

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master
Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie Appliquée

THEME

Etude de l'activité antibiofilm de l'algue
marine rouge *Asparagopsis armata* contre
Candida albicans

Présenté par :
BAKHAT Abir et BEN DJEMAA Lina Habiba

Devant le jury composé de :

| | | | |
|---------------|-----------------|------------|-----------------|
| Président | BOUZZARA Houria | MCB | UATL - Laghouat |
| Examineur | LAKEHAL Kheira | MCB | UATL - Laghouat |
| Rapporteur | MESSAHLI Ilhem | MCB | UATL - Laghouat |
| Co-Rapporteur | GOUZI Hicham | Professeur | UATL - Laghouat |

Année universitaire : 2024/2025

Dédicace

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, L'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

*A mes très chers frères Mohamed et Salah
et l'affection que je porte pour vous.*

Mes gardiens et mes fidèles accompagnants dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A ma très chère sœur Sarah

A Ma cher sœur En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour

A mes grands-mères et pères maternels

*A mes grandes mères et pères paternels qui ont tant sacrifié pour nous.
A tous les membres de ma famille, petits et grands Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection*

A notre chère et dynamique professeur

Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présente. Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

A ma chère Amie Abir avec qui j'ai partagé ce travail.

Lina

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail à...

À la mémoire de mon très cher papa.

Je ne saurais exprimer mon grand chagrin en ton absence. J'aurais aimé que tu sois à mes côtés ce jour-là.

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur

*A mes très cher frère BACHIR, Yacin et Youcef
et l'affection que je porte pour vous.*

Mes gardiens et mes fidèles accompagnants dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A notre chère et dynamique professeur

Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présente. Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

A ma chère Amie Lina avec qui j'ai partagé ce travail.

ABIR

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions le bon Dieu le tout puissant qui nous a donné la santé, la volonté et la force pour surmonter tous les obstacles et mener à bien ce mémoire.

Ce travail n'aurait pas été aussi riche et n'aurait pas vu le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme. MESSAHLI Ilhem. Nous la remercions pour la qualité exceptionnelle de son encadrement, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité tout au long de la préparation de ce mémoire, nous la remercions pour toute la confiance et la liberté qu'elle nous a accordées au cours de ces mois de travail.

Je remercie les membres du jury d'avoir accepté de discuter de projet de fin d'études.

Résumé

Dans cette étude, nous avons examiné le potentiel antifongique et antibiofilm de l'algue rouge *Asparagopsis armata*, collectée à El Marsa (wilaya d'Alger), contre trois souches de *Candida albicans*, la souche de référence ATCC 10231, ainsi que deux isolats cliniques (isolat 1 et isolat 5). Deux extraits ont été préparés à partir de cette algue, l'un au dichlorométhane et l'autre au méthanol. Les deux extraits ont démontré une activité antifongique significative, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 0,58 mg/ml pour la souche ATCC 10231 et l'isolat 1, tandis que l'isolat 5, moins sensible, présentait une CMI de 2,34 mg/ml. Par ailleurs, une inhibition de la formation de biofilm, proportionnelle à la concentration, a été observée, notamment avec l'extrait méthanolique, qui a permis de réduire jusqu'à 75 % du biofilm à concentration élevée. Ces résultats soulignent le potentiel thérapeutique d'*Asparagopsis armata* en tant qu'agent antifongique naturel contre les infections à *Candida albicans*.

Mots clés : *Asparagopsis armata*, *Candida albicans*, activité antibiofilm, CMI.

Abstract

In this study, we evaluated the antifungal and antibiofilm activities of the red alga *Asparagopsis armata*, collected from El Marsa (Algiers province), against three strains of *Candida albicans*, the reference strain ATCC 10231 and two clinical isolates (isolate 1 and isolate 5). Two types of extracts were prepared from the algal biomass, one using dichloromethane and the other methanol. Both extracts exhibited noteworthy antifungal activity, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.58 mg/ml against ATCC 10231 and isolate 1. In contrast, isolate 5 demonstrated reduced sensitivity, with an MIC of 2.34 mg/ml. Furthermore, a concentration-dependent antibiofilm effect was observed, particularly with the methanolic extract, which inhibited up to 75% of biofilm formation at higher concentrations. These findings underscore the potential of *Asparagopsis armata* as a promising natural antifungal agent for controlling *Candida albicans* infections.

Keywords: *Asparagopsis armata*; *Candida albicans*; antibiofilm activity; minimum inhibitory concentration (MIC).

ملخص

في هذا البحث، تم تحليل الفعالية المضادة للفطريات والمضادة لتشكيل البيوفيلم للطحلب الأحمر أسبرغسيس أرماتا، الذي جُمع من منطقة المرسي (ولاية الجزائر)، وذلك ضد ثلاث سلالات من كانديدا البيكانس: السلالة المرجعية ATCC 10231، والعزلتين السريريتين 1 و5. تم تحضير مستخلصين من الطحلب باستخدام مذيبيين مختلفين، هما ثنائي كلور الميثان والميثانول. أظهرت نتائج الاختبارات الحيوية أن كلا المستخلصين يمتلكان نشاطًا مضادًا للفطريات، حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى (MIC) 0.58 ملغ/مل ضد كل من السلالة المرجعية والعزلة 1، في حين أبدت العزلة 5 مقاومة نسبية ببلوغ MIC قدره 2.34 ملغ/مل. كما تم تسجيل تأثير مثبط لتشكيل البيوفيلم يتناسب طرديًا مع تركيز المستخلص، خصوصًا بالنسبة للمستخلص الميثانولي، الذي حقق نسبة تثبيط بلغت 75% عند أعلى تركيز مُجَرَّب. تبرز هذه النتائج القيمة البيولوجية للطحلب أسبرغسيس أرماتا كمصدر طبيعي واعد لتطوير مركبات مضادة للفطريات تستهدف كانديدا البيكانس، لاسيما في سياق مقاومة الفطريات للعوامل التقليدية.

الكلمات المفتاحية : أسبرغسيس أرماتا، كانديدا البيكانس، نشاط مضاد للبيوفيلم، التركيز المثبط الأدنى.

Table des matières

| | |
|---|-----|
| Table des matières | I |
| Liste des Figures..... | III |
| Liste des Tableaux..... | V |
| Introduction générale..... | 2 |
| I. Chapitre I : Synthèse bibliographique..... | 5 |
| I.1. Les algues marines | 5 |
| I.1.1. Définition des algues | 5 |
| I.1.2. Classification des algues..... | 5 |
| I.1.3. Conditions de Vie des algues..... | 7 |
| I.1.4. Composition Chimiques des algues marines | 8 |
| I.1.5. Les métabolites secondaires | 10 |
| I.1.6. Les utilisations des algues | 11 |
| I.1.7. Activités biologiques | 11 |
| I.1.8. <i>Asparagopsis armata</i> | 12 |
| I.1.9. Espèce similaire | 15 |
| II.2.Candida et candidoses..... | 15 |
| I.1.10. Définition..... | 15 |
| I.1.11. Classification des <i>Candida</i> | 15 |
| I.1.12. Habitat des <i>Candida</i> | 16 |
| I.1.13. Caractère morphologique et conditions de croissance de <i>C. albicans</i> | 16 |
| I.1.14. Le biofilm | 18 |
| I.1.15. La candidose | 22 |
| II. Chapitre II : Matériel et Méthodes | 25 |
| II.1. Collecte de l'algue | 25 |
| II.2. Nettoyage et identification des échantillons d'algue | 25 |
| II.3. Préparation des extraits de l'algue | 26 |
| II.4. Calcul du rendement d'extraction | 27 |
| II.5. Évaluation de l'activité anticandidosique | 27 |
| II.5.1. Les souches fongiques testées | 27 |
| II.5.2. Préparation des suspensions de <i>C. albicans</i> | 28 |
| II.5.3. Détermination de l'activité anticandidosique par la technique de diffusion en milieu gélosé | 28 |

| | |
|--|----|
| II.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) | 29 |
| II.7. Identification des isolats cliniques | 30 |
| II.7.1. Aspect macroscopique des colonies | 30 |
| II.7.2. Examen direct (à l'état frais) | 31 |
| II.7.3. Coloration de Gram | 31 |
| II.7.4. Test de chlamydosporulation..... | 31 |
| II.7.5. Identification biochimique (Galerie API Candida) | 32 |
| II.8. Etude de la formation du biofilm de <i>C. albicans</i> | 32 |
| II.8.1. Préparation des milieux de culture | 32 |
| II.8.2. Préparation des inocula | 33 |
| II.8.3. Formation du biofilm | 33 |
| II.8.4. Quantification du biofilm | 34 |
| II.8.5. Lecture..... | 34 |
| II.9. Etude de l'activité anti-biofilm de <i>C. albicans</i> | 34 |
| II.9.1. Traitement des biofilms formés..... | 34 |
| II.9.2. Quantification de la biomasse résiduelle du biofilm | 35 |
| II.9.3. Evaluation de l'activité anti-biofilm des extraits | 35 |
| III. Chapitre III : Résultats et Discussion | 37 |
| III.1. Le rendement d'extraction | 37 |
| III.2. Activité anticandidosique | 38 |
| III.3. Concentration minimale inhibitrice | 42 |
| III.4. Identification des isolats | 44 |
| III.4.1. Aspect macroscopique des colonies..... | 44 |
| III.4.2. Examen à l'état frais | 44 |
| III.4.3. Coloration de Gram..... | 45 |
| III.4.4. Test de chlamydosporulation | 45 |
| III.4.5. Galerie API Candida | 46 |
| III.5. Résultats de la formation du biofilm de <i>C. albicans</i> | 48 |
| III.5.1. Effet du glucose | 48 |
| III.5.2. Effet de l'Oxygène..... | 49 |
| III.5.3. Effet la densité cellulaire initiale | 49 |
| III.6. Résultats de l'activité anti-biofilm | 52 |
| Conclusion et Perspectives | 56 |

Références bibliographiques 58

Liste des Figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: Photographie de l'algue verte <i>Ulva lactuca</i> (Daude, 2021)..... | 5 |
| Figure 2: Photographie de l'algue brune <i>Laminaria digitata</i> (Daude, 2021)..... | 6 |
| Figure 3: photographie de l'algue rouge <i>Gracilaria verrucosa</i> (Daude, 2021)..... | 6 |
| Figure 4: Composition biochimique des algues marines (Daude, 2021)..... | 9 |
| Figure 5: Distribution d' <i>Asparagopsis armata</i> le long de la côte algérienne (Grimes et al., 2018). | 12 |
| Figure 6: La morphologie de l'algue rouge <i>Asparagopsis armata</i> (Grimes et al., 2018) ; (Ilhem, 2023) | 13 |
| Figure 7: Schéma du cycle de reproduction d' <i>Asparagopsis armata</i> (Mihaila et al., 2023). | 14 |
| Figure 8 : La morphologie de l'algue rouge <i>Asparagopsis taxiformis</i> (Otero et al., 2013).. | 15 |
| Figure 9: Différentes formes morphologiques de <i>C. albicans</i> , adapté selon (Irimès, 2011).. | 17 |
| Figure 10: Biofilm mature de 48 h de <i>C. albicans</i> (Ramage et al., 2005). | 18 |
| Figure 11: Le mécanisme de formation de biofilm chez <i>Candida albicans</i> adapté selon (Ramage et al., 2005). | 19 |
| Figure 12: Forme clinique des candidoses buccales (Laurent et al., 2011)..... | 22 |
| Figure 13: Site d'échantillonnage de l'algue marine <i>A. armata</i> (El Marsa, Alger). | 25 |
| Figure 14: L'algue marine rouge <i>A. armata</i> | 26 |
| Figure 15: Schéma simplifié illustrant le procédé d'extraction au DCM et au méthanol. | 26 |
| Figure 16: Aspect des colonies de <i>C. albicans</i> sur gélose de Sabouraud (SDA) | 28 |
| Figure 17: Mesure des diamètres des zones d'inhibition. | 29 |
| Figure 18: Microplaques inoculées pour la détermination de la CMI des souches de <i>C. albicans</i> | 30 |
| Figure 19: Photographie des suspensions préparées sur bouillon de Sabouraud. | 33 |
| Figure 20: photograohie des tubes inoculés pour la formation du biofilm. | 33 |
| Figure 21 : Rendements d'extraction du dichlorométhane et du méthanol.(Su et al., 2006).. | 37 |
| Figure 22: Activité anticandidosique des extraits dichlorométhanique et méthanolique d' <i>A.</i> <i>armata</i> | 41 |

Figure 23: Corrélation entre la concentration en masse des extraits dichlorométhanique et méthanolique d'*A. armata* et les diamètres d'inhibition de la croissance de *C. albicans* ATCC 10231. 42

Figure 24: Les CMI des extraits de l'algue sur les trois souches de *Candida*. 43

Figure 25: Aspect des colonies obtenues sur milieu Sabouraud. 44

Figure 26: Observation microscopique à l'état frais (grossissement x 400). 45

Figure 27: Observation microscopique de la coloration de Gram des isolats (grossissement x1000). 45

Figure 28: Photo des chlamydospores de l'isolat 1 (à droite) et de l'isolat 5 (à gauche) (grossissement x 400). 46

Figure 29: Galeries API *Candida* après inoculation et incubation à 37°C pendant 24 heures. 46

Figure 30: Evolution de la formation du biofilm de *C. albicans* en fonction du dosage du glucose et de la densité cellulaire initiale en normoxie et en hypoxie. 51

Figure 31: Coloration et solubilisation de la biomasse du biofilm formé. 52

Figure 32: Le pourcentage d'inhibition du biofilm de *C. albicans* en fonction de différentes concentrations des extraits d'*A. armata* 54

Liste des Tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1: Caractéristiques des principaux groupes d'algues (Kaedache & Khoualdi, 2016). | 7 |
| Tableau 2: Classification d' <i>A. armata</i> (Garon-Lardière, 2004). | 13 |
| Tableau 3: Molécules de quorum sensing (Hamouche & Saib, 2024)..... | 21 |
| Tableau 4: Rendements d'extraction (%) par macération (méthode par épuisement du solvant) des extraits de dichlorométhane et de méthanol à partir de 10g de l'algue <i>A. armata</i> | 37 |
| Tableau 5: TActivité anticandidosique (technique de diffusion en puits) de l'extrait de dichlorométhane d' <i>A. armata</i> sur la souche <i>C. albicans</i> ATCC 10231..... | 40 |
| Tableau 6: Activité anticandidosique (technique de diffusion sur disques) de l'extrait de dichlorométhane d' <i>A. armata</i> sur la souche <i>C. albicans</i> ATCC 10231..... | 40 |
| Tableau 7: Activité anticandidosique (technique de diffusion sur disques) de l'extrait de dichlorométhane d' <i>A. armata</i> sur la souche <i>C. albicans</i> ATCC 10231..... | 40 |
| Tableau 8: Activité anticandidosique (technique de diffusion sur disques) de l'extrait méthanolique d' <i>A. armata</i> sur la souche <i>C. albicans</i> ATCC 10231..... | 40 |
| Tableau 9: Coefficients de corrélation de la régression linéaire de la variation du diamètre des zones d'inhibition en fonction de la concentration en masse des extraits..... | 41 |
| Tableau 10: Concentrations minimales inhibitrices des extraits d' <i>A. Armata</i> sur les trois souches de <i>C. albicans</i> | 44 |
| Tableau 11: Résultats des galeries API <i>Candida</i> des deux isolats..... | 47 |
| Tableau 12: Les profils numériques des isolats de <i>C. albicans</i> identifiés à l'aide de la galerie API <i>Candida</i> | 47 |

Introduction générale

Introduction générale

Les champignons sont omniprésents, avec une diversité estimée à plus de 2,2 millions d'espèces. Parmi eux, certains sont des agents pathogènes, dont beaucoup sont opportunistes, provoquant des infections graves chez plus de 300 millions de personnes chaque année **(Wunderlich, 2020)**.

Les candidoses, infections fongiques dues au genre *Candida*, peuvent être invasives ou superficielles. Elles entraînent des atteintes cutanées et muqueuses, voire viscérales profondes, pouvant avoir une lourde morbi-mortalité chez les patients immunodéprimés mais aussi chez ceux présentant des facteurs de risques tels qu'un âge avancé, une thérapeutique agressive, une chimiothérapie intensive **(Alloua, 2023)**.

La résistance de *Candida albicans* aux antifongiques a considérablement augmenté au cours des dernières années, atteignant des niveaux préoccupants et contribuant à une morbidité et une mortalité élevées **(Chavanet, 1997)**. Les infections causées par cette levure sont souvent graves et invasives, se propageant dans l'organisme et entraînant des atteintes sévères d'un ou plusieurs organes. *C. albicans* est un microorganisme commensal, pouvant avoir une origine endogène ou exogène. Il présente une capacité d'adaptation au parasitisme, mais son pouvoir pathogène ne se manifeste généralement qu'en présence de facteurs favorisants, appelés « facteurs de risque ». Les candidoses dont *C. albicans* est l'espèce la plus fréquente et la plus dangereuse pour l'homme sont donc majoritairement des infections opportunistes, déclenchées par une variété de causes **(Merghache et al., 2012)**.

Les organismes marins dont les algues marines, se sont révélés être une source riche de composés bioactifs pour le développement de nouveaux médicaments **(Pinteus et al., 2020)**. Les algues marines constituent la principale végétation des mers et des océans. Elles appartiennent à de nombreuses familles du sous-règne Thallophyta **(Rodica et al., 2006)**. Elles sont classées en algues rouges (Rhodophyceae), vertes (Chlorophyceae) et brunes (Phaeophyceae) **(Ghaliaoui, 2021)**. Elles jouent un rôle important dans l'écosystème marin, avec plus de 150000 espèces réparties à travers différents niveaux évolutifs **(Farid et al., 2009)** et sont largement présentes dans les régions côtières de nombreux continents **(Manivannan et al., 2011)**. Les algues marines rouges ont été reconnues comme une source très riche de molécules organiques nouvelles et inhabituelles aux propriétés variées **(Mandrekar et al., 2019)**. Bien que leur rôle écologique soit encore peu défini, ces composés pourraient offrir des

défenses chimiques empêchant la colonisation de leur surface (**Rhimou et al., 2010**). Parmi les algues rouges, les espèces d'*Asparagopsis* telles qu'*Asparagopsis armata* représentent une source potentielle de substances antimicrobiennes grâce à la diversité de leurs métabolites secondaires aux activités antivirales, antibactériennes et antifongiques (**Cordeiro et al., 2006; Guedes et al., 2012**). L'utilisation des algues marines ou de leurs extraits pourrait constituer une excellente alternative aux problèmes de résistance et de cytotoxicité des antifongiques (**Garon-Lardière, 2004**).

Les recherches menées le long des côtes algériennes ont montré qu'*Asparagopsis armata* fait partie des cinq principales espèces exotiques, représentant à elle seule 34,5 % des espèces introduites. Initialement présente sur les côtes ouest et centrale du pays, cette algue s'est propagée à d'autres régions depuis 2003, menaçant la biodiversité marine locale. Cependant, l'utilisation de cette algue invasive pour la production de composés utiles pourrait avoir un impact positif sur le développement économique tout en contribuant à la protection des écosystèmes marins (**Grimes et al., 2018**).

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer le potentiel antibiofilm de l'algue marine rouge *A. armata* récoltée au niveau de la wilaya d'Alger sur la côte Jean-Bart d'El Marsa. Dans ce contexte, l'activité de deux extraits bruts de l'algue, à savoir l'extrait dichlorométhanique et méthanolique a été testée contre deux souches de *C. albicans*, en l'occurrence *C. albicans* ATCC 10231 et deux isolats cliniques sur milieu liquide de Sabouraud.

Ce manuscrit est structuré en trois parties principales, suivies d'une conclusion et de perspectives. La première partie offre une synthèse bibliographique approfondie, explorant d'une part le vaste domaine des algues marines et d'autre part, les caractéristiques des *Candida* et les candidoses associées. La seconde partie détaille la démarche expérimentale, décrivant avec précision le matériel utilisé et les protocoles mis en œuvre au cours de l'étude. Enfin, la troisième partie est dédiée à la présentation et à la discussion des résultats obtenus, offrant une analyse critique des résultats.

*Chapitre I : Synthèse
bibliographique*

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Les algues marines

I.1.1. Définition des algues

Ce sont des végétaux principalement aquatiques très ubiquistes, présents majoritairement dans les eaux salées, mais certaines espèces se rencontrent aussi en eau douce, notamment dans les lacs, les mares et ruisseaux (Daude, 2021).

Les algues sont des végétaux autotrophes contenant de la chlorophylle (Quero, 1992), ainsi que d'autres pigments accessoires pour produire leur propre matière organique par la photosynthèse productrice d'oxygène. Elles sont dépourvues de feuilles, de racines, de vaisseaux, de fleurs, de graines, comme c'est le cas chez les fucus ou la spirogyre qui sont classés parmi les thallophytes (Chouache & Haba, 2023 ; Daude, 2021).

I.1.2. Classification des algues

les caractéristiques spécifiques telles que les composantes de la paroi cellulaire, les pigments présents (la couleur, composition des parois, mode de reproduction, type de flagelles), sont ceux qui ont le rôle le plus important dans la classification (Perez et al., 1992).

I.1.2.a. Les algues Vertes (Chlorophycées)

Elles présentent une grande diversité de formes, pouvant être unicellulaires ou pluricellulaires. Leurs plastes, contenant les chlorophylles a et b, leur confèrent une coloration verte, en association avec des carotènes et des xanthophylles. Comme chez les plantes supérieures, la photosynthèse conduit à la production d'amidon.



Figure 1: Photographie de l'algue verte Ulva lactuca (Daude, 2021).

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 (**Garon-Lardière, 2004**).

I.1.2.b. Les algues brunes (Phéophycées)

La couleur brune de ces algues est due aux pigments xanthophylles, notamment la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, avec des tailles allant de formes microscopiques à de très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines (**Garon-Lardière, 2004**).



Figure 2: Photographie de l'algue brune Laminaria digitata (Daude, 2021).

I.1.2.c. Les algues rouges (Rhodophycées)

Les rhodophycées 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.



Figure 3: photographie de l'algue rouge Gracilaria verrucosa (Daude, 2021).

La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques-unes vivent également en eau douce. Les algues rouges sont divisées en deux groupes, celui des Bangiophycées qualifiées de primitives et celui des Floridéophycées qui sont plus complexes. Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe (**Garon-Lardière, 2004**).

Tableau 1: Caractéristiques des principaux groupes d'algues (Kaedache & Khoualdi, 2016).

| Embranchement (Règne) | Nom commun | Nombre d'espèces | Pigments |
|---------------------------------|---------------|------------------|--|
| Chlorophytes (Protistes) | Algues vertes | 7500 | Chlorophylle (a,b) Xanthophylles Carotene |
| Phéophytes (plantes) | Algues brunes | 1500 d'espèces | Chlorophyllr (a,c) Carotene |
| Phéophytes (plantes) | Algues rouges | 3900 d'espèces | Chlorophylle (a,b) Xanthophylles Carotene Zéaxanthine Phycocyanine C Phycoérythrine |
| Phéophytes (plantes) | Algues bleues | 15000 d'espèces | Chlorophyllr (a) Allophycocyanines Phycocyanine Phycoérythrine Phycoérythrocyanine |

I.1.3. Conditions de Vie des algues

I.1.3.a. Habitat des algues

Les algues, selon leur groupe taxonomique et de leur espèce, ont une remarquable capacité à coloniser une grande diversité de milieux. Elles sont capables de se développer aussi bien dans des eaux ultrapures que dans des environnements fortement minéralisés, des sources thermales aux glaciers, et des milieux acides aux milieux alcalins. Leur présence ne se limite pas aux écosystèmes aquatiques, certaines espèces peuvent également se développer en milieu terrestre. En milieu aquatique, elles peuvent être planctoniques (en suspension dans l'eau et incapables de mouvements propres suffisants pour résister à ceux des masses d'eau) ou benthiques (fixées ou en relation étroite avec le fond). Un même groupe d'algues peut être significativement représenté à la fois dans le plancton et le benthos (les algues vertes, les diatomées) ou être très majoritairement planctonique (les haptophytes) ou presque exclusivement benthique (les algues rouges et brunes). Les algues peuvent aussi être aériennes, se développer sur ou dans des végétaux ou des animaux, aquatiques ou terrestres (**Kaedache & Khoualdi, 2016**).

I.1.3.b. La lumière

La lumière exerce une influence déterminante sur les algues à plusieurs niveaux : par son intensité lumineuse, la nature des radiations émises ainsi que l'alternance des phases de luminosité et d'obscurité. La croissance, la distribution et la productivité des algues dépendent en grande partie de la pénétration lumineuse dans la colonne d'eau. Celle-ci peut soit stimuler, soit inhiber leur développement, selon les conditions. Les algues possèdent une diversité de pigments photosynthétiques, spécifiques à chaque groupe, qui leur permettent d'absorber différentes longueurs d'onde de la lumière. Par conséquent, toutes les algues n'exploitent pas la lumière de la même manière : certaines espèces nécessitent une forte intensité lumineuse, tandis que d'autres se développent préférentiellement sous des conditions de faible luminosité **(Kaedache & Khoualdi, 2016)**.

I.1.3.c. Le substrat (ou support)

Les algues étant dépourvues de racines, elles ne peuvent absorber de nutriments à partir du substrat sur lequel elles sont fixées. Leur alimentation dépend exclusivement des éléments nutritifs dissous dans le milieu environnant. Néanmoins, le substrat ou support joue un rôle par sa nature et ses caractéristiques et déterminera l'espèce qui viendra s'y fixer. Les roches calcaires par exemple, sont envahies par les algues perforantes microscopiques, ce qui leur confère une coloration spécifique. A l'inverse, certaines autres espèces fuiront le substrat calcaire.

En outre, le support peut être en eau profonde ou peu profonde comme sur les rochers, les constructions portuaires, les bouées ou les coques de bateaux. Elles peuvent aussi se développer sur un organisme vivant animal ou végétal **(Kaedache & Khoualdi, 2016)**.

I.1.3.d. La température

Elle agit sur le système métabolique et reproducteur de l'algue. C'est alors que des variations de température peuvent agir sur la dispersion ou la régression des peuplements **(Kaedache & Khoualdi, 2016)**.

I.1.4. Composition Chimiques des algues marines

La composition chimique des algues varie en fonction des individus, les espèces, la maturité et les conditions environnementales. Cependant, elles sont riches en pigments, protéines, lipides, vitamines, minéraux et autres substances bioactives.

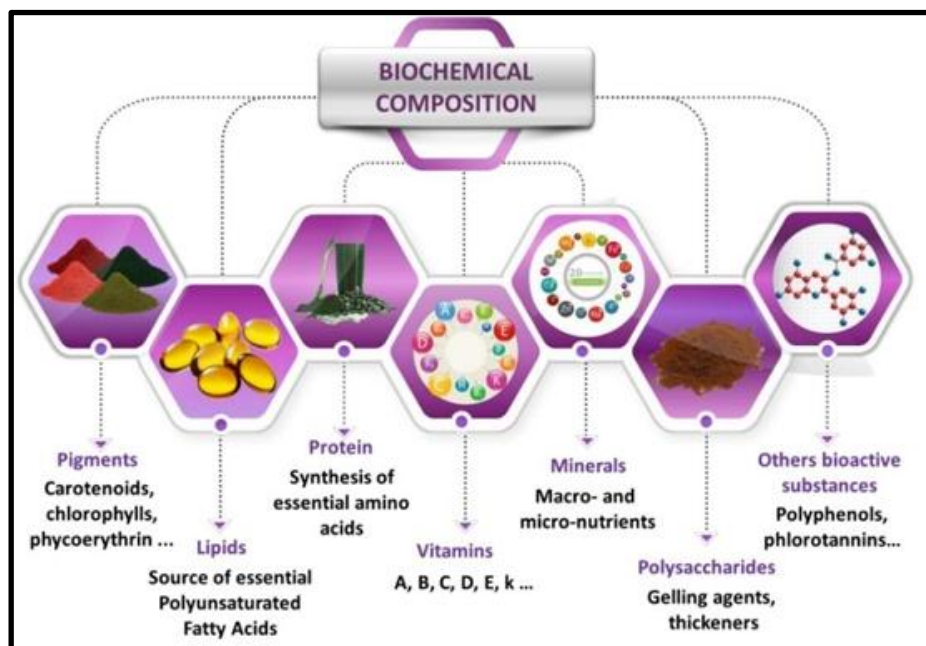


Figure 4: Composition biochimique des algues marines (Daude, 2021).

I.1.4.a. Les éléments minéraux

Les algues puisent dans la mer une richesse incomparable d'éléments minéraux d'où la fraction minérale peut représenter jusqu'à 36% de la masse sèche. Parmi ces éléments présents dans les algues, nous citons : le potassium, le chlore, le sodium, le calcium, le magnésium, le soufre, le phosphore, l'iode, le fer, le cuivre, le manganèse et de nombreux autres oligo-éléments tels que l'iode, le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium et le molybdène, ainsi que bien d'autres oligo-éléments comme le fluor, le brome, le manganèse, le bore, le nickel et le cobalt (Kaedache & Khoualdi, 2016).

I.1.4.b. Les lipides

Les lipides présents dans les algues se subdivisent en : stérols, tri, di ou monoacylglycérols et phospholipides. Bien que leur teneur totale soit faible (environ 1 à 5% de la matière sèche). Cependant, du point de vue qualitatif, les lipides algaux présentent une proportion en acides gras essentiels importante dont les algues rouges contiennent des taux élevés d'acides gras polyinsaturés (Kaedache & Khoualdi, 2016).

I.1.4.c. Les protéines

La teneur en protéines des algues marines est variable, Il est notable que certaines espèces d'algues rouges possèdent une fraction protéique (30-40 % de la matière sèche) comparable, du point de vue quantitatif, à celle des légumineuses (Kaedache & Khoualdi, 2016).

I.1.4.d. Les vitamines

La composition en vitamines des algues présente un réel intérêt nutritionnel, bien qu'elle soit sujette à d'importantes variations saisonnières. Elles contiennent un large éventail de vitamines, notamment les groupes A, B1, B2, B6, B12, ainsi que les vitamines C, D et E. L'un des aspects les plus remarquables réside dans leur teneur relativement élevée en vitamine B12, une caractéristique peu commune dans le règne végétal **(Kaedache & Khoualdi, 2016)**.

I.1.4.e. Les caroténoïdes

Toutes les macroalgues renferment des caroténoïdes, des pigments liposolubles constitués d'unités isopréniques, reconnus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes. En moyenne, ces composés représentent environ 0,1 % du poids sec des algues brunes, qui en sont particulièrement riches. Parmi les caroténoïdes les plus abondants dans ce groupe, on retrouve la fucoxanthine, les xanthophylles telles que la violaxanthine, ainsi que le β -carotène **(Kaedache & Khoualdi, 2016)**.

I.1.4.f. Les polysaccharides

Les algues, en particulier les algues brunes, sont une source importante de polysaccharides spécifiques appelés phycocolloïdes, qui peuvent représenter entre 18 % et 45 % de leur masse sèche **(Kaedache & Khoualdi, 2016)**.

I.1.4.g. Les fibres

Les algues constituent une source significative de fibres alimentaires, représentant entre 33 % et 61 % de leur masse sèche, contribuant ainsi à l'amélioration du transit intestinal **(Kaedache & Khoualdi, 2016)**.

I.1.5. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes, synthétisées et accumulées en faibles concentrations par les organismes autotrophes. De nombreuses espèces d'algues marines ont révélé la présence de métabolites secondaires présentant des activités pharmacologiques et biologiques prometteuses. Ces composés représentent environ 35 % des nouvelles substances chimiques identifiées entre 1977 et 1987, se plaçant juste après celles issues des invertébrés marins. Ils sont généralement classés en trois grandes familles principales: les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes **(Kaedache & Khoualdi, 2016)**.

I.1.6. Les utilisations des algues

Les algues sont exploitées depuis des siècles, d'abord à des fins alimentaires par les populations littorales d'Asie, puis comme fertilisants en Europe ou comme complément dans l'alimentation du bétail. Dès le XVIII^e siècle, le Japon a industrialisé l'extraction de l'iode à partir des algues. Au cours du XX^e siècle, la production industrielle de phycocolloïdes a connu un essor considérable, en raison de la diversification croissante de leurs applications. La demande croissante a conduit au développement de la culture d'espèces à fort rendement. Grâce à la diversité de leurs composés bioactifs, les algues ont trouvé de nombreuses applications dans différents domaines :

En agroalimentaire : certains de leurs dérivés, tels que l'agar-agar et les alginates, sont utilisés comme agents émulsifiants, épaississants, stabilisants et gélifiants (additifs alimentaires classés de E400 à E408), ou comme excipients dans diverses formulations.

En agriculture : les algues sont traditionnellement employées comme engrais organiques ou amendements minéraux.

En industries chimiques : les frustules siliceux des diatomées sont exploités comme abrasifs ou comme matériaux isolants, tant phoniques que thermiques. Les extraits d'algues sont également incorporés dans la fabrication de colles, peintures, résines, caoutchoucs et savons.

En médecine : en thalassothérapie, les bains d'algues (algorithérapie) sont employés dans le traitement des affections rhumatismales et locomotrices. En chirurgie et en gynécologie, les stipes de laminaires sont utilisés pour favoriser la dilatation de voies naturelles ou le débridement des plaies.

En pharmacie : certaines algues sont valorisées pour leurs propriétés laxatives, vermifuges (*Hypnea*, *Carrageen*), ou anticoagulantes (**Ainane, 2011**).

I.1.7. Activités biologiques

Les algues marines suscitent un intérêt croissant en pharmacologie et en médecine, ce qui a conduit à leur exploitation industrielle à grande échelle. De nombreuses espèces présentent en effet des propriétés thérapeutiques variées et prometteuses. Certaines algues, telles que *Alsidium helminthocorton* et *Digenea simplex*, possèdent une activité vermifuge. D'autres, comme *Corallina*, *Cystoseira* ou *Pterocladia*, ont démontré un effet hypoglycémiant. Des espèces telles que *Chondrus* et *Laminaria* exercent une action hypotensive, tandis que *Chondrus*, *Corallina*, *Delessaria*, *Laminaria* et *Pterocladia* présentent des propriétés anticoagulantes. Par ailleurs, *Undaria pinnatifida* est connue pour son effet cardiotonique.

Certaines algues marines ont également révélé un potentiel thérapeutique dans le traitement de diverses infections et inflammations : *Chondrus*, *Cladophora*, *Ulva*, *Fucus*, *Cystoseira* et *Bifurcaria* sont ainsi reconnues pour leurs activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique et antivirale. Ces multiples propriétés confèrent aux algues marines une valeur ajoutée considérable dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques naturels (Kaedache & Khoualdi, 2016).

I.1.8. *Asparagopsis armata*

I.1.8.a. Écologie et distribution

Asparagopsis armata est une espèce d'algue rouge originaire d'Australie, décrite pour la première fois en 1855 par le phycologue William Henry Harvey. Elle est également présente en Nouvelle-Zélande et aurait été introduite sur les côtes européennes vers les années 1923 (Andreakis et al., 2004 ; Pinteus et al., 2020).



Figure 5: Distribution d'*Asparagopsis armata* le long de la côte algérienne (Grimes et al., 2018).

Cette espèce se développe principalement sur les substrats rocheux de l'étage infralittoral, depuis la surface jusqu'à environ 40 mètres de profondeur (Otero et al., 2013).

Au stade gamétophyte, *Asparagopsis armata* présente une coloration rose pâle et subit une dégradation rapide lorsqu'elle est exposée à l'air, prenant alors une teinte marron marquée. À ce stade, elle se développe sous forme d'algue épiphyte, fixée sur d'autres espèces, notamment *Corallina sp.* En phase tétrasporophyte, l'algue adopte un aspect rouge brunâtre, ramifié et filamenteux, formant des touffes cotonneuses denses pouvant atteindre un diamètre d'environ 15 mm (Otero et al., 2013).

I.1.8.b. Morphologie et taxonomie

Asparagopsis armata est une algue qui présente un cycle de vie caractérisé par deux stades morphologiquement distincts : le stade gamétophyte et le stade tétrasporophyte. Le stade gamétophyte se distingue par une teinte allant du rouge rosé au rose pâle. Le thalle d'*A. armata* forme des touffes au contour pyramidal, mesurant entre 15 et 30 cm de long. L'axe principal, de forme cylindrique et d'environ 1 mm de diamètre, présente une ramification irrégulière. Il porte une alternance de rameaux de différents types : des rameaux longs à croissance indéterminée, des rameaux courts, ainsi que des rameaux épineux en forme de harpon (Otero et al., 2013). *Asparagopsis armata*, est une algue rouge marine pluricellulaire, dont la taxonomie complète est la suivante (Garon-Lardière, 2004) :

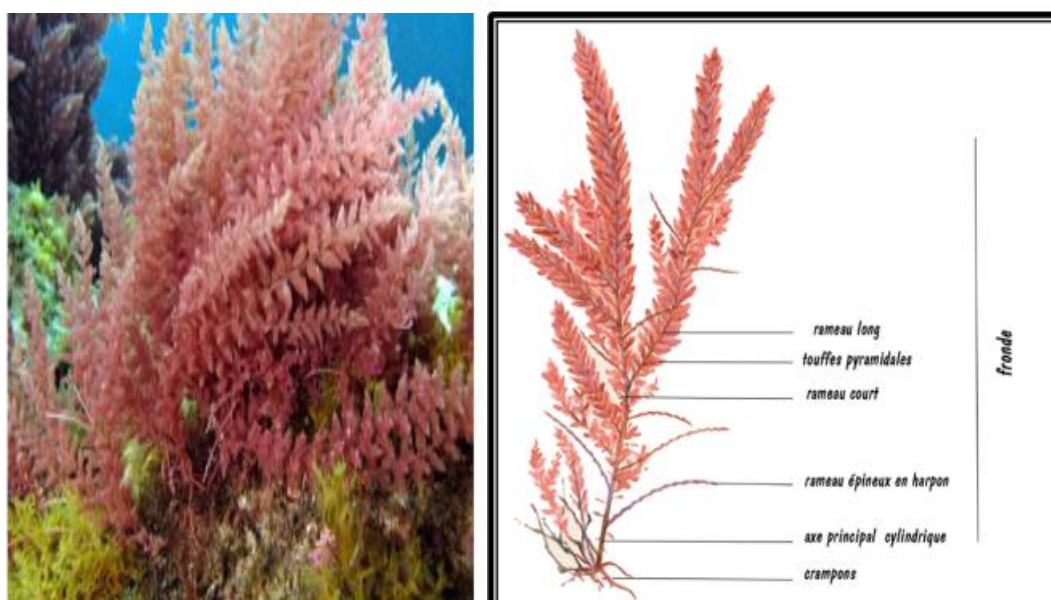


Figure 6: La morphologie de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Grimes et al., 2018).

Tableau 2: Classification d'*A. armata* (Garon-Lardière, 2004).

| | |
|--------------------|----------------------------|
| Règne | Plantae |
| Division | Rhodophyta |
| Classe | Rhodophyceae |
| Sous-classe | Florideophyceae |
| Ordre | Bonnemaisoniales |
| Famille | Bonnemaisoniaceae |
| Genre | <i>Asparagopsis</i> |
| Espèce | <i>Asparagopsis armata</i> |

I.1.8.c. La reproduction chez *A. armata*

La reproduction d'*Asparagopsis* suit un cycle trigénétique caractérisé par alternance de trois générations : La reproduction d'*Asparagopsis armata* suit un cycle trigénétique, caractérisé par l'alternance de trois générations distinctes. La première est une génération sexuée, représentée par des gamétophytes haploïdes (n chromosomes). Le gamète femelle reste porté par le gamétophyte, et la fécondation donne naissance à une seconde génération, asexuée et parasitaire, appelée carposporophyte, dont le développement est réduit et qui demeure fixé au gamétophyte hôte.

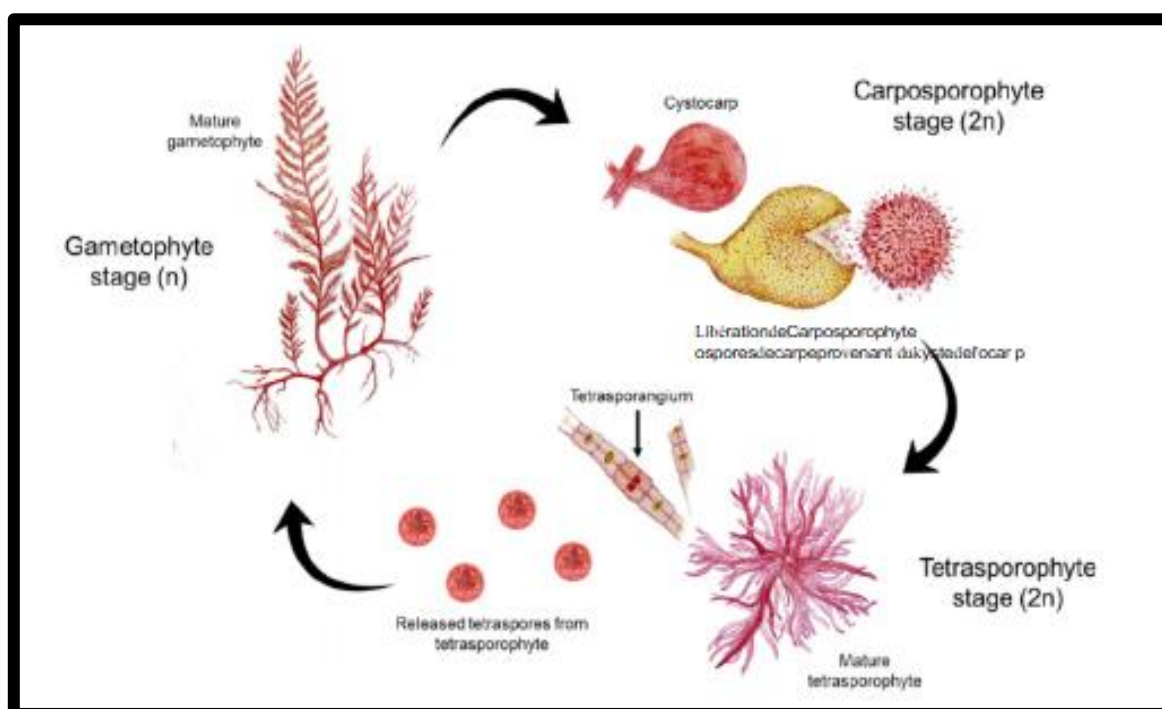


Figure 7: Schéma du cycle de reproduction d'*Asparagopsis armata* (Mihaila et al., 2023).

Au cours de la phase gamétophytique, correspondant à la forme visible nommée *Asparagopsis armata*, les individus présentent des organes reproducteurs mâles ou femelles. Cette phase est suivie par un stade intermédiaire microscopique, le carposporophyte, puis par la phase tétrasporophytique, anciennement décrite sous le nom de *Falkenbergia rufolanosa*. Les phases gamétophyte et tétrasporophyte sont également capables de reproduction végétative.

Les gamétophytes peuvent se détacher, dériver, et se fixer sur d'autres substrats, notamment sur d'autres algues, à l'aide de leurs rameaux épineux, donnant ainsi naissance à de nouvelles pousses. De son côté, la forme *Falkenbergia* peut également se disperser par flottaison (Namira, 2019 ; Otero et al., 2013)

I.1.9. Espèce similaire

I.1.9.a. *Asparagopsis taxiformis*

Asparagopsis armata et *Asparagopsis taxiformis* sont deux espèces d'algues présentant une forte similarité morphologique. Toutefois, elles peuvent être distinguées au stade gamétophyte: *A. armata* se caractérise par la présence de rameaux en forme de harpon, absents chez *A. taxiformis*, ce qui constitue un critère de différenciation fiable. En revanche, les formes tétrasporophytes des deux espèces sont morphologiquement indistinguables. Il convient de noter que l'ensemble du genre *Asparagopsis* est reconnu pour son fort potentiel invasif (Otero et al., 2013).



Figure 8 : La morphologie de l'algue rouge *Asparagopsis taxiformis* (Otero et al., 2013).

II.2. *Candida* et candidoses

I.1.10. Définition

Candida albicans est un champignon levuriforme faisant partie de la microflore intestinale humaine. Il peut être détecté chez environ 70 % des individus en bonne santé (Bennett & Johnson, 2005). Toutefois, *Candida albicans* peut devenir un pathogène opportuniste lorsque certaines conditions favorables sont réunies, telles qu'un déséquilibre de la flore bactérienne concurrente ou une immunodépression. Dans ces circonstances, il peut proliférer de manière excessive, entraînant des infections aussi bien superficielles que systémiques, notamment chez les individus immunodéprimés ou fragilisés (Berman, 2012 ; Samaranayake et al., 2005).

I.1.11. Classification des *Candida*

Les espèces du genre *Candida* sont, pour la plupart, des levures eucaryotes non pathogènes vivant en commensales. Elles appartiennent au groupe taxonomique des Ascomycètes et

peuvent être isolées à partir de diverses sources, qu'elles soient environnementales, humaines ou animales. Toutefois, seules quelques espèces de *Candida* présentent une importance clinique chez l'être humain, notamment *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* et *Candida dubliniensis*. Parmi elles, *C. albicans* est l'espèce dominante et la principale responsable des candidoses, en particulier des candidoses buccales, dont elle est la cause majoritaire (McManus & Coleman, 2014).

La classification (Takashima & Sugita, 2022) :

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Classe : Saccharomycetes

Ordre : Saccharomycetales

Famille : Saccharomycetaceae

Genre : *Candida*

Espèce : *Candida albicans*

I.1.12. Habitat des *Candida*

Les espèces du genre *Candida* peuvent être isolées à partir de sources environnementales, humaines ainsi que d'autres mammifères. Chez ces derniers, *Candida* fait partie intégrante de la flore microbienne commensale des muqueuses, en particulier au niveau des voies gastro-intestinales et génito-urinaires (McManus & Coleman, 2014). Environ 71 % des individus en bonne santé hébergent ces levures sans symptômes. Toutefois, lorsque l'équilibre du microbiote est perturbé ou que le système immunitaire est affaibli, ces levures peuvent devenir opportunistes et entraîner des manifestations pathologiques (Mavor et al., 2005).

I.1.13. Caractère morphologique et conditions de croissance de *C. albicans*

I.1.13.a. Caractère morphologique

Candida albicans est un champignon pouvant se développer sous forme unicellulaire, en biofilm ou en microcolonies (Chow et al., 2021). Il s'agit d'un organisme polymorphe capable d'adopter plusieurs formes morphologiques, levure (blastospore), hyphe, pseudohyphe, projection sexuelle, chlamyospore et bourgeon hyperpolarisé (Whiteway & Bachewich, 2007). Cette diversité morphologique est considérée comme étant une stratégie de survie, permettant sa croissance et sa dissémination dans l'hôte (Berman & Sudbery, 2002).

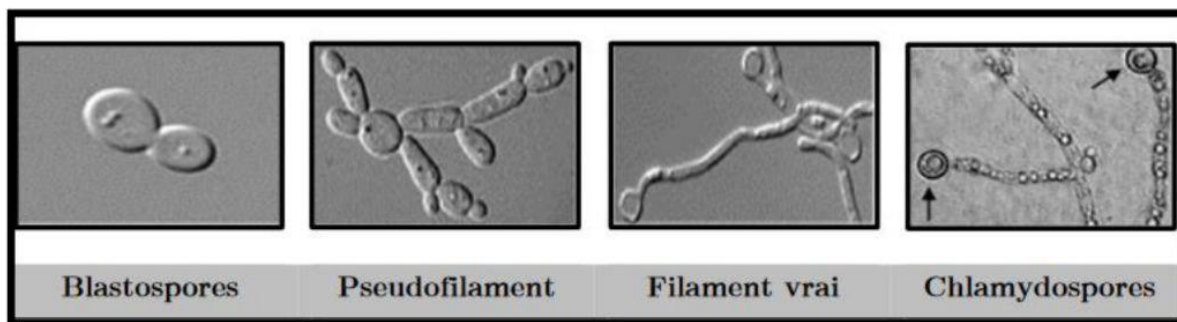


Figure 9: Différentes formes morphologiques de *C. albicans*, adapté selon (Irimès, 2011)

I.1.13.b. Conditions de croissance

Candida albicans se présente sous forme de blastospores (blastoconidies). Ces sont de petites cellules de 2 à 5 µm par 3 à 7 µm, globulaires, ovoïdes ou cylindriques. D'un point de vue macroscopique, elles forment des colonies blanches à crémeuses de 1 à 3 mm de diamètre, à la texture généralement pâteuse, lisse, brillante et aux bords réguliers (Gomes et al., 2013). Elles se reproduisent selon deux types de mécanismes :

i) Reproduction asexuée

Le mode de multiplication de *C. albicans* est principalement de type asexué. Elle 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, sous certaines conditions (température, pH, composition du milieu de culture). Les cellules restent attachées les unes aux autres et forment une chaîne plus ou moins ramifiée appelée pseudo-mycélium, qui peut favoriser, dans certaines conditions, la formation de mycélium vrai. 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 uni nucléés et séparés par des cloisons ou septa incomplets avec persistance d'un pore central assurant la continuité cytoplasmique (Ilhem, 2023).

ii) Reproduction sexuée :

C. albicans a été considérée comme un champignon diploïde asexuée. 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).

La reproduction parasexuée des *C. albicans* se déroule en deux étapes, le *mating* qui est le contact physique de deux cellules diploïdes entraînant la fusion des noyaux (caryogamie) pour donner naissance à un zygote (4N), et la réduction du concentré chromosomique contenu dans la cellule tétraploïde sans brassage génétique, mais, par simple perte aléatoire de chromosomes afin de revenir à l'état initial (2N) (Defosse et al., 2018).

I.1.14. Le biofilm

Le biofilm est un amas de microorganismes enrobés d'une matrice exo-polysaccharidique, adhérant sur les surfaces biotiques (les tissus animaux et végétaux) ou abiotiques (les cathéters, prothèses et valves) (Gulati & Nobile, 2016). ils constituent une barrière protectrice pour le tissu sous-jacent contre les agressions physiques, chimiques, thermiques et biologiques ; par contre lorsque l'organisme s'affaiblit et que ses défenses sont perturbées, les biofilms peuvent être des réservoirs microbiens à l'origine d'infections (Foulkes, 1973).

I.1.14.a. Les biofilms chez *C. albicans*

C. albicans est l'espèce fongique la plus souvent associée à la formation des biofilms. La levure est capable de développer des biofilms sur presque tous les implants médicaux, les cathéters vasculaires, les prothèses dentaires et les lentilles de contact (Douglas, 2003). Les mycètes de type *Candida albicans* existent naturellement sous forme hétérozygote(a/α), cette configuration permet d'avoir un biofilm pathogène ou conventionnel imperméable, impénétrable aux cellules immunitaires et aussi aux antifongiques. Ce biofilm pathogène peut être monomicrobien, c'est-à-dire qu'il contient un seul type d'espèce, ou polymicrobien dans le cas où il comprend des espèces mixtes, par exemple *Candida albicans* avec *Staphylococcus aureus*. Le développement du premier modèle de la formation de biofilm de *Candida albicans* in vitro a été établi par Hawser et Douglas en 1994. Cet événement a ouvert la voie à une meilleure compréhension de la formation de biofilm chez ces levures (Hamouche & Saib, 2024).

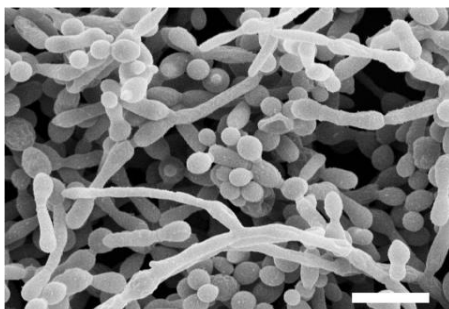


Figure 10: Biofilm mature de 48 h de *C. albicans* (Ramage et al., 2005).

I.1.14.b. Mécanisme de formation de biofilm chez *Candida albicans*

Le développement du biofilm de *Candida albicans* (durant environ 24 à 48 heures) composé de quatre étapes essentielles illustrées dans la **Figure 11**.

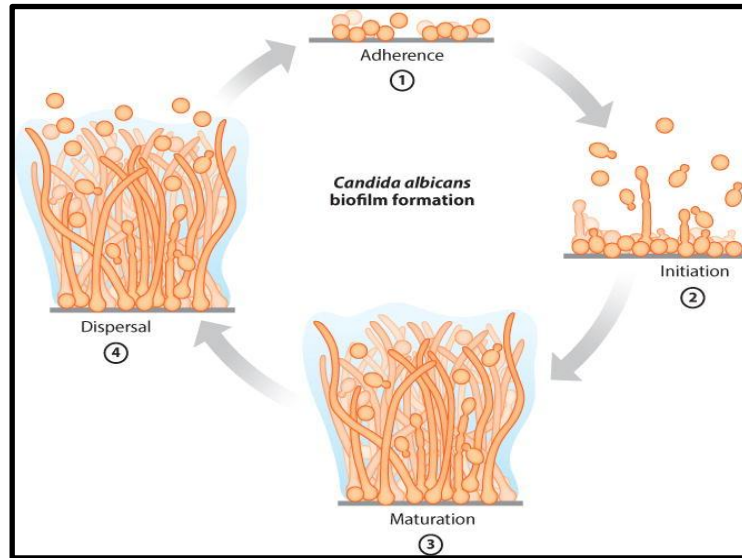


Figure 11: Le mécanisme de formation de biofilm chez *Candida albicans* adapté selon (Ramage et al., 2005).

i) Adhésion

La formation du biofilm chez *C. albicans* débute par l'attachement des cellules aux biomatériaux. Cet attachement est médié à la fois par des facteurs non spécifiques (hydrophobicité de la surface cellulaire et forces électrostatique) et par des adhésions spécifiques sur la surface fongique reconnaissant les ligands dans les films de conditionnement, tels que les protéines sériques (fibrinogène et fibronectine) et les facteurs salivaires. De plus, l'hydrophobicité de la surface cellulaire joue un rôle dans la formation du biofilm. Des études suggèrent que des événements d'adhérence spécifiques pourraient également être médiés par des protéines de surface cellulaire (Ramage et al., 2005).

ii) Prolifération

L'attachement initial des cellules individuelles de *Candida albicans* à un substrat est suivi par leur division, leur prolifération, puis le développement progressif du biofilm. Les biofilms matures de *Candida* présentent une architecture tridimensionnelle complexe, caractérisée par une forte hétérogénéité spatiale (Ramage et al., 2005). Au cours de cette phase d'initiation, les cellules levuriformes se transforment en structures filamenteuses de type hyphale. Durant ce processus, *C. albicans* sécrète plusieurs enzymes de la famille des hydrolases, en particulier les

protéinases aspartiques sécrétées (SAPs). Cette famille enzymatique comprend dix gènes, parmi lesquels SAP5 et SAP6, spécifiquement exprimés dans la phase hyphale, jouent un rôle essentiel dans l'agrégation des cellules au sein du biofilm et leur communication intercellulaire **(Gogol et al., 2019)**.

iii) Maturation

La maturation aboutit une structure tridimensionnelle formée par un réseau complexe de plusieurs couches de cellules polymorphes notamment des cellules hyphales (chaîne de cellules cylindrique), des cellules pseudo-hyphales (cellules ellipsoïdales reliées bout à bout) et des cellules levures rondes englobées dans une matrice extracellulaire, au cours de cette organisation de nombreux pores et canaux d'eau se forment afin d'assurer la circulation des molécules de *quorum sensing* qui permettent la communication entre le biofilm et son environnement **(Ponde et al., 2021)**.

iv) dispersion

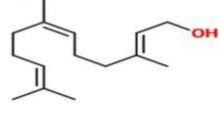
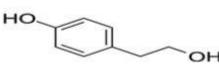
Le processus de dispersion du biofilm fait totalement partie du métabolisme du biofilm. En effet, il participe à sa réorganisation permanente (lui permettant de s'adapter aux conditions du milieu) et permet également aux microorganismes constituant la communauté de se détacher pour aller coloniser de nouvelles niches écologiques plus favorables **(Kim et al., 2018)**. Ce processus est assuré par la protéine de la paroi fongique « *yeast wall protein* » (Ywp1) qui est une glycoprotéine de la paroi cellulaire. Elle est caractérisée par des propriétés antiadhésives **(Hamouche & Saib, 2024)**.

I.1.14.c. Quorum sensing

La signalisation intercellulaire, en particulier la détection du quorum, est fondamentale à la formation des biofilms microbiens. Cette stratégie de communication intercellulaire favorise le bien-être des biofilms en prévenant la surpopulation inutile et en contrôlant la compétition pour les nutriments. Elle a des implications importantes dans le processus infectieux, notamment pour la dissémination et l'établissement de foyers distaux d'infection. Il a été démontré que le farnésol agit comme une molécule de détection de quorum qui inhibe la filamentation chez *C. albicans* **(Ramage et al., 2005)**. Ce système de communication intercellulaire est basé sur la densité cellulaire et l'environnement externe. En effet il repose sur la sécrétion de molécules de faibles poids moléculaire dont la concentration est corrélée à la densité cellulaire, et qui diffusent dans le milieu extérieur. Lorsque cette concentration dépasse le seuil critique, elle

déclenche ou réprime l'activation de certains gènes de virulence. Le tableau ci-dessous résume les molécules impliquées chez les *Candida albicans* (Hamouche & Saib, 2024).

Tableau 3: Molécules de quorum sensing (Hamouche & Saib, 2024).

| Molécule | Structure chimique | Rôle | Références |
|----------|--|---|--|
| Farnésol | $C_{15}H_{26}O$  | <ul style="list-style-type: none"> - Inhibe la transformation de <i>C. albicans</i> de la forme levure à la forme hyphé - Stabilise le gène Nrg 1 : gène régulateur du processus de dispersion). | (Kovács et Majoros, 2020 ; Dühning et Schuster, 2024) |
| Tyrosol | $C_8H_{10}O_2$  | <ul style="list-style-type: none"> - Régule le cycle cellulaire et la réplication de l'ADN chez les <i>Candida albicans</i>. - Exerce l'effet inverse de celui de farnésol, basé sur la transition morphologique des levures de <i>Candida albicans</i> | (Kovács et Majoros, 2020) (Xu <i>et al.</i> , 2022) |

I.1.14.d. Résistance du biofilm de *C. albicans*

Les biofilms de *C. albicans* sont intrinsèquement résistants à la plupart des antifongiques connus, ce qui rend ces infections particulièrement difficiles à combattre. Les azolés et la formulation classique des polyènes, par exemple, sont inefficaces contre les biofilms de *C. albicans*, ce qui limite encore davantage les médicaments utilisables pour traiter ces infections et souligne la nécessité de développer de nouveaux traitements antifongiques efficaces contre le mode de croissance du biofilm.

La résistance des biofilms de *C. albicans* aux médicaments antifongiques classiques est multifactorielle et mécaniquement complexe, mais elle est en grande partie due à trois facteurs majeurs, la régulation positive des pompes d'efflux, la présence de la matrice extracellulaire et l'existence de cellules récalcitrantes et métaboliquement inactives appelées cellules « persistantes » (Gulati & Nobile, 2016).

I.1.14.e. Impact du biofilm de *C. albicans* sur la santé humaine

Une fois qu'un biofilm de *C. albicans* est formé sur un dispositif médical implanté, il agit comme un réservoir de cellules pathogènes, il est hautement résistant aux médicaments et au système immunitaire de l'hôte et peut provoquer des infections sanguines disséminées (candidémies) pouvant entraîner des infections systémiques invasives des tissus et des organes. Chaque année, aux États-Unis, plus de cinq millions de cathéters veineux centraux sont posés et, malgré les récentes améliorations cliniques, une infection par biofilm survient dans plus de

50% de ces cathéters (Gulati & Nobile, 2016).

De plus, il n'existe aujourd'hui aucun médicament spécifique au biofilm contre *C. albicans* (ni aucun autre microbe), ce qui rend le traitement des infections à biofilm particulièrement complexe. Cependant, une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents à la formation et au maintien du biofilm pourrait conduire au développement de nouveaux antifongiques ciblant spécifiquement le biofilm (Nobile & Johnson, 2015).

I.1.15. La candidose

C. albicans est un endosaprophyte du tube digestif et des muqueuses génitales. Elle peut passer de l'état saprophyte à l'état pathogène sous l'influence de divers facteurs favorisant le plus souvent lié à une défaillance des systèmes de défense de l'hôte. *C. albicans* est capable de survivre comme commensal dans plusieurs sites anatomiques, chacun présentant ses propres pressions environnementales. Ceci explique les manifestations cliniques très diverses causées par ce champignon (Hamri et al., 2018). Parmi ces effets néfastes est la candidose vaginale qui touche 75% des femmes au moins une fois dans leur vie (avec des formes récurrentes dans 10% des cas) et la candidose oropharyngée qui survient chez 90 % des patients infectés par le VIH et atteints du sida. Ces chiffres indiquent la fréquence du portage de *C. albicans* sur les muqueuses humaines (Poulain, 2015). On peut classer les candidoses en deux grandes catégories ; Candidoses cutané-muqueuses, Candidoses systémiques et profondes.

I.1.15.a. Candidoses cutané-muqueuses

C. albicans est présent de manière asymptomatique chez la majorité des individus, colonisant naturellement le tube digestif, la peau et les muqueuses. Cependant, dans certaines conditions, il peut devenir pathogène et provoquer des inflammations localisées. Parmi les candidoses cutané-muqueuses les plus courantes figurent le muguet buccal, les candidoses vulvo-vaginales et les candidoses oropharyngées (Kacou, 2019).



Figure 12: Forme clinique des candidoses buccales (Laurent et al., 2011).

I.1.15.b. Candidoses systémiques et profondes

Une candidose profonde se produit lorsqu'au moins un organe profond est touché alors qu'une candidose systémique se produit lorsque plusieurs sites profonds sont touchés ou lors d'une propagation hématogène de *Candida*. Les candidoses profondes sont causées par la colonisation du tube digestif par des levures de *Candida*, qui forment des biofilms sur les muqueuses. Cette colonisation pourrait être le résultat de changements écologiques causés par des interventions chirurgicales, des antibiotiques à large spectre, ou le placement de dispositifs médicaux (cathéters). La propagation des espèces colonisatrices par la circulation sanguine peut également entraîner des infections à *Candida* (Caraës, 2016).

I.1.15.c. La prévention contre les candidoses

La prévention consiste à corriger les facteurs favorisant comme une hydratation suffisante et un bon état nutritionnel, à limiter l'utilisation de certains médicaments responsables d'une hyposialie, à réaliser des prothèses dentaires de bonne qualité et surtout à avoir une bonne hygiène buccodentaire (Laurent et al., 2011).

I.1.15.d. Traitement antifongique de la Candidose

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. 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 (Bedraoui et al., 2017).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Collecte de l'algue

L'échantillonnage de l'algue marine *A. armata* a été effectué durant la période de mars – avril à la plage de Jean Bart, El Marsa. Ces échantillons ont été recueillis à la main à des profondeurs comprises entre 0.5 à 1 mètre. Le site de prélèvement, situé à environ 25 km à l'est du centre-ville d'Alger, se trouve aux coordonnées 36° 48' 40" de latitude Nord et 3° 15' 20" de longitude Est (figure 13).



Figure 13: Site d'échantillonnage de l'algue marine *A. armata* (El Marsa, Alger).

II.2. Nettoyage et identification des échantillons d'algue

Dans un premier temps, les algues fraîches sont rincées à l'eau de mer afin d'éliminer les particules de sable, les épiphytes et autres débris susceptibles d'altérer leur activité biologique. Les échantillons ainsi nettoyés sont ensuite transportés au laboratoire dans des sacs en plastique contenant de l'eau de mer. Leur identification repose sur une analyse morphologique, basée sur les critères du site AlgaeBase (Bernot et al., 2022), notamment la reconnaissance du stade gamétophyte, caractérisé par des touffes roses portant de nombreux ramules, dont certains en forme de harpon. Une fois au laboratoire, les algues sont soumises à un second rinçage à l'eau du robinet, puis placées dans une pièce sombre à température ambiante pendant deux semaines afin de permettre une déshydratation complète. Les échantillons séchés sont ensuite conservés dans des sacs en papier pour un usage ultérieur.



Figure 14: L'algue marine rouge *A. armata*.

II.3. Préparation des extraits de l'algue

Les échantillons d'algues séchées sont réduits en poudre fine à l'aide d'un mortier, en vue d'une extraction utilisant deux solvants de polarités différentes à savoir le méthanol (solvant polaire) et le dichlorométhane (solvant apolaire).

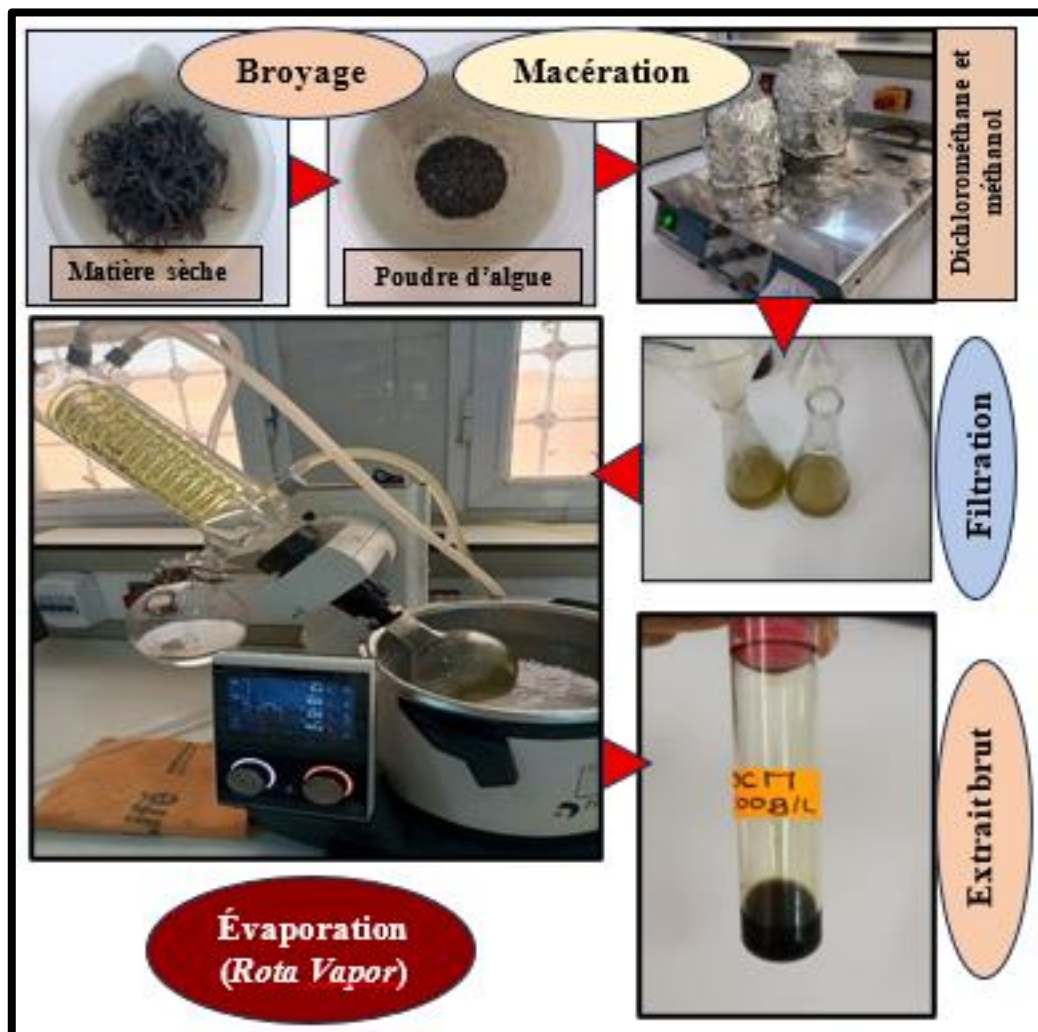


Figure 15: Schéma simplifié illustrant le procédé d'extraction au DCM et au méthanol.

Pour chaque extraction, 10g de poudre d'algue sont mis en contact avec 100 ml de solvant, puis agités en continu à 250 tr/min pendant 24 h, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les extraits sont ensuite filtrés à travers du papier Wattman N°1 puis évaporés à sec à 45°C au moyen d'un évaporateur rotatif. Les extraits bruts obtenus sont solubilisés dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour avoir une concentration finale de 300 mg/ml. Enfin, les extraits sont conservés à 4 °C dans tubes fermés hermétiquement jusqu'à leur utilisation. Le protocole d'extraction est présenté schématiquement dans la **figure 15**.

II.4. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage de la matière sèche initiale, en calculant la perte de masse après évaporation des solvants, selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (P1 - P2 / P3) \times 100$$

P₁ : représente la masse du ballon après l'évaporation.

P₂ : la Masse du ballon avant l'évaporation (ballon vide).

P₃ : la masse de la matière sèche initiale.

II.5. Évaluation de l'activité anticandidosique

L'évaluation de l'activité anticandidosique a été réalisée au sein des laboratoires de l'université de Laghouat. Afin de garantir la fiabilité des résultats et d'éviter toute contamination, l'ensemble des manipulations a été mené dans des conditions strictes d'asepsie. À cet effet, le matériel, les milieux de culture ainsi que les solutions utilisées ont été systématiquement stérilisés par autoclavage avant chaque utilisation

II.5.1. Les souches fongiques testées

Le germe utilisé pour évaluer l'activité anticandidosique des deux extraits appartient aux microorganismes fréquemment impliqués en pathologie humaine. Il s'agit de la levure *Candida albicans*, et plus précisément de la souche de référence *C. albicans* ATCC 10231.

La souche de référence provient du Laboratoire de "Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE), Université de Tlemcen." Les souches ont été conservées sur gélose de Sabouraud (SDA) à 4°C en vue des prochaines analyses.

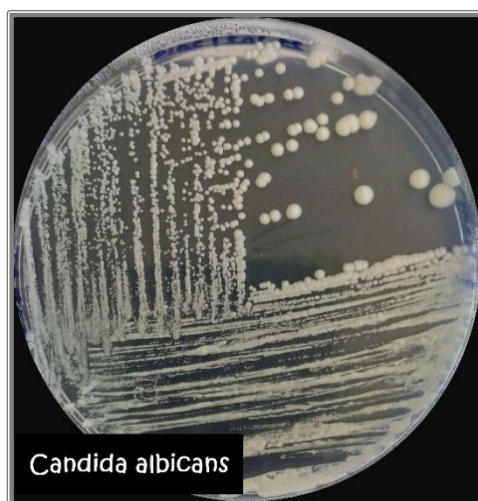


Figure 16: Aspect des colonies de C. albicans sur gélose de Sabouraud (SDA)

II.5.2. Préparation des suspensions de *C. albicans*

La préparation de l'inoculum de la levure *C. albicans* ATCC 10231 a été réalisée à partir de cultures pures et jeunes, incubées pendant 24 heures à 37 °C sur gélose de Sabouraud. Des colonies bien isolées ont été prélevées et mises en suspension dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile. La concentration microbienne de l'inoculum a ensuite été ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre pour atteindre une densité optique ($DO = 0,1$), correspondant à une concentration estimée entre 10^6 et 10^8 UFC/ml, mesurée à une longueur d'onde de 620 nm.

II.5.3. Détermination de l'activité anticandidosique par la technique de diffusion en milieu gélosé

Le potentiel anticandidosique des deux extraits d'*A. armata* a été évalué par la méthode de diffusion en milieu gélosé, conformément aux recommandations du *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2000) (Genovese et al., 2012).

II.5.3.a. Méthode des disques

En conditions d'aseptie, des disques stériles de papier Wattman N°1 de 6 mm de diamètre ont été déposés, à l'aide d'une pince stérile, sur des milieux gélosés de Sabouraud préalablementensemencés avec la suspension de *C. albicans* ATCC 10231 ($DO_{620\text{ nm}} = 0,1$). Chaque disque est imprégné de 10 μ l de l'une des dilutions des extraits d'algue, préparées à des concentrations variant de 12.5 mg/ml à 300 mg/ml. Un disque traité uniquement avec du DMSO (99,99 %) a servi de témoin négatif. Après 20 minutes de diffusion, les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 48h.

II.5.3.b. Méthode des puits

Des puits de 6 mm de diamètre ont été réalisés à l'aide de pipettes Pasteur stériles dans des boîtes préalablement coulées avec du milieu gélosé Sabouraud, puisensemencées avec la suspension de *C. albicans* ($DO_{620nm} = 0,1$). Un volume de 40 μ l d'extrait, à des concentrations comprises entre 12.5 mg/ml et 300 mg/ml, a été déposé dans chaque puits. Le DMSO a été utilisé comme témoin négatif. Les boîtes ainsi préparées ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 48 heures.

II.5.3.c. Lecture des résultats

Après 48 heures d'incubation à 37°C, l'effet des extraits se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition transparente autour des disques et des puits. Le diamètre de ces zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse. Selon les critères de Park et *al.* (Park et *al.*, 2006), l'activité anticandidosique est considérée comme positive lorsque le diamètre est supérieur à 6 mm. Elle est qualifiée de faiblement active si le diamètre de la zone est inférieur à 10 mm, moyennement active, s'il est inférieur à 15 mm et très active, s'il dépasse les 15 mm (Bansemir et *al.*, 2006 ; Oumaskour et *al.*, 2013).



Figure 17: Mesure des diamètres des zones d'inhibition.

II.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration qui inhibe toute croissance visible de la levure *C. albicans*. Pour déterminer la CMI des extraits d'algue méthanolique et dichlorométhanique, la méthode de microdilution en milieu liquide de Sabouraud a été utilisée. Des suspensions de *C. albicans* ont été préparées à partir de cultures de 24 heures de la souche *C. albicans* ATCC 10231 dans un bouillon de

Sabouraud additionné de 1% de Tween 80, puis ajustées à une concentration de 10^5 UFC/ml. Les extraits ont été introduits dans une microplaque à fond rond de 96 puits, contenant chacun 150 μ l de la suspension, à des concentrations allant de $2,18 \times 10^{-6}$ mg/ml à 37,5 mg/ml. Des puits témoins négatifs, contenant du DMSO à la place des extraits, ont également été inoculés. Après incubation pendant 24 h à 37 °C, la CMI a été déterminée par une évaluation visuelle de la turbidité des puits, comparée aux puits témoins (**Figure 18**).

Par ailleurs, la CMI des deux extraits a été évaluée sur deux isolats cliniques en l'occurrence, l'isolat 1, prélevé à partir d'un cas de muguet buccal chez une femme, et l'isolat 5, issu d'un cas similaire chez un jeune homme. Ces isolats ont été identifiés selon la procédure décrite dans la section suivante. Cette détermination a pour objectif de soutenir les tests d'activité antibiofilm des extraits en tenant compte de la sensibilité propre à chaque souche de *C. albicans*.

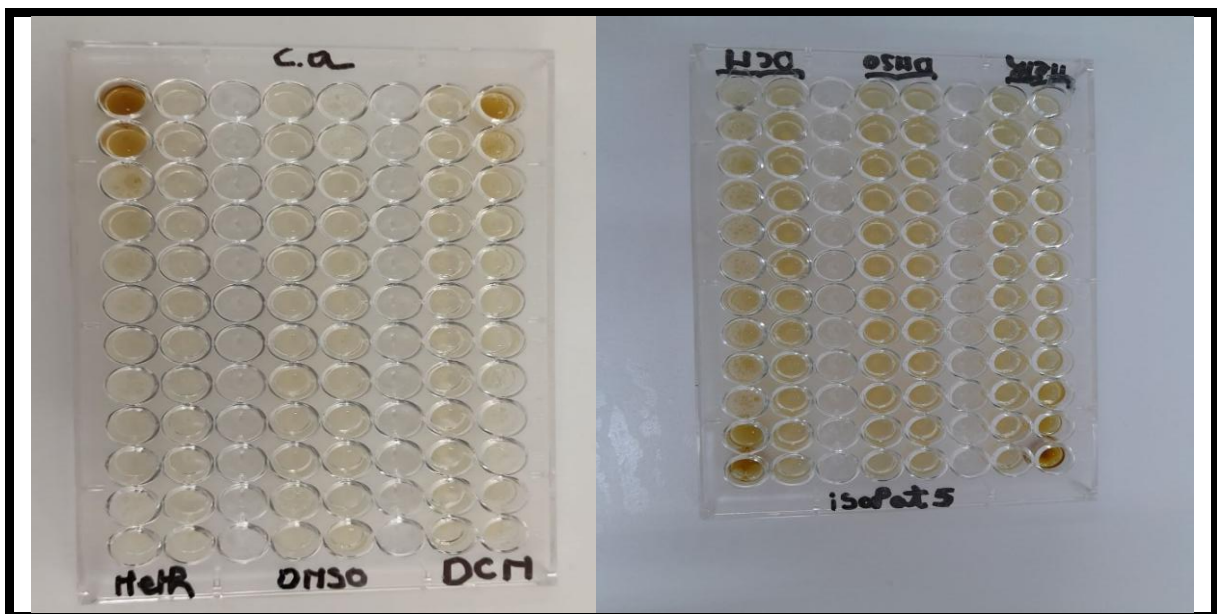


Figure 18: Microplaques inoculées pour la détermination de la CMI des souches de *C. albicans*.

II.7. Identification des isolats cliniques

L'identification des isolats cliniques de *C. albicans* repose sur l'analyse combinée d'observations macroscopiques et microscopiques, permettant de confirmer l'appartenance des souches au genre *Candida* et plus précisément à l'espèce *C. albicans*.

II.7.1. Aspect macroscopique des colonies

Les isolats ont été cultivés sur gélose de Sabouraud, un milieu favorable à la croissance des levures. Après une incubation de 24 à 48 heures à 37 °C, les colonies de *C. albicans* apparaissent

rondes, blanchâtres à crème, au contour bien délimité. Elles présentent une surface lisse, un aspect légèrement brillant et une consistance crémeuse. Les colonies sont généralement bombées et opaques, caractéristiques typiques de *C. albicans*. L'absence de pigmentation diffusible dans le milieu et la croissance rapide en 24 heures constituent également des éléments distinctifs utiles à leur identification préliminaire.

II.7.2. Examen direct (à l'état frais)

Après une incubation de 24h sur gélose de Sabouraud en boîtes de Pétri, un examen microscopique à l'état frais a été réalisé pour les des deux isolats. Une colonie bien isolée a été prélevée à l'aide d'une pipette stérile, puis déposée sur une lame contenant au préalable une goutte d'eau physiologique stérile. La préparation a ensuite été recouverte d'une lamelle et observée au microscope optique au grossissement $\times 400$. Cette observation permet de visualiser directement la morphologie cellulaire des levures, notamment la forme, la taille et le bourgeonnement.

II.7.3. Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée pour les isolats cliniques 1 et 5 de *C. albicans*. Pour chaque isolat, une colonie bien isolée a été prélevée et étalée sur une lame contenant une goutte d'eau physiologique stérile, puis fixée par un passage à la flamme du bec bunsen. Le frottis a ensuite été successivement coloré au violet de Gentiane, au lugol, décoloré à l'alcool, puis contre-coloré à la fuchsine. L'observation a été effectuée au microscope optique à l'objectif $\times 100$ à immersion dans l'huile, soit un grossissement de $\times 1000$.

II.7.4. Test de chlamydosporulation

Le test de chlamydosporulation a été réalisé afin de confirmer l'identification des isolats cliniques de *C. albicans*. À partir de cultures de 24 h, une colonie bien isolée de chaque isolat a été prélevée et ensemencée en surface sur un milieu gélosé à base de crème de riz et de tween 80 (*Rice Tween Agar*). L'ensemencement a été effectué à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, en traçant 3 à 4 stries verticales coisées par 3 à 4 stries horizontales. Une lamelle stérilisée à la flamme a été placée délicatement sur la zone ensemencée afin de favoriser des conditions propices à la formation des spores de résistance. Les boîtes ont été incubées à température ambiante, à l'obscurité pendant 48 heures. L'observation microscopique a été effectuée au grossissement $\times 400$. L'analyse visait à détecter la présence de chlamydozoaires et de pseudofilaments, caractéristiques de *C. albicans* (Lars, 2023).

II.7.5. Identification biochimique (Galerie API Candida)

L'API Candida est un système standardisé pour l'identification en 18-24 heures des levures, notamment les plus fréquemment rencontrées en microbiologie clinique.

II.7.5.a. Principe

La galerie API Candida comporte 10 tubes contenant des substrats déshydratés, pour réaliser 12 tests d'identification (acidification de sucres ou réactions enzymatiques). Les réactions produites durant l'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés. La lecture des réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue en consultant la liste des profils de la notice ou à l'aide d'un logiciel d'identification « Biomérieux ».

II.7.5.b. Méthode d'inoculation de la galerie

Nous avons commencé l'inoculation de la galerie d'identification par la préparation de la boîte d'incubation, dans laquelle quelques gouttes d'eau distillée stérile ont été ajoutées afin de maintenir une atmosphère humide. La galerie, préalablement étiquetée avec la référence de chaque souche, a ensuite été positionnée à l'intérieur de la boîte. L'inoculum est préparé à partir de colonies jeunes des isolats 1 et 5, en les suspendant dans un volume d'eau physiologique stérile. La densité optique des suspensions a ensuite été ajustée à 0.75 à 550 nm, et ces suspensions ont été utilisées immédiatement pour l'ensemencement de la galerie.

Chaque cupule de la galerie est ensuite inoculée avec cette suspension, en évitant la formation de bulles. Les tests nécessitant des conditions anaérobies (notamment GLU à RAF et URE) sont recouverts d'huile de paraffine. La galerie est ensuite placée dans la boîte d'incubation, qui est refermée et incubée à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

II.8. Etude de la formation du biofilm de *C. albicans*

II.8.1. Préparation des milieux de culture

Le milieu utilisé pour l'étude du biofilm de *C. albicans* est le milieu liquide de Sabouraud, composé de peptones et d'extrait de levure, fournissant les nutriments nécessaires à la croissance des différentes souches de cette levure. Afin d'évaluer l'effet du glucose sur la biomasse du biofilm, différentes concentrations de glucose ont été ajoutées au milieu, allant de 0 à 50 g/L.

II.8.2. Préparation des inocula

Pour la préparation des inocula, des cultures jeunes de la souche de référence *C. albicans* ATCC 10231 ainsi que des isolats cliniques 1 et 5 ont été utilisées. Pour chaque souche et pour chaque concentration de glucose testée, une suspension cellulaire a été préparée dans des tubes contenant le bouillon de Sabouraud. La densité cellulaire de chaque suspension a ensuite été ajustée à trois valeurs de densité optique différentes ($DO = 0,1, 0,2$ et $0,3$), mesurées à 620 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.



Figure 19: Photographie des suspensions préparées sur bouillon de Sabouraud.

II.8.3. Formation du biofilm

Pour chaque concentration de glucose et chaque concentration cellulaire initiale, un volume de 2000 μ l des différentes suspensions de *C. albicans* a été transféré dans des tubes en plastique stériles. Les tubes ont été ensuite incubés à 37°C pendant 3 à 7 jours. Pour chaque condition, des répliquats ont été incubés en atmosphère normoxique, tandis que d'autres ont été placés en conditions d'hypoxie.

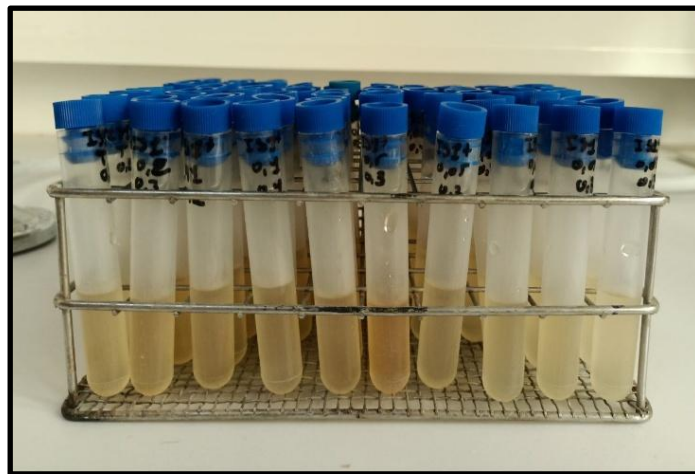


Figure 20: photographie des tubes inoculés pour la formation du biofilm.

II.8.4. Quantification du biofilm

Après incubation, la biomasse du biofilm formé a été quantifiée par la méthode au cristal violet. Le contenu des tubes a d'abord été éliminé, puis les parois ont été délicatement rincées avec de l'eau physiologique stérile afin d'éliminer les cellules non adhérentes.

Ensuite, 3 mL de cristal violet à 0,1 % ont été ajoutés dans chaque tube, et la coloration a été effectuée pendant 15 à 30 minutes. Après cette étape, les tubes ont été rincés à nouveau avec de l'eau physiologique puis laissés à sécher à l'air libre. La coloration fixée a ensuite été solubilisée par l'ajout de 2 ml de l'acide acétique à 33 %, incubé pendant 10 minutes. L'intensité de la coloration a été mesurée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

II.8.5. Lecture

La densité optique est mesurée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Selon les critères établis par (Stepanović et al., 2000), les souches sont classées en fonction de leur capacité à former un biofilm comme suit :

- $DO \leq DO_{\text{témoin}}$: souche non formatrice de biofilm.
- $DO_{\text{témoin}} < DO \leq 2x DO_{\text{témoin}}$: souche faiblement formatrice de biofilm.
- $2x DO_{\text{témoin}} < DO \leq 4x DO_{\text{témoin}}$: souche modérément formatrice de biofilm.
- $DO > 4x DO_{\text{témoin}}$: souche fortement formatrice du biofilm.

II.9. Etude de l'activité anti-biofilm de *C. albicans*

Après formation du biofilm par les trois souches de *C. albicans*, les conditions optimales, correspondant aux meilleurs rapports de formation du biofilm, ont été sélectionnées. L'expérience a ensuite été répétée en utilisant exclusivement ces conditions optimales. Pour chaque condition, trois réplicats ont été réalisés. L'ensemble des tubes a été incubé à 37 °C pendant quelques jours.

II.9.1. Traitement des biofilms formés

Après l'incubation initiale, le milieu utilisé a été retiré, puis les biofilms ont été rincés deux à trois fois avec de l'eau distillée stérile afin d'éliminer les cellules non adhérentes. Ensuite, 2000 μL de bouillon Sabouraud ont été ajoutés dans chaque tube, suivis de l'application des extraits méthanolique et dichlorométhanique à différentes concentrations, sélectionnées en fonction des valeurs de la CMI déterminées au préalable (CMI/4, CMI/2, CMI, CMI \times 2, CMI \times 4). Des tubes

n'ayant subi aucun traitement ont servi de témoins positifs. L'ensemble des tubes a été incubé à 37 °C pendant 18 à 24h.

II.9.2. Quantification de la biomasse résiduelle du biofilm

Après incubation avec les extraits méthanolique et dichlorométhanique, la biomasse résiduelle a été quantifiée en utilisant la méthode au cristal violet, comme décrite dans la section précédente. La densité optique a été mesurée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

II.9.3. Evaluation de l'activité anti-biofilm des extraits

Le pourcentage d'inhibition du biofilm a été calculé dans le but d'évaluer l'efficacité des extraits testés. Ce calcul repose sur la comparaison entre la densité optique du biofilm non traité ($DO_{\text{contrôle}}$) et celle du biofilm exposé aux extraits, selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left(\frac{DO_{\text{contrôle}} - DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{contrôle}}} \right) \times 100$$

Où :

- $DO_{\text{contrôle}}$: densité optique du biofilm en l'absence de traitement.
- $DO_{\text{échantillon}}$: densité optique du biofilm en présence de l'extrait.

*Chapitre III : Résultats et
Discussion*

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Le rendement d'extraction

Les organismes marins constituent une source particulièrement riche en métabolites secondaires bioactifs, susceptibles de contribuer au développement de nouveaux agents pharmaceutiques (El Gamal, 2010). Pour valoriser ce potentiel, l'extraction est une étape cruciale, car elle permet d'isoler et de caractériser les composés bioactifs à forte valeur ajoutée (Su et al., 2006) présents notamment dans l'algue marine rouge *A. armata*.

Dans ce contexte, l'activité inhibitrice des extraits de l'algue *A. armata* a été étudiée en utilisant deux solvants de polarité différente à savoir le méthanol et le dichlorométhane. Les rendements d'extraction obtenus pour ces solvants sont présentés dans le **Tableau 4**.

Tableau 4: Rendements d'extraction (%) par macération (méthode par épuisement du solvant) des extraits de dichlorométhane et de méthanol à partir de 10g de l'algue *A. armata*.

| Les extraits bruts d' <i>A. armata</i> | Rendement d'extraction (%) |
|--|----------------------------|
| Dichlorométhane | 0.69 |
| Méthanol | 14.9 |

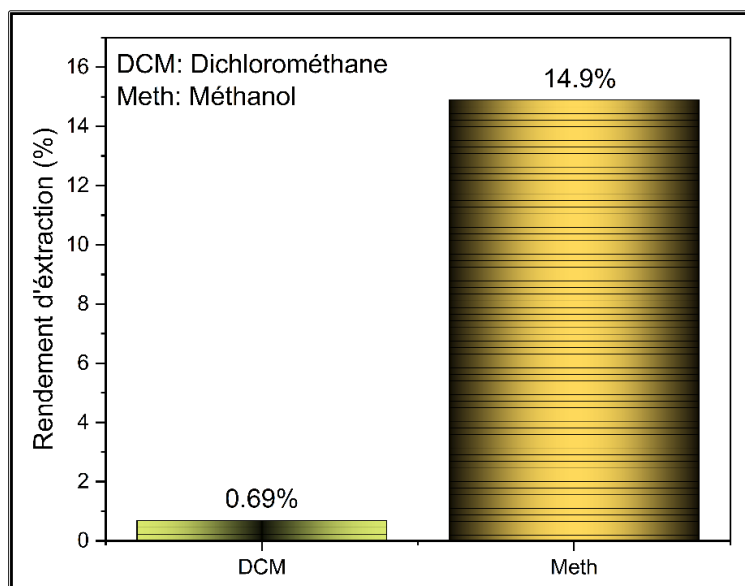


Figure 21 : Rendements d'extraction du dichlorométhane et du méthanol.

Les résultats indiquent que le méthanol donne le rendement le plus élevé (14.9%), tandis que le dichlorométhane affiche un rendement beaucoup plus faible (0.69%). Cette différence peut s'expliquer par la polarité des solvants, déterminée par leur constante diélectrique (ϵ'), qui est nettement plus élevée pour le méthanol ($\epsilon' = 32,6$) que pour le dichlorométhane ($\epsilon' = 8,93$)

(Grosso et al., 2015). Ce faible rendement observé avec le dichlorométhane corrobore parfaitement avec les données de la littérature. En effet, Machado et al. (Machado et al., 2016) ont comparé les rendements d'extraction de quatre solvants (dichlorométhane, hexane, eau et méthanol) à partir de l'algue rouge *Asparagopsis taxiformis* et ont constaté que le dichlorométhane et l'hexane affichaient les rendements les plus faibles (1,9 % et 0,5 % respectivement), contrairement à l'eau (24,9 %) et au méthanol (10,2 %).

Par ailleurs, plusieurs études ont démontré l'activité antifongique des extraits d'algues rouges, attribuée à la présence de composés volatils tels que, les acides gras halogénés, les terpènes et d'autres métabolites secondaires halogénés (Kladi et al., 2004). Ces composés étant majoritairement apolaires, les solvants comme l'acétone et le dichlorométhane sont considérés comme les plus adaptés pour leur extraction.

Enfin, cette analyse nous permet de conclure que le rendement d'extraction est étroitement lié à la nature et à la polarité du solvant utilisé. Néanmoins, il est également influencé par d'autres paramètres, en particulier la composition chimique de l'algue, elle-même dépendante de l'espèce étudiée, de son stade de développement, ainsi que des facteurs environnementaux tels que la localisation géographique, la saison et les conditions climatiques (Bansemir et al., 2006).

III.2. Activité anticandidosique

L'activité anticandidosique des extraits bruts de l'algue marine rouge *A. armata* a été évaluée contre la levure *C. albicans* ATCC 10231 en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des disques et des puits imprégnés de deux extraits (méthanolique et dichlorométhanique). Les résultats, obtenus par la méthode de diffusion sur gélose de Sabouraud à différentes concentrations, sont présentés dans les **Tableaux 5-8**.

Les résultats obtenus révèlent que l'extrait dichlorométhanique a induit de grandes zones d'inhibition contre *C. albicans* ATCC 10231, allant de 27,28 mm à 42,92 mm (15,33 à 19,07 mm), avec des concentrations comprises entre 6 mg/puits et 12 mg/puits (1,5 mg/disque à 3 mg/disque), déterminées respectivement par la méthode de diffusion en puits (méthode de diffusion sur disques). En comparaison, l'extrait méthanolique a généré des zones d'inhibition moins importantes, variant de 16,66 mm à 26,66 mm (8,70 mm à 15,72 mm) sur *C. albicans* ATCC 10231 déterminées par la méthode de diffusion en puits (méthode de diffusion sur disques) pour les mêmes concentrations. Selon ces résultats, l'extrait dichlorométhanique

présente une activité inhibitrice nettement plus marquée que l'extrait méthanolique. De plus, le DMSO n'a montré aucun effet inhibiteur sur la croissance de *Candida albicans*, confirmant ainsi l'absence d'activité anticandidosique de ce solvant.

Ces observations sont en accord avec celles de Bansemir et *al.* (**Bansemir et al, 2005**), qui ont rapporté une activité inhibitrice significative des extraits dichlorométhaniques de l'algue rouge *Asparagopsis armata*, avec des zones d'inhibition nettement supérieures à celles obtenues avec les extraits méthanoliques et aqueux. Par ailleurs, Kladi et *al.* (**Kladi et al, 2004**) ainsi que Dembitsky et Srebnik (**Dembitsky & Srebnik, 2002**) ont montré que les extraits d'algues rouges inhibent efficacement la croissance de diverses souches fongiques. Ces auteurs attribuent cette activité antifongique à la présence de composés volatils tels que les dérivés phénoliques, les acides gras halogénés, les terpénoïdes et d'autres métabolites secondaires halogénés.

Nos résultats montrent que l'extrait dichlorométhanique de l'algue *A. armata* présente les zones d'inhibition les plus importantes, suggérant ainsi la présence de composés lipophiles à activité anti-*C. albicans*, probablement des métabolites halogénés. Plusieurs études ont identifié dans les algues rouges, notamment *Asparagopsis*, des terpénoïdes, acétylènes et phénols halogénés bioactifs (**McConnell & Fenical, 1977**), connus pour leur forte activité antimicrobienne. Ces composés sont localisés dans des cellules spécialisées appelées vésicules, qui renferment de grandes quantités de composés halogénés notamment bromés et iodés. Ces substances sont considérées comme responsables de l'activité antimicrobienne observée (**Wolk, 1968**). Étant donné que le dichlorométhane est un solvant faiblement polaire, il est particulièrement adapté à l'extraction de ces composés lipophiles, ce qui expliquerait l'efficacité accrue de l'extrait dichlorométhanique contre *C. albicans*.

Nos résultats ont révélé une augmentation progressive du diamètre des zones d'inhibition à mesure que la concentration des extraits augmentait, ce qui indique une réponse fongique dose-dépendante. Par ailleurs, une corrélation linéaire entre l'inhibition de la croissance de *C. albicans* et la concentration des extraits a été observée, avec un coefficient de corrélation de 0.99 pour l'extrait dichlorométhanique et des coefficients allant de 0.89 à 0.99 pour l'extrait méthanolique, comme présenté dans le **Tableau 6** et illustré par les figures de corrélation. Ces observations montrent que, bien que la méthode de diffusion sur disque confirme la présence de composés bioactifs dans l'algue, la méthode de diffusion en puits s'avère plus performante, comme l'indiquent les **Tableaux 5 à 8**. Cela rejoint les conclusions de Valgas et *al.* (**Valgas et**

al., 2007) qui recommandent cette méthode pour évaluer l'activité antifongique d'extraits naturels, notamment en raison d'une meilleure diffusion des substances actives. En effet, la formation de précipités insolubles sur les disques de papier peut limiter la libération des composés, contrairement à la diffusion directe en puits (Balouiri *et al.*, 2016 ; Valgas *et al.*, 2007).

Tableau 5: *Activité anticandidosique (technique de diffusion en puits) de l'extrait de dichlorométhane d'A. armata sur la souche C. albicans ATCC 10231.*

| | Concentration en masse (mg/ puits) | Diamètre des zones d'inhibition (mm) |
|--------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| | | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 |
| Extrait | 12.0 | 42.92 ± 2.12 |
| dichlorométhanique | 6.00 | 27.28 ± 0.66 |
| | 3.00 | 15.46 ± 0.19 |
| | 1.50 | 11.11 ± 0.48 |
| | 0.50 | 6.34 ± 0.12 |

Tableau 6: *Activité anticandidosique (technique de diffusion sur disques) de l'extrait de dichlorométhane d'A. armata sur la souche C. albicans ATCC 10231.*

| | Concentration en masse (mg/ disque) | Diamètre des zones d'inhibition (mm) |
|--------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| | | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 |
| Extrait | 3.00 | 19.07 ± 0.01 |
| dichlorométhanique | 1.50 | 15.33 ± 0.45 |
| | 0.75 | 11.33 ± 0.84 |
| | 0.37 | 9.83 ± 0.21 |
| | 0.12 | 7.46 ± 0.29 |

Tableau 7: *Activité anticandidosique (technique de diffusion sur disques) de l'extrait de dichlorométhane d'A. armata sur la souche C. albicans ATCC 10231.*

| | Concentration en masse (mg/ puits) | Diamètre des zones d'inhibition (mm) |
|----------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| | | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 |
| Extrait méthanolique | 12.0 | 26.66 ± 0.57 |
| | 6.00 | 16.66 ± 1.15 |
| | 3.00 | 9.66 ± 0.57 |
| | 1.50 | 6.33 ± 0.57 |
| | 0.50 | 6.00 ± 0.20 |

Tableau 8: *Activité anticandidosique (technique de diffusion sur disques) de l'extrait méthanolique d'A. armata sur la souche C. albicans ATCC 10231.*

| | Concentration en masse (mg/ disque) | Diamètre des zones d'inhibition (mm) |
|----------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| | | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 |
| Extrait méthanolique | 3.00 | 15.72 ± 0.09 |
| | 1.50 | 8.70 ± 0.07 |
| | 0.75 | 9.27 ± 0.42 |
| | 0.37 | 7.83 ± 0.16 |
| | 0.12 | 6.03 ± 0.31 |

Tableau 9: Coefficients de corrélation de la régression linéaire de la variation du diamètre des zones d'inhibition en fonction de la concentration en masse des extraits.

| Coefficients de corrélation (R ²) | |
|---|-------------------------------|
| Extrait dichlorométhanique | |
| Méthode des puits | Méthode des disques |
| <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 |
| 0.99 | 0.99 |
| Extrait méthanolique | |
| Méthode des puits | Méthode des disques |
| <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 |
| 0.99 | 0.89 |

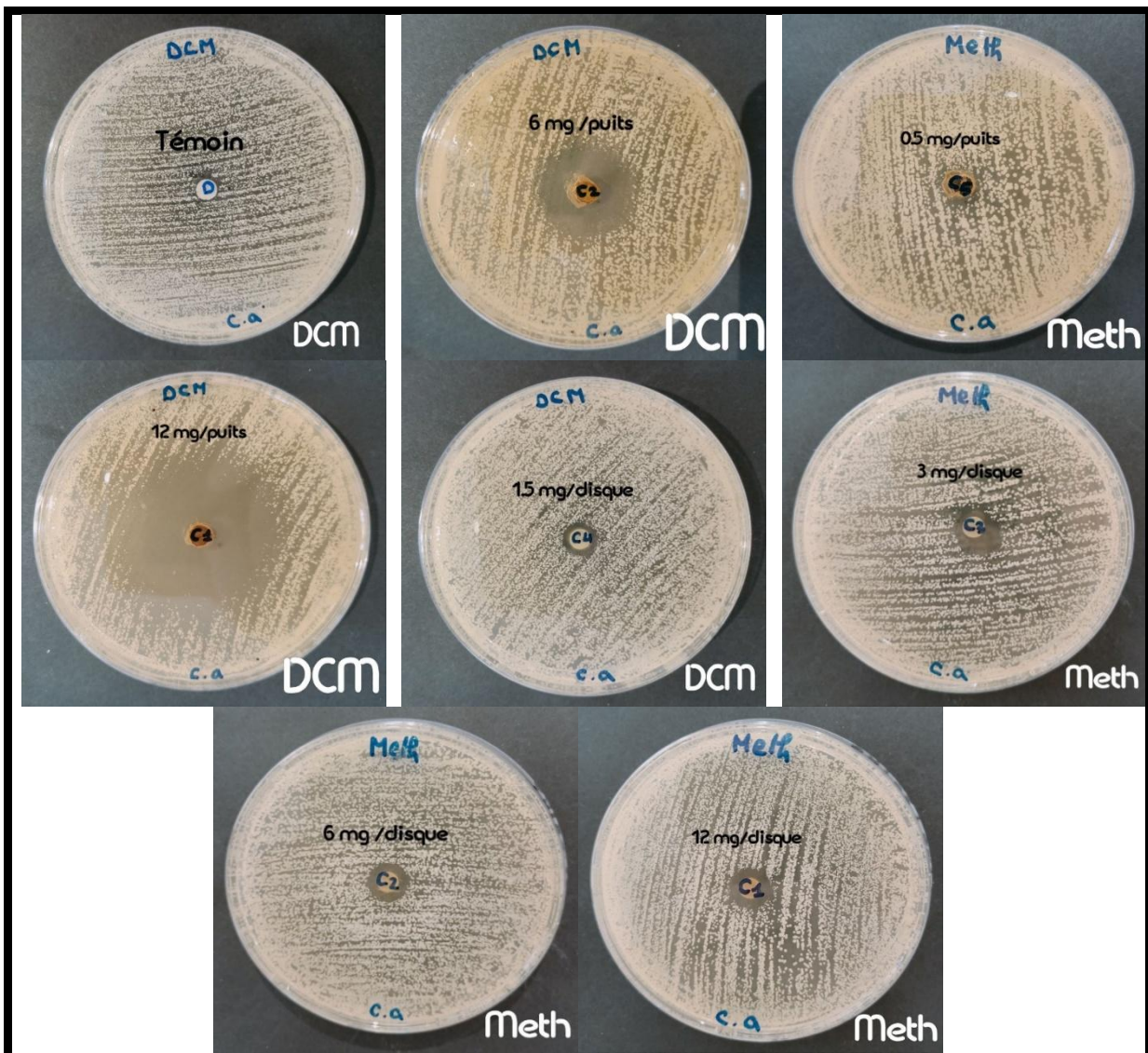


Figure 22: Activité anticandidosique des extraits dichlorométhanique et méthanolique d'*A. armata*.

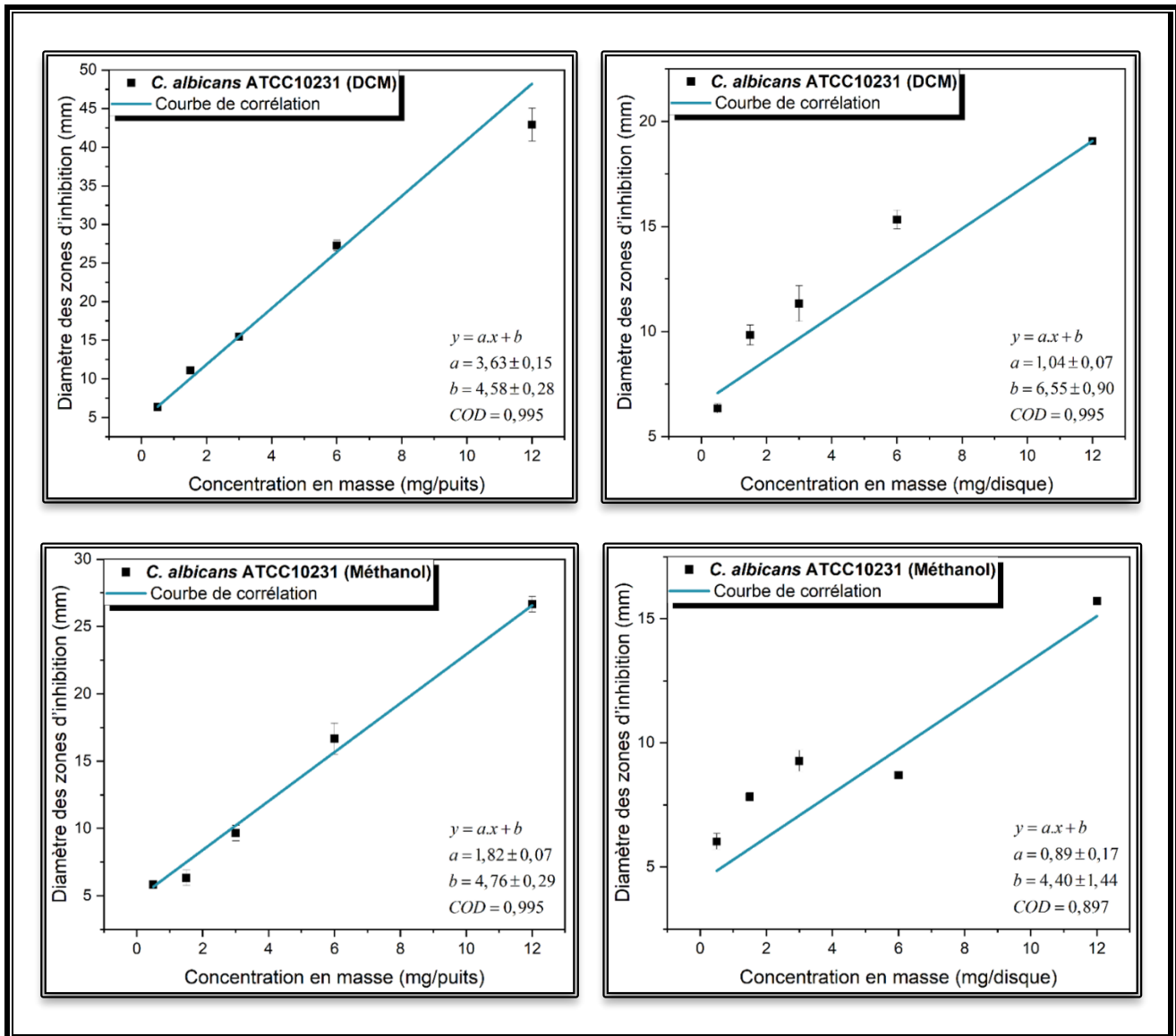


Figure 23: Corrélation entre la concentration en masse des extraits dichlorométhanique et méthanolique d'*A. armata* et les diamètres d'inhibition de la croissance de *C. albicans* ATCC 10231.

III.3. Concentration minimale inhibitrice

Les valeurs de la CMI ont été déterminées dans une large gamme de concentrations allant de $2,18 \times 10^{-6}$ mg/ml à 37,5 mg/ml pour l'extrait dichlorométhanique et de l'extrait méthanolique d'*A. armata*. La méthode de microdilution en milieu liquide de Sabouraud a été utilisée pour effectuer la CMI contre trois souches de *C. albicans* en l'occurrence, isolat 1, isolat 5 et ATCC 10231. Les résultats obtenus pour l'extrait dichlorométhanique et méthanolique sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous. D'après les résultats obtenus, les deux extraits d'*A. armata* présentent une activité antifongique significative contre les souches testées de *C. albicans*. L'extrait dichlorométhanique inhibe la croissance visible de *C. albicans* ATCC 10231 et de l'isolat 1 à une concentration de 0,58 mg/ml, tandis que pour l'isolat 5, une concentration

plus élevée de 2,34 mg/ml est nécessaire. Le même profil est observé avec l'extrait méthanolique, qui présente également une CMI de 0,58 mg/ml pour *C. albicans* ATCC 10231, mais de 2,34 mg/ml pour les isolats 1 et 5.

Ces données suggèrent une efficacité comparable des deux extraits sur les souches étudiées, bien que l'isolat 5 soit moins sensible, quelle que soit la nature du solvant utilisé. La variation de sensibilité entre les souches pourrait être liée à des différences génétiques ou phénotypiques. Par ailleurs, la présence de composés bioactifs extraits selon la polarité du solvant (le dichlorométhane étant moins polaire que le méthanol) reste un facteur déterminant dans la composition et la puissance de l'extrait (Ganière et al., 2004 ; Paul et al., 2006 ; Saeed et al., 2020 ; Pinteus et al., 2020 ; Messahli et al., 2022 ; Pinteus et al., 2018 ; Horta et al., 2019)

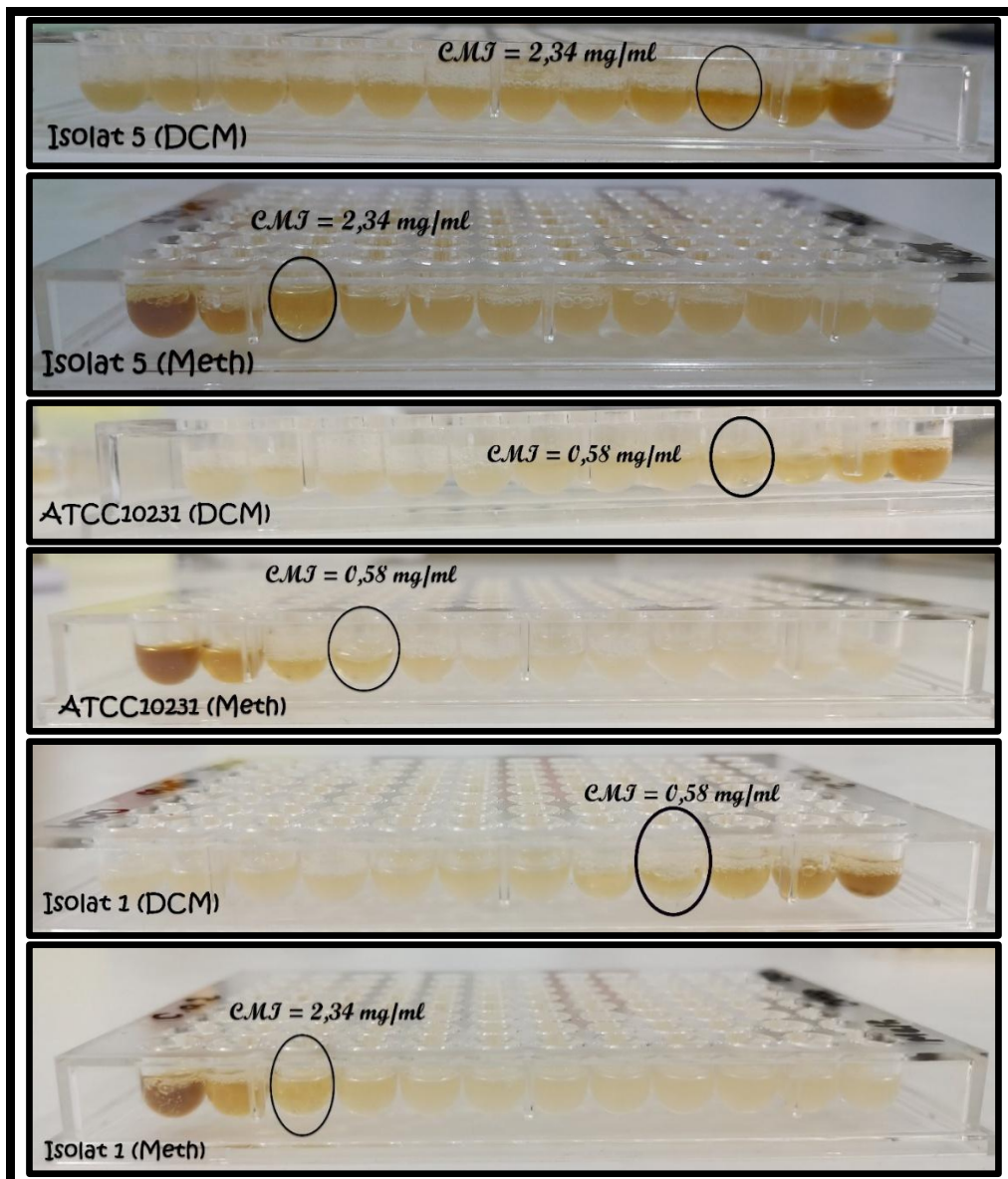


Figure 24: Les CMI des extraits de l'algue sur les trois souches de *Candida*.

Tableau 10: Concentrations minimales inhibitrices des extraits d'*A. Armata* sur les trois souches de *C. albicans*.

| Souches de <i>C. albicans</i> | Concentration minimale inhibitrice "CMI" | |
|-------------------------------|--|--|
| | Extrait dichlorométhanique d' <i>A. armata</i> | Extrait méthanolique d' <i>A. armata</i> |
| <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | 0.58 mg/ml | 0.58 mg/ml |
| Isolat 1 | 0.58 mg/ml | 2.34 mg/ml |
| Isolat 5 | 2.34 mg/ml | 2.34 mg/ml |

III.4. Identification des isolats

III.4.1. Aspect macroscopique des colonies

L'aspect macroscopique des colonies observées sur gélose de Sabouraud est conforme aux caractéristiques de *C. albicans*. L'apparition de colonies blanchâtres, lisses, opaques, à surface bombée et de consistance crémeuse traduit une croissance typique de cette levure. La texture crémeuse et l'aspect brillant des colonies résultent de la production de substances extracellulaires, notamment des polysaccharides de la paroi cellulaire. Ainsi, l'aspect des colonies constitue un indice préliminaire fiable pour orienter l'identification de *C. albicans* avant confirmation microscopique et biochimique (Larone, 2018).

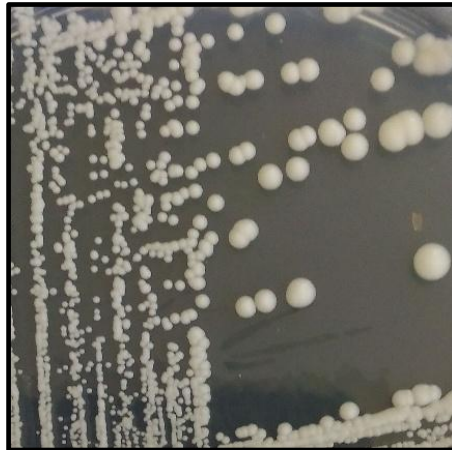


Figure 25: Aspect des colonies obtenues sur milieu Sabouraud.

III.4.2. Examen à l'état frais

L'examen à l'état frais des isolats a révélé la présence de nombreuses cellules rondes à ovales correspondant aux blastospores, ainsi que plusieurs formes en cours de division, appelées blastospores bourgeonnantes. Cette observation est typique des levures appartenant au genre *Candida*, notamment l'espèce *C. albicans*. Le bourgeonnement est une forme de reproduction asexuée caractéristique des levures, où une cellule fille se forme à partir d'une cellule mère.

L'abondance des blastospores et la fréquence du bourgeonnement indiquent une activité métabolique élevée et une croissance active du champignon (KSOURI, 2017).

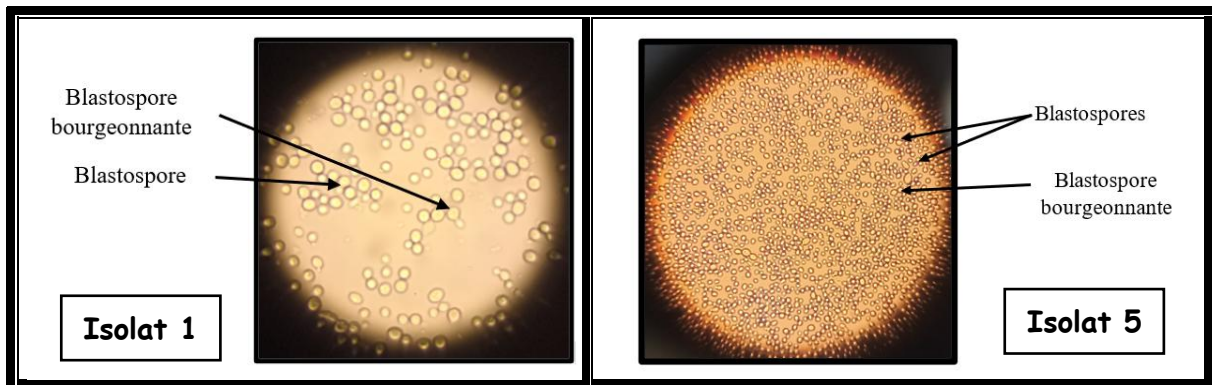


Figure 26: Observation microscopique à l'état frais (grossissement x 400).

III.4.3. Coloration de Gram

L'observation microscopique de l'isolat 1 et l'isolat 5, réalisée après une coloration de Gram et visualisée au grossissement x1000 à l'huile à immersion, révèle la présence de cellules de forme ovoïde à arrondie, colorées en violet. Cette coloration indique que les cellules sont Gram positives (KSOURI, 2017).

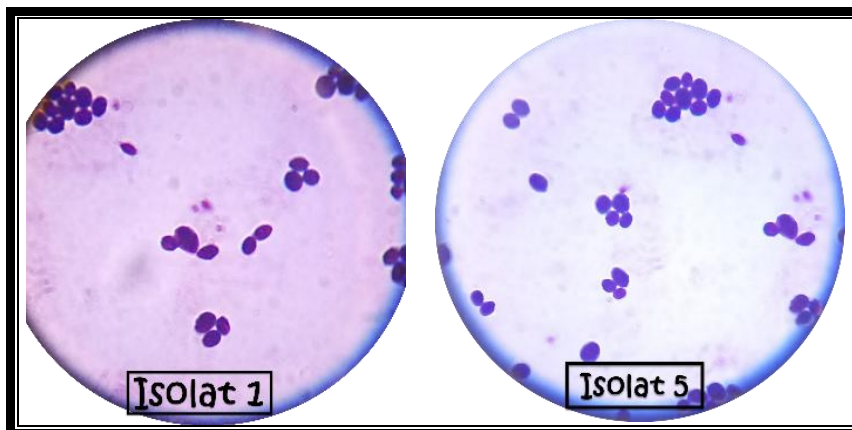


Figure 27: Observation microscopique de la coloration de Gram des isolats (grossissement x1000).

III.4.4. Test de chlamydosporulation

L'observation microscopique révèle la présence de chlamydospores qui sont de grosses cellules sphériques de 8 à 12 μ m, avec une paroi cellulaire épaisse. Elles apparaissent *in vitro* dans des conditions de culture défavorables, et sont observées très rarement *in vivo*. Les chlamydospores se forment par bourgeonnement sur des hyphes ou des pseudohyphes à leurs extrémités. Les chlamydospores sont produites uniquement par *C. albicans* (Kammalac, 2014)

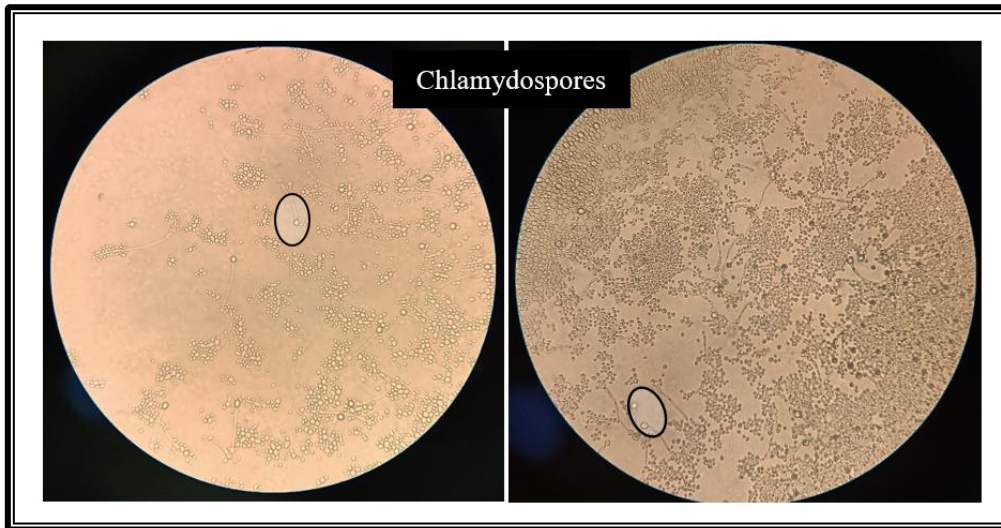


Figure 28: Photo des chlamydozooids de l'isolat 1 (à droite) et de l'isolat 5 (à gauche) (grossissement x 400).

III.4.5. Galerie API Candida

L'identification des deux isolats a été réalisée à l'aide de la galerie API Candida. Les résultats présentés dans le **Tableau 11** montrent que les deux isolats 1 et 5 ont été identifiés comme appartenant à l'espèce *Candida albicans*. Cette identification est confirmée par les profils numériques obtenus (7012 pour l'isolat 1 et 7512 pour l'isolat 5, selon la base de données API (**Tableau 12**)). Les deux isolats ont montré des réactions positives pour plusieurs sucres comme le glucose (GLU), le galactose (GAL) et le saccharose (SAC), ce qui est typique de l'espèce *C. albicans*. De plus, une activité enzymatique positive pour l' α -amylase (α -AMY) et la β -N-acétyl-glucosaminidase (β -NAG), renforce cette identification. On note néanmoins quelques différences entre les deux isolats.

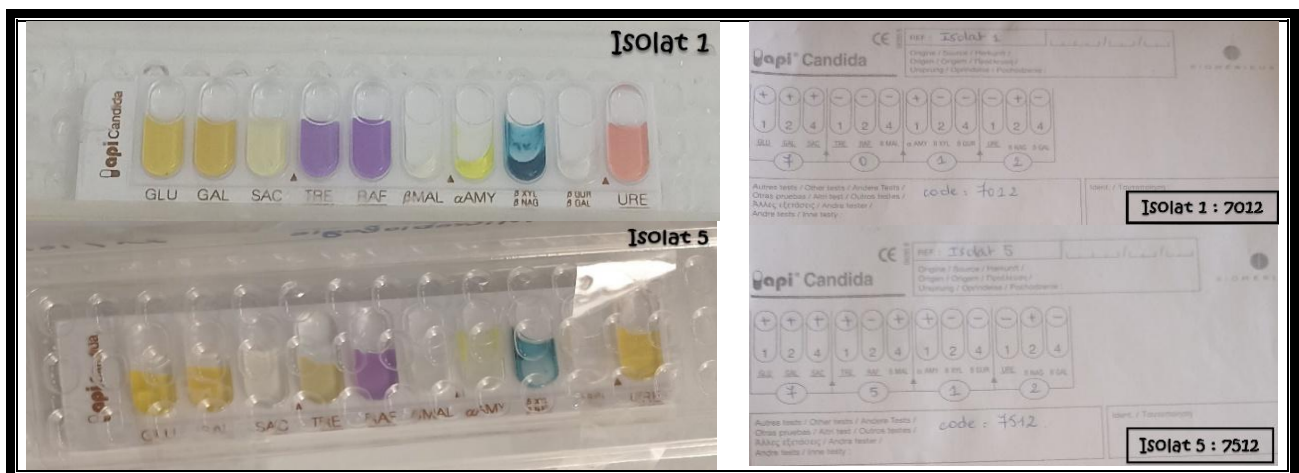


Figure 29: Galeries API Candida après inoculation et incubation à 37°C pendant 24 heures.

En effet, l'isolat 1 est négatif pour le tréhalose (TRE) et la β-maltosidase (β-MAL), alors que l'isolat 5 est positif pour ces deux substrats. Ces variations sont courantes entre différentes souches d'une même espèce. Enfin, aucun des deux isolats ne produit d'uréase (URE) ni de β-galactosidase (B-GAL), ce qui reste conforme au profil typique de *C. albicans*. Ainsi, malgré quelques petites différences, l'ensemble des résultats confirme clairement que les deux isolats appartiennent bien à cette espèce (Larone, 2018).

Tableau 11: Résultats des galeries API Candida des deux isolats.

| Tests | Résultats (lecture de la galerie Api Candida) | |
|--------|---|--------------------|
| | Isolat 1 | Isolat 5 |
| GLU | + | + |
| GAL | + | + |
| SAC | + | + |
| TRE | - | + |
| RAF | - | - |
| β MAL | - | + |
| α AMY | + | + |
| β XYL | - | - |
| β GUR | - | - |
| URE | - | - |
| β NAG | + | + |
| β GAL | - | - |
| Code | 7012 | 7512 |
| Espèce | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> |

Tableau 12: Les profils numériques des isolats de *C. albicans* identifiés à l'aide de la galerie API Candida.

| Isolat 5 | Isolat 1 |
|---|---|
| 0 403 Trichosporon spp 2 | 3 901 Cryptococcus neoformans 2 |
| 0 412 Trichosporon spp 2 | 3 003 C. neoformans 2 / Trichosporon spp 2 |
| 0 413 Trichosporon spp 2 | 3 020 Geotrichum spp |
| 0 417 Trichosporon spp 2 | 3 041 Cryptococcus neoformans 2 |
| 1 000 Candida krusei ** | 3 043 Cryptococcus neoformans 2 |
| 1 010 Candida krusei ** | 3 051 Cryptococcus neoformans 2 |
| 1 100 Candida glabrata | 3 053 Cryptococcus neoformans 2 |
| 1 300 Candida glabrata | 3 100 Candida famata / Candida glabrata / Geotrichum spp |
| 1 402 Trichosporon spp 2 | 3 241 C. neoformans 1 / C. neoformans 2 |
| 1 403 Trichosporon spp 2 | 3 251 Cryptococcus neoformans 1 |
| 1 407 Trichosporon spp 2 | 3 402 Trichosporon spp 2 |
| 1 412 Trichosporon spp 2 | 3 403 Trichosporon spp 2 |
| 1 413 Trichosporon spp 2 | 3 407 Trichosporon spp 2 |
| 1 416 Trichosporon spp 2 | 3 412 Trichosporon spp 2 |
| 1 417 Trichosporon spp 2 | 3 413 Trichosporon spp 2 |
| 1 443 Trichosporon spp 2 | 3 416 Trichosporon spp 2 |
| 1 453 Trichosporon spp 2 | 3 417 Trichosporon spp 2 |
| 2 403 Trichosporon spp 2 | 3 443 Trichosporon spp 2 / C. neoformans 2 |
| 2 412 Trichosporon spp 2 | 3 453 Trichosporon spp 2 |
| 2 417 Trichosporon spp 2 | 3 841 Cryptococcus neoformans 1 |
| 2 418 Trichosporon spp 2 | 3 851 Cryptococcus neoformans 1 |
| 2 419 Trichosporon spp 2 | 3 853 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1 / Trichosporon spp 2 |
| 2 423 Trichosporon spp 2 | 3 855 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1 / Trichosporon spp 2 |
| 2 424 Trichosporon spp 2 | 5 000 Candida famata / Candida parapsilosis |
| 2 425 Trichosporon spp 2 | 5 100 Candida famata |
| 3 000 Geotrichum spp / Candida parapsilosis / Candida krusei ** | 5 004 Candida famata |
| 3 001 Cryptococcus neoformans 2 | 5 200 Saccharomyces cerevisiae |
| 3 003 C. neoformans 2 / Trichosporon spp 2 | 5 241 Cryptococcus neoformans 1 |
| 3 020 Geotrichum spp | 5 243 Cryptococcus neoformans 1 |
| 3 041 Cryptococcus neoformans 2 | 5 251 Cryptococcus neoformans 1 |
| 3 043 Cryptococcus neoformans 2 | 5 253 C. neoformans 1 / Trichosporon spp 1 |
| 3 051 Cryptococcus neoformans 2 | 5 300 Saccharomyces cerevisiae |
| 3 053 Cryptococcus neoformans 2 | 5 310 Saccharomyces cerevisiae |
| 3 100 Candida famata / Candida glabrata / Geotrichum spp | 5 312 Candida albicans |
| 3 241 C. neoformans 1 / C. neoformans 2 | 5 324 Candida kefyr |
| 3 251 Cryptococcus neoformans 1 | 5 341 Cryptococcus neoformans 1 |
| 3 402 Trichosporon spp 2 | 5 351 Cryptococcus neoformans 1 |
| 3 403 Trichosporon spp 2 | 5 413 Trichosporon spp 1 / Trichosporon spp 2 |
| 3 407 Trichosporon spp 2 | 5 417 Trichosporon spp 1 / Trichosporon spp 2 |
| 3 412 Trichosporon spp 2 | 5 420 Candida lusitanae / Candida guilliermondii |
| 3 413 Trichosporon spp 2 | 5 441 C. neoformans 1 / C. neoformans 2 |
| 3 416 Trichosporon spp 2 | 5 453 Trichosporon spp 1 |
| 3 417 Trichosporon spp 2 | 5 457 Trichosporon spp 1 |
| 3 443 Trichosporon spp 2 / C. neoformans 2 | 5 500 Candida lusitanae / Candida tropicalis / Candida famata |
| 3 453 Trichosporon spp 2 | 5 510 Candida guilliermondii ** |
| 3 841 Cryptococcus neoformans 1 | 5 524 Candida guilliermondii ** |
| 3 851 Cryptococcus neoformans 1 | 5 525 C. neoformans 1 / C. neoformans 1 |
| 3 853 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1 / Trichosporon spp 2 | 5 530 Saccharomyces cerevisiae / Candida famata |
| 5 000 Candida famata / Candida parapsilosis | 5 541 Cryptococcus neoformans 1 |
| 5 100 Candida famata | 5 551 Cryptococcus neoformans 1 |
| 5 200 Saccharomyces cerevisiae | 5 553 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1 |
| 5 241 Cryptococcus neoformans 1 | 5 557 Trichosporon spp 1 |
| | 5 563 Trichosporon spp 1 |
| | 5 565 Candida guilliermondii ** |
| | 5 567 Trichosporon spp 1 |
| | 5 603 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1 |
| | 5 605 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1 / Trichosporon spp 2 |
| | 5 613 Trichosporon spp 1 |
| | 5 617 Trichosporon spp 1 |
| | 5 620 Candida guilliermondii ** |
| | 5 641 C. neoformans 1 / C. neoformans 2 |
| | 5 643 C. neoformans 1 / Trichosporon spp 1 |
| | 5 645 C. neoformans 1 / Trichosporon spp 1 |
| | 5 647 Trichosporon spp 1 |
| | 5 653 Trichosporon spp 1 |
| | 5 655 Candida guilliermondii ** |
| | 5 657 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1 |
| | 5 671 Trichosporon spp 1 |
| | 5 673 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1 |
| | 5 675 Trichosporon spp 1 |
| | 5 677 Trichosporon spp 1 / Trichosporon spp 1 |
| | 5 679 Candida guilliermondii ** |
| | 5 713 Trichosporon spp 1 |
| | 5 717 Trichosporon spp 1 |
| | 5 720 Candida guilliermondii ** |
| | 5 741 Cryptococcus neoformans 1 |
| | 5 751 C. neoformans 1 / Trichosporon spp 1 |
| | 5 753 Trichosporon spp 1 |
| | 5 757 Trichosporon spp 1 |
| | 7 041 C. neoformans 2 / C. neoformans 1 |
| | 7 043 Trichosporon spp 1 |
| | 7 045 Trichosporon spp 1 |
| | 7 047 Trichosporon spp 1 |
| | 7 049 Trichosporon spp 1 |
| | 7 051 Trichosporon spp 1 |
| | 7 053 Trichosporon spp 1 |
| | 7 055 Trichosporon spp 1 |
| | 7 057 Trichosporon spp 1 |
| | 7 059 Trichosporon spp 1 |
| | 7 061 Trichosporon spp 1 |
| | 7 063 Trichosporon spp 1 |
| | 7 065 Trichosporon spp 1 |
| | 7 067 Trichosporon spp 1 |
| | 7 069 Trichosporon spp 1 |
| | 7 071 Trichosporon spp 1 |
| | 7 073 Trichosporon spp 1 |
| | 7 075 Trichosporon spp 1 |
| | 7 077 Trichosporon spp 1 |
| | 7 079 Trichosporon spp 1 |
| | 7 081 Trichosporon spp 1 |
| | 7 083 Trichosporon spp 1 |
| | 7 085 Trichosporon spp 1 |
| | 7 087 Trichosporon spp 1 |
| | 7 089 Trichosporon spp 1 |
| | 7 091 Trichosporon spp 1 |
| | 7 093 Trichosporon spp 1 |
| | 7 095 Trichosporon spp 1 |
| | 7 097 Trichosporon spp 1 |
| | 7 099 Trichosporon spp 1 |
| | 7 101 Trichosporon spp 1 |
| | 7 103 Trichosporon spp 1 |
| | 7 105 Trichosporon spp 1 |
| | 7 107 Trichosporon spp 1 |
| | 7 109 Trichosporon spp 1 |
| | 7 111 Trichosporon spp 1 |
| | 7 113 Trichosporon spp 1 |
| | 7 115 Trichosporon spp 1 |
| | 7 117 Trichosporon spp 1 |
| | 7 119 Trichosporon spp 1 |
| | 7 121 Trichosporon spp 1 |
| | 7 123 Trichosporon spp 1 |
| | 7 125 Trichosporon spp 1 |
| | 7 127 Trichosporon spp 1 |
| | 7 129 Trichosporon spp 1 |
| | 7 131 Trichosporon spp 1 |
| | 7 133 Trichosporon spp 1 |
| | 7 135 Trichosporon spp 1 |
| | 7 137 Trichosporon spp 1 |
| | 7 139 Trichosporon spp 1 |
| | 7 141 Trichosporon spp 1 |
| | 7 143 Trichosporon spp 1 |
| | 7 145 Trichosporon spp 1 |
| | 7 147 Trichosporon spp 1 |
| | 7 149 Trichosporon spp 1 |
| | 7 151 Trichosporon spp 1 |
| | 7 153 Trichosporon spp 1 |
| | 7 155 Trichosporon spp 1 |
| | 7 157 Trichosporon spp 1 |
| | 7 159 Trichosporon spp 1 |
| | 7 161 Trichosporon spp 1 |
| | 7 163 Trichosporon spp 1 |
| | 7 165 Trichosporon spp 1 |
| | 7 167 Trichosporon spp 1 |
| | 7 169 Trichosporon spp 1 |
| | 7 171 Trichosporon spp 1 |
| | 7 173 Trichosporon spp 1 |
| | 7 175 Trichosporon spp 1 |
| | 7 177 Trichosporon spp 1 |
| | 7 179 Trichosporon spp 1 |
| | 7 181 Trichosporon spp 1 |
| | 7 183 Trichosporon spp 1 |
| | 7 185 Trichosporon spp 1 |
| | 7 187 Trichosporon spp 1 |
| | 7 189 Trichosporon spp 1 |
| | 7 191 Trichosporon spp 1 |
| | 7 193 Trichosporon spp 1 |
| | 7 195 Trichosporon spp 1 |
| | 7 197 Trichosporon spp 1 |
| | 7 199 Trichosporon spp 1 |
| | 7 201 Trichosporon spp 1 |
| | 7 203 Trichosporon spp 1 |
| | 7 205 Trichosporon spp 1 |
| | 7 207 Trichosporon spp 1 |
| | 7 209 Trichosporon spp 1 |
| | 7 211 Trichosporon spp 1 |
| | 7 213 Trichosporon spp 1 |
| | 7 215 Trichosporon spp 1 |
| | 7 217 Trichosporon spp 1 |
| | 7 219 Trichosporon spp 1 |
| | 7 221 Trichosporon spp 1 |
| | 7 223 Trichosporon spp 1 |
| | 7 225 Trichosporon spp 1 |
| | 7 227 Trichosporon spp 1 |
| | 7 229 Trichosporon spp 1 |
| | 7 231 Trichosporon spp 1 |
| | 7 233 Trichosporon spp 1 |
| | 7 235 Trichosporon spp 1 |
| | 7 237 Trichosporon spp 1 |
| | 7 239 Trichosporon spp 1 |
| | 7 241 Trichosporon spp 1 |
| | 7 243 Trichosporon spp 1 |
| | 7 245 Trichosporon spp 1 |
| | 7 247 Trichosporon spp 1 |
| | 7 249 Trichosporon spp 1 |
| | 7 251 Trichosporon spp 1 |
| | 7 253 Trichosporon spp 1 |
| | 7 255 Trichosporon spp 1 |
| | 7 257 Trichosporon spp 1 |
| | 7 259 Trichosporon spp 1 |
| | 7 261 Trichosporon spp 1 |
| | 7 263 Trichosporon spp 1 |
| | 7 265 Trichosporon spp 1 |
| | 7 267 Trichosporon spp 1 |
| | 7 269 Trichosporon spp 1 |
| | 7 271 Trichosporon spp 1 |
| | 7 273 Trichosporon spp 1 |
| | 7 275 Trichosporon spp 1 |
| | 7 277 Trichosporon spp 1 |
| | 7 279 Trichosporon spp 1 |
| | 7 281 Trichosporon spp 1 |
| | 7 283 Trichosporon spp 1 |
| | 7 285 Trichosporon spp 1 |
| | 7 287 Trichosporon spp 1 |
| | 7 289 Trichosporon spp 1 |
| | 7 291 Trichosporon spp 1 |
| | 7 293 Trichosporon spp 1 |
| | 7 295 Trichosporon spp 1 |
| | 7 297 Trichosporon spp 1 |
| | 7 299 Trichosporon spp 1 |
| | 7 301 Trichosporon spp 1 |
| | 7 303 Trichosporon spp 1 |
| | 7 305 Trichosporon spp 1 |
| | 7 307 Trichosporon spp 1 |
| | 7 309 Trichosporon spp 1 |
| | 7 311 Trichosporon spp 1 |
| | 7 313 Trichosporon spp 1 |
| | 7 315 Trichosporon spp 1 |
| | 7 317 Trichosporon spp 1 |
| | 7 319 Trichosporon spp 1 |
| | 7 321 Trichosporon spp 1 |
| | 7 323 Trichosporon spp 1 |
| | 7 325 Trichosporon spp 1 |
| | 7 327 Trichosporon spp 1 |
| | 7 329 Trichosporon spp 1 |
| | 7 331 Trichosporon spp 1 |
| | 7 333 Trichosporon spp 1 |
| | 7 335 Trichosporon spp 1 |
| | 7 337 Trichosporon spp 1 |
| | 7 339 Trichosporon spp 1 |
| | 7 341 Trichosporon spp 1 |
| | 7 343 Trichosporon spp 1 |
| | 7 345 Trichosporon spp 1 |
| | 7 347 Trichosporon spp 1 |
| | 7 349 Trichosporon spp 1 |
| | 7 351 Trichosporon spp 1 |
| | 7 353 Trichosporon spp 1 |
| | 7 355 Trichosporon spp 1 |
| | 7 357 Trichosporon spp 1 |
| | 7 359 Trichosporon spp 1 |
| | 7 361 Trichosporon spp 1 |
| | 7 363 Trichosporon spp 1 |
| | 7 365 Trichosporon spp 1 |
| | 7 367 Trichosporon spp 1 |
| | 7 369 Trichosporon spp 1 |
| | 7 371 Trichosporon spp 1 |
| | 7 373 Trichosporon spp 1 |
| | 7 375 Trichosporon spp 1 |
| | 7 377 Trichosporon spp 1 |
| | 7 379 Trichosporon spp 1 |
| | 7 381 Trichosporon spp 1 |
| | 7 383 Trichosporon spp 1 |
| | 7 385 Trichosporon spp 1 |
| | 7 387 Trichosporon spp 1 |
| | 7 389 Trichosporon spp 1 |
| | 7 391 Trichosporon spp 1 |
| | 7 393 Trichosporon spp 1 |
| | 7 395 Trichosporon spp 1 |
| | 7 397 Trichosporon spp 1 |
| | 7 399 Trichosporon spp 1 |
| | 7 401 Trichosporon spp 1 |
| | 7 403 Trichosporon spp 1 |
| | 7 405 Trichosporon spp 1 |
| | 7 407 Trichosporon spp 1 |
| | 7 409 Trichosporon spp 1 |
| | 7 411 Trichosporon spp 1 |
| | 7 413 Trichosporon spp 1 |
| | 7 415 Trichosporon spp 1 |
| | 7 417 Trichosporon spp 1 |
| | 7 419 Trichosporon spp 1 |
| | 7 421 Trichosporon spp 1 |
| | 7 423 Trichosporon spp 1 |
| | 7 425 Trichosporon spp 1 |
| | 7 427 Trichosporon spp 1 |
| | 7 429 Trichosporon spp 1 |
| | 7 431 Trichosporon spp 1 |
| | 7 433 Trichosporon spp 1 |
| | 7 435 Trichosporon spp 1 |
| | 7 437 Trichosporon spp 1 |
| | 7 439 Trichosporon spp 1 |
| | 7 441 Trichosporon spp 1 |
| | 7 443 Trichosporon spp 1 |
| | 7 445 Trichosporon spp 1 |
| | 7 447 Trichosporon spp 1 |
| | 7 449 Trichosporon spp 1 |
| | 7 451 Trichosporon spp 1 |
| | 7 453 Trichosporon spp 1 |
| | 7 455 Trichosporon spp 1 |
| | 7 457 Trichosporon spp 1 |
| | 7 459 Trichosporon spp 1 |
| | 7 461 Trichosporon spp 1 |
| | 7 463 Trichosporon spp 1 |
| | 7 465 Trichosporon spp 1 |
| | 7 467 Trichosporon spp 1 |
| | 7 469 Trichosporon spp 1 |
| | 7 471 Trichosporon spp 1 |
| | 7 473 Trichosporon spp 1 |
| | 7 475 Trichosporon spp 1 |
| | 7 477 Trichosporon spp 1 |
| | 7 479 Trichosporon spp 1 |
| | 7 481 Trichosporon spp 1 |
| | 7 483 Trichosporon spp 1 |
| | 7 485 Trichosporon spp 1 |
| | 7 487 Trichosporon spp 1 |
| | 7 489 Trichosporon spp 1 |
| | 7 491 Trichosporon spp 1 |
| | 7 493 Trichosporon spp 1 |
| | 7 495 Trichosporon spp 1 |
| | 7 497 Trichosporon spp 1 |
| | 7 499 Trichosporon spp 1 |
| | 7 501 Trichosporon spp 1 |
| | 7 503 Trichosporon spp 1 |
| | 7 505 Trichosporon spp 1 |
| | 7 507 Trichosporon spp 1 |
| | 7 509 Trichosporon spp 1 |
| | 7 511 Trichosporon spp 1 |
| | 7 513 Trichosporon spp 1 |
| | 7 515 Trichosporon spp 1 |
| | 7 517 Trichosporon spp 1 |
| | 7 519 Trichosporon spp 1 |
| | 7 521 Trichosporon spp 1 |
| | 7 523 Trichosporon spp 1 |
| | 7 525 Trichosporon spp 1 |
| | 7 527 Trichosporon spp 1 |
| | 7 529 Trichosporon spp 1 |
| | 7 531 Trichosporon spp 1 |
| | 7 533 Trichosporon spp 1 |
| | 7 535 Trichosporon spp 1 |
| | 7 537 Trichosporon spp 1 |
| | 7 539 Trichosporon spp 1 |
| | 7 541 Trichosporon spp 1 |
| | 7 543 Trichosporon spp 1 |
| | 7 545 Trichosporon spp 1 |
| | 7 547 Trichosporon spp 1 |
| | 7 549 Trichosporon spp 1 |
| | 7 551 Trichosporon spp 1 |
| | 7 553 Trichosporon spp 1 |
| | 7 555 Trichosporon spp 1 |
| | 7 557 Trichosporon spp |

III.5. Résultats de la formation du biofilm de *C. albicans*

Cette étude examine les facteurs influençant la formation du biofilm chez *C. albicans*, en utilisant la coloration au cristal violet pour quantifier la biomasse (rapport DO/DO_t). Trois paramètres ont été analysés : la concentration en glucose, la densité cellulaire initiale et l'oxygénation. Les tests ont été réalisés sur deux isolats cliniques (Isolat 1 et Isolat 5) et une souche de référence (ATCC 10231). La comparaison entre conditions normoxiques et hypoxiques révèle des réponses métaboliques spécifiques, mettant en évidence des mécanismes différenciés de régulation du biofilm selon les souches.

III.5.1. Effet du glucose

Le glucose joue un rôle clé dans la formation du biofilm chez *C. albicans*, avec des effets variant selon les souches. En normoxie et en absence de glucose, la formation de biofilm est fortement inhibée. Une réponse dose-dépendante est observée entre 5 et 20 g/L, avec un optimum à 5 g/L pour l'isolat 5 et ATCC10231, et à 20 g/L pour l'isolat 1. Ce dernier se distingue par une forte capacité de formation de biofilm en hypoxie, même à différentes concentrations. À 50 g/L, le glucose devient inhibiteur pour toutes les souches.

Le glucose est la principale source d'énergie pour *Candida albicans*, favorisant une respiration aérobie efficace en conditions normales (normoxie) grâce à une phosphorylation oxydative performante pour la production d'ATP. Cette caractéristique explique l'effet dose-dépendant observé avec le glucose.

Cependant, la formation de biofilm par *C. albicans* peut persister même en l'absence de glucose, surtout en conditions d'hypoxie. Cette persistance est due aux remarquables adaptations métaboliques et physiologiques de *C. albicans* aux environnements stressants et pauvres en nutriments. En tant que pathogène opportuniste, sa capacité à provoquer des infections chroniques est étroitement liée à sa plasticité métabolique, lui permettant d'assimiler divers nutriments même dans des milieux hostiles et compétitifs.

La peptone, présente dans des milieux comme le milieu Sabouraud, constitue une source riche en peptides et acides aminés. Ces derniers peuvent être convertis en intermédiaires métaboliques clés, et leurs squelettes carbonés peuvent être utilisés pour la production d'énergie via le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA). Par exemple, le catabolisme de la proline génère

du FADH₂ et du NADH, qui alimentent la chaîne de transport d'électrons pour la synthèse d'ATP.

III.5.2. Effet de l'Oxygène

Notre étude révèle que l'hypoxie favorise fortement la formation de biofilms chez *Candida albicans*, ce qui concorde avec la littérature (**Douglas, 2003**) Cette tendance s'explique par la présence d'environnements à faible teneur en oxygène dans l'organisme hôte, comme les tissus profonds ou les sites d'infection. Pour survivre à ces conditions difficiles, *C. albicans* a développé des stratégies d'adaptation sophistiquées, la formation de biofilms étant l'une des plus efficaces pour sa persistance (**Chandra et al., 2001**).

Sous hypoxie, *C. albicans* subit une transition morphologique clé, passant de la forme levure à la forme hyphale. Ce changement est crucial pour son pouvoir invasif et sa virulence. Ce processus est essentiel à l'initiation et à la structuration des biofilms et est déclenché par une réorganisation métabolique (surexpression des gènes de synthèse d'ergostérol et de glycolyse, sous-expression de ceux de la phosphorylation oxydative) (**Synnott et al., 2010 ; Irimés, 2011 ; Kadosh, 2016**)

Cette adaptation physiologique s'accompagne de l'activation de voies de signalisation spécifiques et de gènes fondamentaux qui facilitent la transition levure-hyphe, une étape pivot de la formation du biofilm. Ainsi, un programme génétique complet est activé sous hypoxie, coordonnant l'adaptation à l'environnement pauvre en oxygène et la promotion de la formation de biofilms où l'hypoxie stimule également les gènes des adhésines et des enzymes impliquées dans la synthèse de la matrice extracellulaire, renforçant la structure et la résistance du biofilm (**Kadosh, 2016**).

III.5.3. Effet la densité cellulaire initiale

Nos résultats démontrent que la densité cellulaire initiale est un facteur déterminant pour la formation des biofilms de *Candida albicans* (**Hornby et al., 2001**), particulièrement en conditions d'hypoxie. Sous hypoxie, une densité initiale de 0.2 s'est avérée optimale pour toutes les souches étudiées, en présence de concentrations modérées de glucose. En revanche, en normoxie, l'isolat 5 et la souche de référence ATCC 10231 ont montré une formation maximale de biofilm à une densité initiale de 0.1.

La densité cellulaire initiale représente un signal régulateur critique qui coordonne le comportement de la population microbienne. Cette coordination est rendue possible grâce au système de *quorum sensing* (QS).

Candida albicans sécrète continuellement le tyrosol et le farnésol qui sont des molécules de signalisation (**Kovács & Majoros, 2020**). Quand la densité cellulaire est faible ($DO < 0.2$), ces molécules se diluent dans le milieu, ce qui les empêche d'atteindre la concentration requise pour déclencher une réponse favorable. La capacité de formation du biofilm est ainsi faible.

Lorsque la population initiale atteint une densité suffisante, un "quorum", la concentration des molécules de signalisation devient suffisante pour déclencher une cascade de régulation génétique à l'échelle de toute la population (**Kovács & Majoros, 2020**). Les gènes activés contrôlent des comportements collectifs essentiels à la formation du biofilm, notamment la production de la matrice extracellulaire et l'adhésion (**Stichternoth & Ernst, 2009**).

Une densité cellulaire initiale excessivement élevée peut freiner la formation du biofilm. Quand les molécules de *quorum sensing* atteignent des concentrations très élevées, le farnésol et le tyrosol peuvent exercer des effets inhibiteurs (**Padder et al., 2018**). Bien que le tyrosol stimule la transition de la forme levure à la forme hyphale, le farnésol induit le changement inverse (**Padder et al., 2018**) Il est important de noter que ces deux molécules sont indispensables à l'initiation et à la régulation du biofilm chez *C. albicans* (**Batliner et al., 2024**).

Des concentrations excessives des molécules de signalisation inhibent la transition morphologique de la forme levure à la forme hyphale (**Padder et al., 2018**) Ceci entrave la formation du biofilm, car cette transition est absolument vitale pour construire un biofilm robuste et bien structuré. Ainsi, un inoculum trop dense ($DO > 0.2$) peut paradoxalement mener à un biofilm plus fragile et désorganisé. Nos observations corroborent cette idée, des densités cellulaires initiales trop élevées ($DO \geq 0.3$) freinent la formation d'un biofilm mature.

La variabilité que nous avons constatée entre les souches est très probablement liée à des différences dans leur capacité à synthétiser et à libérer le farnésol. Rappelons que le farnésol est un sous-produit de la voie de synthèse des stérols, formé par la déphosphorylation du pyrophosphate de farnésyl (**Padder et al., 2018**).

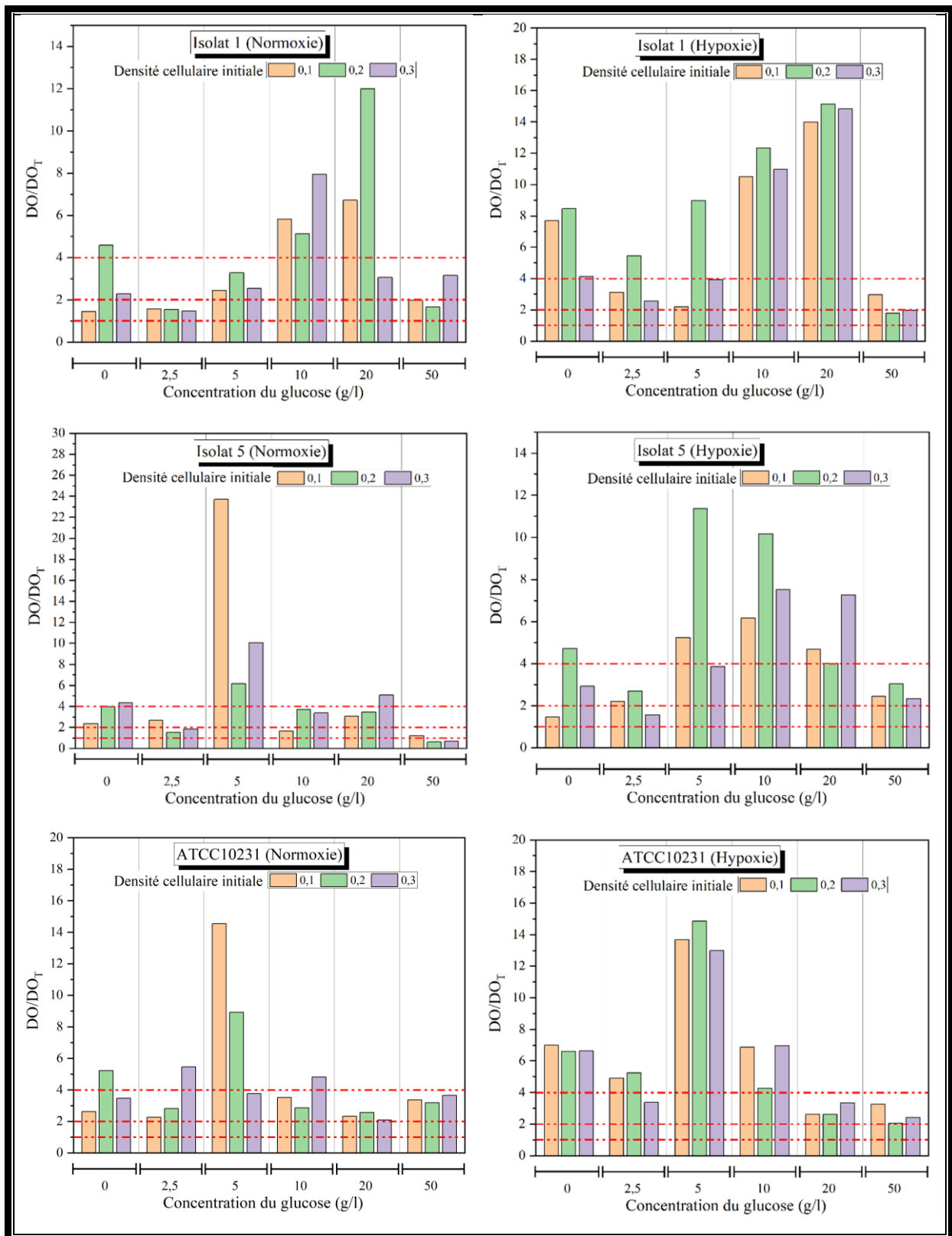


Figure 30: Evolution de la formation du biofilm de *C. albicans* en fonction du dosage du glucose et de la densité cellulaire initiale en normoxie et en hypoxie.

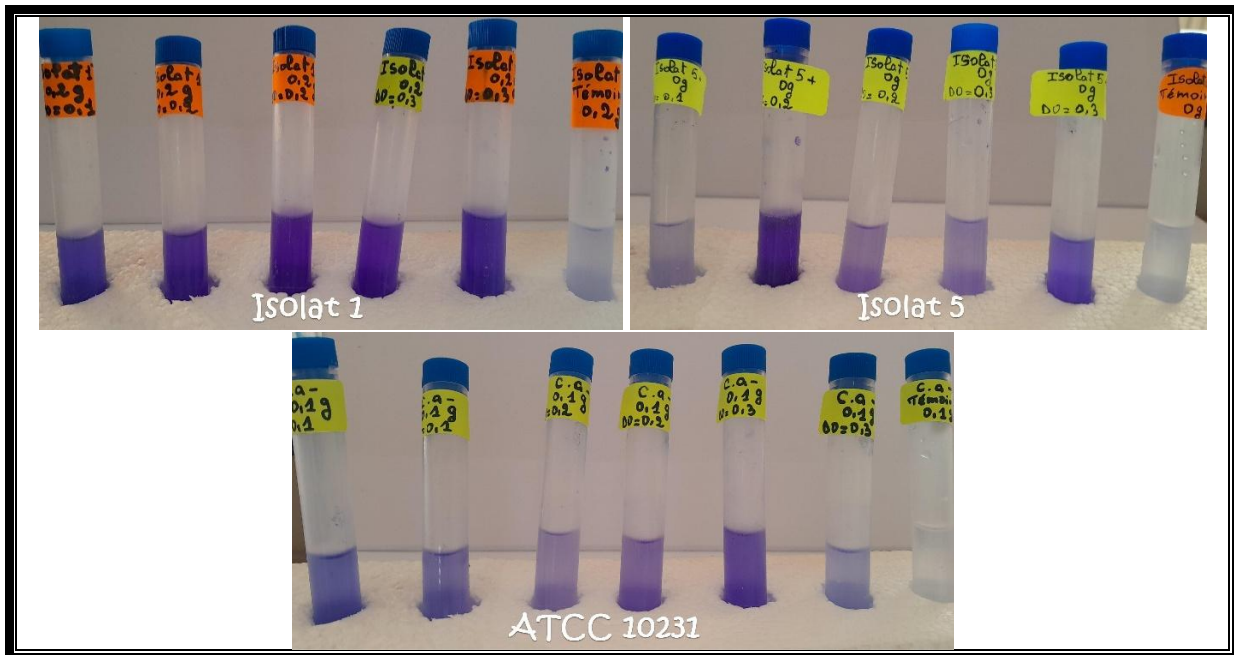


Figure 31: Coloration et solubilisation de la biomasse du biofilm formé.

III.6. Résultats de l'activité anti-biofilm

L'algue rouge *A. armata* est largement reconnue pour sa riche composition en molécules bioactives qui lui confèrent un potentiel antimicrobien prometteur. Cependant, son efficacité spécifique contre la formation et la persistance des biofilms de *C. albicans*, reste encore largement inexplorée. Cette étude vise à combler ce gap en caractérisant le potentiel anti-biofilm de ses extraits dichlorométhanique (DCM) et méthanolique. Les résultats que nous présentons ici ouvrent une voie prometteuse pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques ou complémentaires aux traitements antifongiques existants, offrant ainsi des stratégies innovantes pour combattre les candidoses et réduire la charge des biofilms en milieu clinique.

Sur la **Figure 32**, nous observons une corrélation positive significative entre la concentration des extraits d'*A. armata* et le pourcentage d'inhibition des biofilms, et ce, indépendamment de la souche de *C. albicans* étudiée. Aux faibles concentrations (CMI/4), l'activité anti-biofilm est limitée, avec des inhibitions inférieures à 25%. À des concentrations intermédiaires (autour de la CMI), les biofilms de *C. albicans* montrent une sensibilité modérée (25% à 50% d'inhibition). Cependant, à des concentrations plus élevées (CMIx2 et au-delà), l'activité anti-biofilm devient forte, avec un pouvoir inhibiteur nettement supérieur, particulièrement pour l'extrait méthanolique où il peut atteindre 75% pour une concentration d'environ CMIx4.

Nous avons également identifié des tendances communes à toutes les souches étudiées. À de faibles concentrations, l'extrait DCM a montré un effet inhibiteur supérieur à celui de l'extrait méthanolique. Inversement, aux concentrations les plus élevées, l'extrait méthanolique est devenu plus efficace. Il est important de noter que le biofilm de l'isolat 1 a démontré une grande résistance aux deux extraits sur l'ensemble des concentrations testées.

Bien qu'il y ait peu d'études spécifiques sur les propriétés anti-biofilm des extraits d'*A. armata*, plusieurs travaux suggèrent que les algues rouges en général et les espèces d'*Asparagopsis* produisent des composés anti-biofilm. Par exemple, Jha et al. (Jha et al., 2013) ont observé que les extraits d'*Asparagopsis taxiformis* inhibaient le quorum sensing de bactéries productrices de biofilm, un mécanisme essentiel à leur développement. Ceci est dû à la capacité de ces algues à produire des composés halogénés interférant avec les communautés microbiennes. Dans le cas spécifique d'*A. armata*, ceci est également fortement possible, car cette espèce est connue pour produire plus de 100 composés, incluant des composés halogénés (bromoforme, bromes, méthanes, éthanes, etc.) ainsi que plusieurs acides acétiques et acryliques halogénés et d'autres composés lipophiles tels que certains terpènes et stéroïdes. Ces substances pourraient être directement impliquées dans les activités anti-biofilm observées. Les tendances observées dans cette étude sont donc cohérentes avec plusieurs observations de la littérature scientifique.

Les variations de pouvoir inhibiteur entre les extraits DCM et méthanolique s'expliquent par leur polarité différente. Le dichlorométhane (DCM), étant un solvant faiblement polaire, extrait de préférence les composés lipophiles comme certains terpènes, stéroïdes et halogènes liposolubles. La meilleure activité de l'extrait DCM à faibles concentrations pourrait donc s'expliquer par la présence de ces composés très puissants, même à des doses minimales. À l'inverse, le méthanol est un solvant polaire, ce qui le rend plus efficace pour extraire un éventail plus large de composés, d'où son rendement d'extraction plus élevé. L'activité accrue de l'extrait méthanolique à des concentrations plus élevées suggère que ses composés bioactifs, même si individuellement moins puissants que ceux du DCM, agissent de manière cumulative ou synergique pour inhiber le biofilm. Il est aussi possible que leur concentration optimale pour un effet significatif soit plus élevée.

L'efficacité variable des extraits et la corrélation positive entre leur concentration et l'inhibition des biofilms sont des phénomènes connus. Une concentration plus élevée d'extrait

signifie simplement qu'une plus grande quantité de composés bioactifs est disponible pour interagir avec les cellules de *C. albicans* et leur matrice de biofilm.

Par ailleurs, la résistance différentielle des souches de *C. albicans* est un fait bien établi. Elle s'explique par leur grande diversité génétique et leur capacité à s'adapter sous des pressions sélectives, comme l'exposition à des antifongiques.

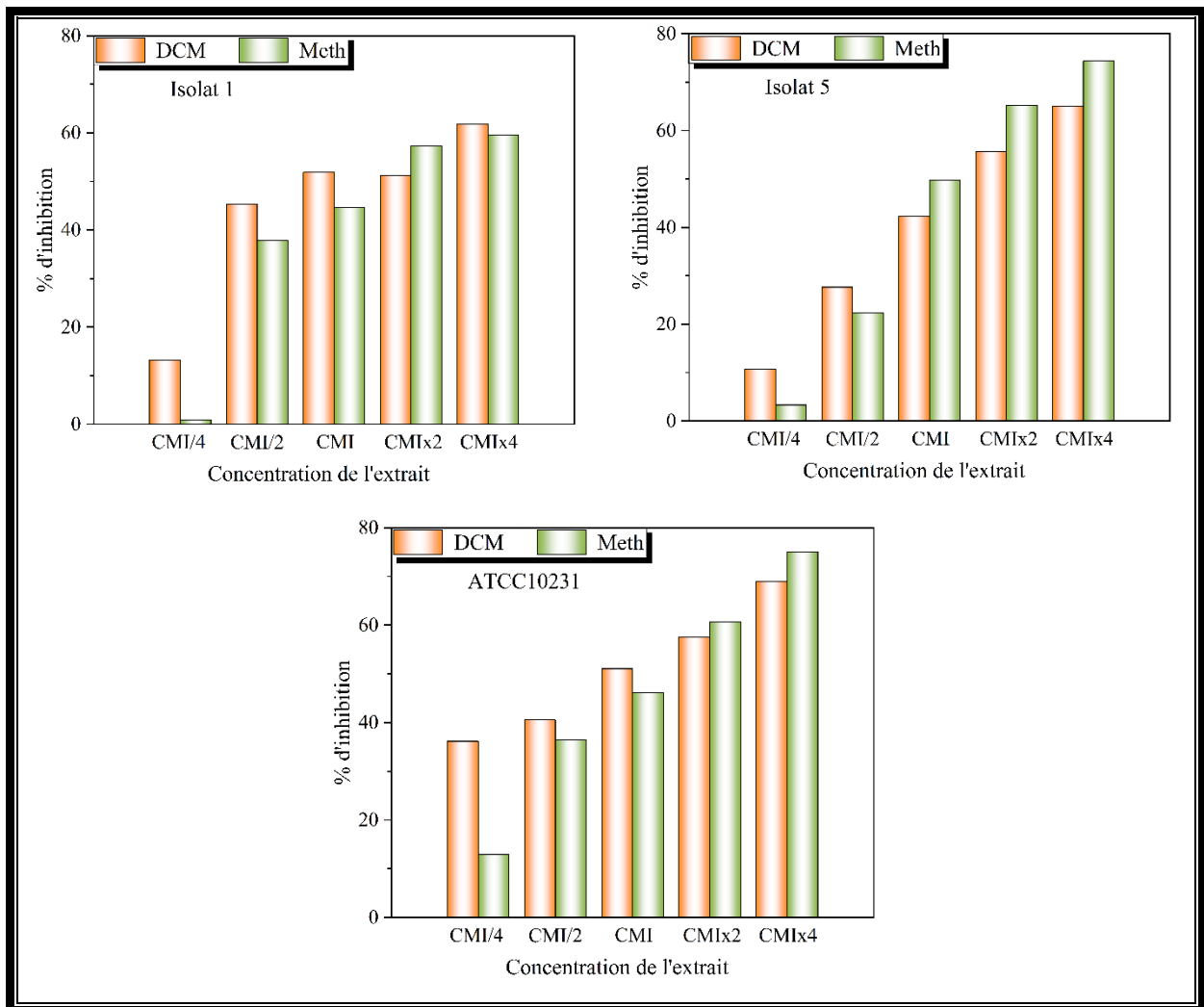


Figure 32: Le pourcentage d'inhibition du biofilm de *C. albicans* en fonction de différentes concentrations des extraits d'*A. armata*

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Dans le cadre de notre étude, nous avons évalué l'activité anticandidosique et antibiofilm des extraits de l'algue rouge *A. armata* récoltée sur la côte d'EL Marsa de la wilaya d'Alger en utilisant deux solvants d'extraction, le dichlorométhane et le méthanol. Ces extraits ont été testés sur trois souches de *C. albicans*, incluant deux isolats cliniques (isolat 1 et isolat 5) ainsi qu'une souche de référence (ATCC 10231), par la méthode de microdilution en milieu liquide de Sabouraud.

Les résultats obtenus révèlent une activité anticandidosique significative des deux extraits, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) variant selon les souches testées. L'extrait dichlorométhanique a notamment inhibé la croissance de la souche ATCC 10231 et de l'isolat 1 à 0,58 mg/ml, tandis que l'isolat 5 nécessitait une concentration plus élevée (2,34 mg/ml). L'extrait méthanolique a montré une efficacité comparable. Ces différences de sensibilité pourraient s'expliquer par la variabilité des métabolites bioactifs extraits, influencée par la polarité des solvants utilisés.

Par ailleurs, l'étude de l'activité antibiofilm a mis en évidence une inhibition dose-dépendante de la formation des biofilms de *C. albicans*. L'extrait méthanolique, en particulier, s'est distingué par une efficacité remarquable, atteignant jusqu'à 75 % d'inhibition à des concentrations quatre fois supérieures à la CMI.

En conclusion, nos résultats soulignent le potentiel thérapeutique prometteur de l'algue *A. armata*, tant pour inhiber la croissance de *C. albicans* que pour perturber la formation de ses biofilms, deux aspects critiques dans le traitement des candidoses invasives.

Nous envisageons d'approfondir l'analyse chimique des extraits pour identifier précisément les composés bioactifs responsables de cette activité. De plus, des tests *in vivo*, ainsi qu'une évaluation de la cytotoxicité sur des cellules humaines, sont nécessaires pour confirmer la sécurité et l'efficacité de ces extraits en conditions cliniques. Enfin, la mise au point de formulations pharmaceutiques à base d'extraits d'*A. armata* pourrait constituer une alternative naturelle et innovante aux antifongiques classiques, notamment face à l'émergence croissante des résistances.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Ainane, T. (2011). Valorisation de la biomasse algale du Maroc: Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata* Faculté des Sciences Ben M'sik Université Hassan II Casablanca.
- Alloua Chourouk, N. L. F. R. (2023). Les infections pédiatriques les plus courantes: Candidose Buccale.
- Andreakis, N., Procaccini, G., & Kooistra, W. H. (2004). *Asparagopsis taxiformis* and *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales, Rhodophyta): genetic and morphological identification of Mediterranean populations. *European journal of phycology*, 39(3), 273-283.
- Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S., & Lindequist, U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 252(1), 79-84.
- Bedraoui, M., & Allane, R. (2017). Étude de l'effet antifongique de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine *Asparagopsis armata* sur *Candida albicans* [Mémoire de Master, Université Amar Telidji ; Laghouat].
- Bennett, R., & Johnson, A. (2005). Mating in *Candida albicans* and the search for a sexual cycle. *Annu. Rev. Microbiol.*, 59(1), 233-255.
- Berman, J. (2012). *Candida albicans*. *Curr Biol*, 22(16), R620-622. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.05.043>
- Berman, J., & Sudbery, P. E. (2002). *Candida albicans*: a molecular revolution built on lessons from budding yeast. *Nature Reviews Genetics*, 3(12), 918-931.
- Bernot, J., Daly, M., De Grave, S., Hughes, L., Neubauer, T. A., Ahyong, S., Bailly, N., Bieler, R., Boyko, C. B., Brandão, S. N., Gofas, S., Hernandez, F., Paulay, G., Bouirig, K., Decock, W., Dekeyser, S., Vandepitte, L., Vanhoorne, B., Adlard, R.,... Zullini, A. (2022). World Register of Marine Species (WoRMS) <https://doi.org/https://doi.org/10.14284/170>
- Caraës, N. (2016). Épidémiologie des candidoses profondes au Centre Hospitalier Universitaire de Rouen.
- Chavanet, P. (1997). Amphotéricine B déoxycholate (Fungizone®): vieux médicament, nouvelles versions. *La Revue de médecine interne*, 18(2), 153-165.
- Chouache, D., & Haba Aina, M. (2023). Etude de l'activité antimicrobienne des extraits d'une algue marine.
- Chow, E. W. L., Pang, L. M., & Wang, Y. (2021). From Jekyll to Hyde: the yeast-hyphal transition of *Candida albicans*. *Pathogens*, 10(7), 859.

- Cordeiro, R. A., Gomes, V. M., Carvalho, A. F. U., & Melo, V. M. M. (2006). Effect of proteins from the red seaweed *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux on the growth of human pathogen yeasts. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49, 915-921.
- Daude, L. (2021). L'utilisation des algues en pharmacie et parapharmacie.
- Defosse, T., Le Govic, Y., Courdavault, V., Clastre, M., Vandeputte, P., Chabasse, D., Bouchara, J., Giglioli-Guivarc'h, N., & Papon, N. (2018). Yeasts from the CTG clade (*Candida* clade): biology, impact in human health, and biotechnological applications. *Journal de Mycologie Medicale*, 28(2), 257-268.
- Douglas, L. J. (2003). *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in microbiology*, 11(1), 30-36.
- Farid, Y., Etahiri, S., & Assobhei, O. (2009). Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc): Criblage et optimisation de la période de la récolte. *Appl. Biosci*, 24, 1543-1552.
- Foulkes, D. M. (1973). Some toxicological observations on chlorhexidine. *J Periodontal Res Suppl*, 12, 55-60. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1973.tb02165.x>
- Garon-Lardière, S. (2004). Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales) Université de Bretagne Occidentale.
- GHALIAOUI, N. (2021). Seaweed natural pigments: Extraction, chemical characterization and study of biological properties
- Gogol, M., Bartnicka, D., Satala, D., Smolarz, M., Karkowska-Kuleta, J., & Kozik, A. (2019). Anaerobic Bacteria during Formation of Mixed Biofilms in the Oral Cavity. *Candida Albicans*, 119.
- Gomes, B. P., Vianna, M. E., Zaia, A. A., Almeida, J. F. A., Souza-Filho, F. J., & Ferraz, C. C. (2013). Chlorhexidine in endodontics. *Brazilian dental journal*, 24(2), 89-102.
- Grimes, S., Benabdi, M., Babali, N., Refes, W., Boudjellal-Kaidi, N., & Seridi, H. (2018). Biodiversity changes along the Algerian coast (Southwest Mediterranean basin): from 1834 to 2017: A first assessment of introduced species. *Mediterranean Marine Science*, 19(1), 156-179.
- Guedes, E. A. C., dos Santos Araújo, M. A., Souza, A. K. P., de Souza, L. I. O., de Barros, L. D., de Albuquerque Maranhao, F. C., & Sant'Ana, A. E. G. (2012). Antifungal activities of different extracts of marine macroalgae against dermatophytes and *Candida* species. *Mycopathologia*, 174, 223-232.
- Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and infection*, 18(5), 310-321.
- Hamouche, R., & Saib, S. (2024). Activité anti-biofilm de l'huile essentielle commercialisée de *Salvia sclarea* contre trois souches de *Candida albicans* Université Mouloud Mammeri].
- Hamri, A., Brinis, A., Effets antimicrobien des extraits de *Thymus vulgaris* chez *Candida albicans* responsable des infections uro-génitales , 2018 , Mémoire de Master , université Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem.

- Hart, T., & Shears, P. (2007). Atlas de poche de microbiologie (O. Gaillot, Trad.). Médecine-Sciences Flammarion.
- Ilhem, M. (2023). Contribution à l'étude de l'effet de l'extrait de l'algue marine *Asparagopsis armata* sur *Candida albicans*, Université Amar Telidji, Laghouat.
- Irimes, C. (2011). Caractérisation génétique, phénotypique et formation de biofilm des souches de *Candida albicans* répondant ou non au farnésol.
- Johnson, A. (2003). The biology of mating in *Candida albicans*. *Nature Reviews Microbiology*, 1(2), 106-116.
- Kacou, A. A. (2019). Synthèse et évaluation biologique des activités anti-biofilm d'analogues d'hémibastadine à noyau 1, 2, 3-triazole Université de Toulon; Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire).
- Kaedache, A., & Khoualdi, Y. (2016). Etude des activités antioxydante, antibactérienne et antifongique d'extraits d'algues marines d'origine Algérienne, Université des Frères Mentouri, Constantine.
- Kim, S.-K., Li, X.-H., Hwang, H.-J., & Lee, J.-H. (2018). Antibiofilm effect of biofilm-dispersing agents on clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* with various biofilm structures. *Journal of Microbiology*, 56, 902-909.
- Larone, D. H. (Ed.). (2011). *Larone's medically important fungi: A guide to identification* (6th ed.). ASM Press
- Larone, D. H., Westblade, L. F., Burd, E. M., Lockhart, S. R., Procop, G. W., & Walsh, T. J. (2023). *Larone's medically important fungi: A guide to identification* (7th ed.). ASM Press; Wiley.
- Laurent, M., Gogly, B., Tahmasebi, F., & Paillaud, E. (2011). Les candidoses oropharyngées des personnes âgées. *Geriatr. Psychol. Neuropsychiatr. Vieil*, 9, 21-28.
- Mandrekar, V. K., Gawas, U. B., & Majik, M. S. (2019). Brominated molecules from marine algae and their pharmacological importance. *Studies in Natural Products Chemistry*, 61, 461-490.
- Manivannan, K., Anantharaman, P., & Balasubramanian, T. (2011). Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalai coastal waters, Gulf of Mannar. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1(2), 114-120.
- Mavor, A., Thewes, S., & Hube, B. (2005). Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. *Current drug targets*, 6(8), 863-874.
- McManus, B. A., & Coleman, D. C. (2014). Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. *Infect Genet Evol*, 21, 166-178. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.008>
- Mihaila, A., Lawton, R., Glasson, C., & Marie Magnusson, G. (2023). Protocoles d'éclosion précoce pour la tétrasporogénèse de l'algue antiméthano-gène *Asparagopsis armata*. *Journal de phycologie appliquée*

- Namira, R. (2019). Etude de l'effet de l'extrait dichlorométhane de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* sur *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline (SARM) Université Amar Telidji, Laghouat.
- Nobile, C. J., & Johnson, A. D. (2015). *Candida albicans* biofilms and human disease. *Annual review of microbiology*, 69(1), 71-92.
- Orgensen, J. H., Pfaller, M. A., Carroll, K. C., Landry, M. L., Funke, Q., Richter, S. S., & Warnock, D. W. (Eds.). (2015). *Manual of clinical microbiology* (11th ed., Vol. 1). ASM Press.
- Otero, M., Cebrian, E., Francour, P., Galil, B., & Savini, D. (2013). Surveillance des espèces envahissantes marines dans les aires marines protégées (AMP) méditerranéennes: guide pratique et stratégique à l'attention des gestionnaires. *Medpan coll.*, IUCN.
- Oumaskour, K., Boujaber, N., Etahiri, S., & Assobhei, O. (2013). Anti-inflammatory and antimicrobial activities of twenty-three marine red algae from the coast of Sidi Bouzid (El Jadida-Morocco). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 5, 145-149.
- Park, B.-S., Lee, H.-K., Lee, S.-E., Piao, X.-L., Takeoka, G. R., Wong, R. Y., Ahn, Y.-J., & Kim, J.-H. (2006). Antibacterial activity of *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC (Taheebo) against *Helicobacter pylori*. *Journal of ethnopharmacology*, 105(1-2), 255-262.
- Perez, R., Kaas, R., Campello, F., Arbault, S., & Barbaroux, O. (1992). La culture des algues marines dans le monde.
- Pinteus, S., Lemos, M. F., Simões, M., Alves, C., Silva, J., Gaspar, H., Martins, A., Rodrigues, A., & Pedrosa, R. (2020). Marine invasive species for high-value products' exploration—Unveiling the antimicrobial potential of *Asparagopsis armata* against human pathogens. *Algal Research*, 52, 102091.
- Ponde, N. O., Lortal, L., Ramage, G., Naglik, J. R., & Richardson, J. P. (2021). *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. *Critical reviews in microbiology*, 47(1), 91-111.
- Poulain, D. (2015). *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis. *Critical reviews in microbiology*, 41(2), 208-217.
- Quero, J.-C. (1992). Les algues et invertébrés marins des pêches françaises.
- Ramage, G., Saville, S. P., Thomas, D. P., & Lopez-Ribot, J. L. (2005). *Candida* biofilms: an update. *Eukaryotic Cell*, 4(4), 633-638.
- Rhimou, B., Hassane, R., José, M., & Nathalie, B. (2010). The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 9(38), 6365-6372.
- Rodica, S., Constanta, S., Lucia, G. D., & Passy, N. (2006). Caractérisation de certains principes actifs de *Ulva lactuca* et *Ulva rigida*: Algues vertes du littoral roumain de la mer noire. *Scientific Study and Research*, 7(1), 193-198.

- Safa, A., & Maroua, A. (2023/2024). Etude de l'activité anticandidosique des extraits de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* [Université Amar Telidji]. Laghouat.
- Samaranayake, Y., Ye, J., Yau, J., Cheung, B., & Samaranayake, L. (2005). In vitro method to study antifungal perfusion in *Candida* biofilms. *Journal of clinical microbiology*, 43(2), 818-825.
- Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., & Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of microbiological methods*, 40(2), 175-179.
- Takashima, M., & Sugita, T. (2022). Taxonomy of Pathogenic Yeasts *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, and *Trichosporon*. *Med Mycol J*, 63(4), 119-132. <https://doi.org/10.3314/mmj.22.004>
- Whiteway, M., & Bachewich, C. (2007). Morphogenesis in *Candida albicans*. *Annu. Rev. Microbiol.*, 61(1), 529-553.
- Wunderlich, G. (2020). Spatiotemporal characterization of the Sydney beach sand mycobiome using traditional and molecular techniques-a clinical connection. In: Sydney, NSW: University of Sydney.

Webliographie

- M.D. Guiry in Guiry, M.D. &. 26 April 2024. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; searched on 15 June 2024.