** (1996) New Model Of Oropharyngeal and Gastrointestinal Colonization by *Candida albicans* in CD41 TCell-Deficient Mice for Evaluation of Antifungal Agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40:1604-1609.
26. **Fleurence, J.** (1999). Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends Food Sci Tech.* 10, 25-28.
27. **Fournier, P.** (2011). Impact de la consommation d'antifongiques sur *Candida sp.* étude dans un service de réanimation médicale de 2004 à 2009 au CHU de Grenoble, thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état. 94 pages.

G

28. **Guillot J .** (1999). Diagnostic biologique des mycoses animales. *Rev Fr Lab.* 310 : 57-64.
29. **Garnier, J.** (2016). Epidémiologie des infections invasives à *Candida* au Centre Hospitalier Universitaire D'amiens, Thèse Doctorat en Médecine, Spécialité AnesthésieRéanimation, 47 pages.

30. **Gerard J. T., Berdell R. F., Christine L. C.** (2001). Introduction à la microbiologie, 944 pages.
31. **Genovese G., Faggio C., Gugliandolo C., Torre A., Spanò A., Morabito M., Maugeri T.L.** (2012). In vitro evaluation of antibacterial activity of *Asparagopsis taxiformis* from the Straits of Messina against pathogens relevant in aquaculture, *revu de Marine Environmental Research*, 6 pages.
32. **Giordani, R., J. Kaloustian.** (2006). Action anticandidosique des huiles essentielles, leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques *Phytothérapie*.
33. **Grillot R. et Noël T.** (1999). Antifongiques et antifongigramme. *Option/Bio Supplément au n° 224*, 26: 1-16.
34. **Guedes E A C, dos S Araujo M A, Souza A K P, de Souza L I O, de Barros L D, de Albuquerque Maranhao F C, Euzebio G Sant Ana A.** 2012. Antifungal Activities of Different Extracts of Marine Macroalgae Against Dermatophytes and Candida Species. *Mycopathologia*. 1-13.

H

35. **Hart, T., Shears, P.** (1997). Atlas de poche de microbiologie, Faculté de Médecine NeckerEnfants Malades, Paris, 1^{ère} édition. 312 pages.
36. **Harvey, W.H.H.** (1854). Some Account of the Marine Botany of the Colony of Western Australia. The Transactions of the Royal Irish Academy. Royal Irish Academy, Vol. 22. pp. 525p 566.
37. **Hay, R., Baran, R., Moore, M.,Wilkinson., J.** (1988). Candida onychomycosis: an evaluation of the role of Candida species in nail diseases. *Br. J. Dermatol.* 188: 47-58.
38. **Hortense, F.** (2011). Les Applications Et La Toxicité Des Algues Marines, Université De Limoges Faculté De Pharmacie, pages.

J

39. **Jerome, J.P., James, T.S., Stephen, L.** (2004). Microbiologie, 891 pages.

K

40. **Kao, A.S., Brandt, M.E., Pruitt, W.R., Conn, L.A., Perkins, B.A., Stevens, S.D.** (1999). The epidemiology of candidemia in two United states cities: Results of a population-based active surveillance. *Clin. Infect. Dis.* 29: 164-70.
41. **Kavanagh, K.** (2005). Fungi Biology and Applications, National University of Ireland Maynooth, 293 pages.

L

42. **Lahaye., M.** (1991). Marine algae as source of fibers: determination of soluble and insoluble dietary fibre content in some "sea-vegetables". *Journal Sciences Food Agricol.* 54,587-94.
43. **Lecointre, G., H, Guyader., Belin.** (2001). Classification phylogénétique des algues "Classification phylogénétique du vivant".

44. **León, C., Ruiz-Santana, S., Saavedra, P., Almirante, B., Nolla-Salas J., Alvarez-Lerma F.** (2006). A bedside scoring system (Candida scorell) for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with Candida colonization. Crit Care Med.; 34:730–7.

M

45. **Merghache D., Boucherit-Atmani Z., Boucherit K.** (2012). Évaluation de l'activité antifongique de différents extraits de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*). Phytothérapie. 1-7.
46. **Madigan M., Martinko J.** (2007). Brock, Biologie des microorganismes, 11^{ème} édition , 1047 pages.
47. **Manilal A, Sujith S, Seghal Kiran G, Selvin J, shakir C, Gandhimathi R, Lipton A P.** (2009). Antimicrobial potential and seasonality of red algae collected from the southwest coast of India tested against shrimp, human and phytopathogens. Annals of Microbiology. 59: 207-219.
48. **Marnes C.** (2008). CandiSelect™ 4 Bio-Rad, 3, boulevard Raymond Poincaré 92430 France, 3pages.
49. **Mesnildrey, L., Jacob, C., Frangoudes, K., Reunavot, M., Lesueur, M.** (2012). La filière des macro-algues en France, Rapport d'étude, NETALGAE, 44 pages.
50. **Myint, H.S., Kilvington S., Maggs A., Swann A.R.,** Medical Microbiology, made memorable, 135 pages.
51. **Mok, W.Y., Silva M .S.B.** (1984). Mycoflora de the human dermal surfaces. Can J Microbiol 30:1205-1209.

N

52. **Natalie, S.** (2011). Harpoon weed, *Aspargopsis armata*. 3 pages.
53. **Nicklin, J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R.** (2000). L'essentiel en Microbiologie, 362 pages.
54. **Nil, S.** (2010). Variation saisonnière du rendement et des propriétés physiques de l'agar de la rhodophycée *Gelidium ses qui pédale* de la cote de Mostaganem -activité antibactérienne et antifongique de l'extrait algal. mémoire magister, 96 pages.

O

55. **Odds, F.C.** (1988). Candida and Candidosis In: Odds F.C ed. A review and bibliography 2nd edn. London : Baillière Tindall, united Kingdom.42-59.

P

56. **Pappagianis, D., Collins, MS., Hector, R., Remington, J.** (1979). Development of resistance to amphotericin B in *Candida lusitanae* infecting a human. Antimicrob Agents Chemother 16:123-126.
57. **Pfaller, M.A., Jones, R.N., Messer, S.A., Edmond, M.B.,Wenzel, R.P.** (1998). National surveillance of nosocomial blood stream infection due to *Candida albicans*

frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the Scope Program. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 31: 327-332.

58. **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, 118 pages.
59. **Points Saillants Des Études Spéciales De La FAO.** (2004). 39 pages.
60. **Prescott., Harley., Klein.** (2003). *Microbiologie*, 2^{ème} édition, 1137 pages.

Q

61. **Quentin, B., Ritter, L., Fasquel, D., Lesueur, M., Lucas, S., Gouin, S.** (2014). *Etude de la consommation des algues alimentaires en France*, 80 pages.
62. **Quevauvilliers J., Somogyi A., Fingerhut A.** (2007). *Dictionnaire médical de poche*, 2e édition en couleur Paris. 534 pages.

R

63. **Raidi, H.** (1998). *Etude Nationale sur la Biodiversité Algues Marines*. faculté des sciences Tetouan 96 pages.
64. **Rangel, F.M.S., Wiblin, T., Blumberg, H.M., Saiman, L., Patterson, J., Rinaldi, M.** (1999). National epidemiology of mycoses survey (NEMIS): variations in rates of bloodstream infections due to *Candida* species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. *Clin. Infect. Dis.* 29: 253-258.
65. **Rispail, P.** (2005). *Epidémiologie et diagnostic biologique des candidoses muqueuses et cutanéophanéryennes*. 8 pages.
66. **Rustchenko-Bulgac, E., Howard, D.** (1993). Multiple chromosomal and phenotypic Changes in spontaneous mutants of *Candida albicans*. *J. Gen. Microbiol.* 139:1195-1207.
67. **Ruiz-Herrera J., Elorza M.V., Valentin E and Sentandreu R.** (2006). Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS. Yeast. Res.* 6: 14-29.

S

68. **Saidani K., Bedjou F., Benabdesselam F. and Touati N.** 2012. Antifungal activity of methanolic extracts of four Algerian marine algae species. *African Journal of Biotechnology*, 11: 9496-9500.
69. **Sandrine, G.** (2004). Université De Bretagne Occidentale Ecole Doctorale Des Sciences De La Matière, De L'information Et Du Vivant Thèse Doctorat Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisioniales), 332 pages.
70. **Sanglard D, Odds FC.** (2002). Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect Dis*; 2: 73-85;
71. **Sanglard D, Ischer F., Monod M.** (1997). Cloning of *Candida albicans* genes conferring resistance to azole antifungal agents: characterization of CDR2, a new multidrug ABC transporter gene. *Microbiology*; 143 (Pt 2): 405-16).
72. **Sébastien, F.** (2009). *Antifongiques systémiques*, Actualités pharmaceutiques, 4 pages.

73. **Senhaji, O., Faid, M., Elyachioui, M., Dehhaoui, M.** (2005). Etude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle, Antifungal activity of different cinnamon extracts, 10 pages.
74. **Senhaji, O., Faid, M., Kalalou, I.** (2006). Etude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de cannelle, Phytothérapie expérimentale, 7 pages.

T

75. **Terra L, Abreu PA., Teixeira VL., Paixão ICP, Pereira R, Leal B, Lourenço A, Rampelotto PH. and Castro HC.** 2014. Mycoses and Antifungals: reviewing the basis of a current problem that still is a biotechnological target for marine products. *Marine Biotechnology*. 1 : 1-12.

V

76. **Vallanet. C. V.** (2005). Les mycoses génitales Vulvo-vaginal candidiasis, 8 pages.

W

77. **Warren, N.G. Shadomy, H.G.** (1991). Yeast of medical importance. In: Balows A, Hausler W.J, Herrman K.L, Isenberg H.D, Shadomy H.J. (1991). eds. Manuel of clinical microbiology, 5th edn. Washington: ASM, 617629.

Y

78. **Younes, F., S, Etahiri ., O, Assobhei.** (2009). Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc) : Criblage et optimisation de la période de la récolte, 10 pages.

Z

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

Composition de différents milieux utilisés

Eau physiologique

NaCl..... 9g
Eau distillé qsp1000 mL

Milieu Sabouraud

Eau distillée..... 1000 mL
Peptone..... 5 g
Dextrose..... 40 g
Agar-agar..... 15 g
Casein..... 5 g
PH..... 5,6 $\pm$ 0,2