

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
Année : 2013 – 2014

THESE

N°1678/14

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE
DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Mademoiselle N'DJA France Alida
INTERNE DES HOPITAUX

**Evaluation de l'activité anti-*Candida albicans*
de treize benzimidazolyl-chalcones**

Soutenue publiquement le 31 Juillet 2014

Composition du jury

Président de jury : Monsieur MONNET Dagui, Professeur Titulaire
Co-Directeur : Monsieur MENAN Eby Hervé, Professeur Titulaire
Co-Directeur : Monsieur OUATTARA Mahama, Maître de Conférences Agrégé
Assesseurs : Monsieur AHIBOH Hugues, Maître de Conférences Agrégé
: Madame BARRO-Kiki Pulchérie, Maître-Assistante

**ADMINISTRATION ET PERSONNEL
ENSEIGNANT DE L'UFR DES
SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET
BIOLOGIQUES**

HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires :	Professeur RAMBAUD André
	Professeur FOURASTE Isabelle
	Professeur BAMBA Moriféré
	Professeur YAPO Abbé
	Professeur MALAN Kla Anglade
	Professeur KONE Moussa

I. ADMINISTRATION

Directeur	Professeur ATINDEHOU Eugène
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur Ag INWOLEY Kokou André
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag OGA Agbaya Serge
Secrétaire Principal	Monsieur BLAY Koffi
Secrétaire Principal Adjoint	Madame AKE Kouadio Api Eugénie
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

II. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1. PROFESSEURS TITULAIRES

Mme	AKE Michèle	Chimie Analytique
M	ATINDEHOU Eugène	Chimie Analytique, Bromatologie
Mmes	ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.	Biochimie et Biologie Moléculaire
	KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie
MM	KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique
	MALAN KlaAnglade	Chimie Analytique, Contrôle de qualité
	MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
	MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
	YOLOU Séri Fernand	Chimie Générale

2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES

MM	ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacie Clinique et Thérapeutique
	AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie Moléculaire
	DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie
Mme	AKE EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie Moléculaire
MM	INWOLEY Kokou André	Immunologie
	KABLAN Brou Jérôme	Pharmacologie
	KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme	KOUAKOU SIRANSY N.	Pharmacologie
MM	KOUASSI Dinard	Hématologie
	LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
	OGA Agbaya Stéphane	Santé Publique et Economie de la santé
	OUATTARA Mahama	Chimie Thérapeutique
Mme	SAWADOGO Duni	Hématologie
MM	YAPI Ange Désiré	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
	YAVO William	Parasitologie - Mycologie
	ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

CONFERENCES ASSOCIES

M	DIAFOUKA François	Biochimie et Biologie de la Reproduction
---	-------------------	--

3. MAÎTRES-ASSISTANTS

MM	AMARI Antoine Serge G.	Législation
	AMIN N'Cho Christophe	Chimie Analytique
Mme	BARRO-KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
MM	BONY François Nicaise	Chimie Analytique
	CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
	DEMBELE Bamory	Immunologie
	DJOHAN Vincent	Parasitologie -Mycologie

	EZOULIN Miezan Jean Marc	Toxicologie
	GBASSI K. Gildas	Chimie Minérale
Mme	KOUASSI AGBESSI Thérèse	Bactériologie-Virologie
MM	MANDA Pierre	Toxicologie
	OUASSA Timothée	Bactériologie-Virologie
Mmes	SACKOU KOUAKOU Julie	Santé Publique
	SANGARE Mahawa	Biologie Générale
	SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
M	YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie Moléculaire

4. ASSISTANTS

MM	ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
	ADJAMBRI AdiaEusebé	Hématologie
Mmes	AFFI-ABOLI Mihessé Roseline	Immunologie
	AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
MM	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
	ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie
Mme	AYE YAYO Mireille	Hématologie
MM	BROU Amani Germain	Chimie Analytique
	CABLAN Mian N'DedeyAsher	Bactériologie-Virologie
	DALLY Laba	Galénique
Mlle	DIAKITE Aïssata	Toxicologie
M	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
Mlle	DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie
M	EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mlle	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
Mmes	HOUNSA Annita Emeline Epse Alla	Santé Publique
	IRIE N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie
MM	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
	KACOU Alain	Chimie Thérapeutique

	KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mlle	KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
M	KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme	KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie Moléculaire
MM	KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
	KOUAME Dénis Rodrigue	Immunologie
	KPAIBE SawaAndré Philippe	Chimie Analytique
	LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
Mme	LEKADOU KORE Sylvie	Santé Publique
M	N'GUESSAN Alain	Galénique
Mmes	N'GUESSAN-BLAO Amino Rebecca	Hématologie
	OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Pharmacognosie
	POLNEAU VALLEE Sandrine	Mathématiques, Biophysique
M	TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mmes	VANGA ABO Henriette	Parasitologie-Mycologie
	YAO ATTIA Akissi Régine	Santé Publique
M.	YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale

5. IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOIE Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu GUEU Kaman	Maître-Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

III. ENSEIGNANTS VACATAIRES

1. PROFESSEURS

MM	ASSAMOI Assamoi Paul	Biophysique
	DAINE Charles	Biophysique
	OYETOLA Samuel	Chimie Minérale
	ZOUZOU Michel	Cryptogamie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mme	TURQUIN née DIAN Louise	Biologie Végétale
MM	YAO N'Dri	Pathologie Médicale
	KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie

3. NON UNIVERSITAIRES

MM.	AHOUSI Daniel Ferdinand	Secourisme
	DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
	N'GOZAN Marc	Secourisme
	KONAN Kouacou	Diététique
	KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
Mme	PAYNE Marie	Santé Publique

**COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE
L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
ET BIOLOGIQUES**

I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeur	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeur	ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KOUASSI AGBESSI Thérèse	Maître-Assistante
	OUASSA Timothée	Maître-Assistant
	CABLAN Mian N'Dédey Asher	Assistant
	DOTIA Tiepordan Agathe	Assistante
	LATHRO Joseph Serge	Assistant

**II. BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA
REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE**

Professeur	MONNET Dagui	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	HAUHOUOT ép. ATTOUNGBRE M.L.	Professeur Titulaire
	AHIBOH Hugues	Maître de Conférences Agrégé
	AKE EDJEME N'Guessan Angèle	Maître de Conférences Agrégée
	DIAFOUKA François	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	YAYO Sagou Eric	Maître-Assistant
	KONAN Konan Jean Louis	Assistant
	KONE Fatoumata	Assistante

III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur	SAWADOGO Duni	Maître de Conférences Agrégée Chef de Département
Professeurs	INWOLEY Kokou André KOUASSI Dinard	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	DEMBELE Bamory SANGARE Mahawa AFFI-ABOLI Mihessé Roseline ADJAMBRI Adia Eusebé AYE YAYO Mireille KABRAN Tano K. Mathieu KOUAME Denis Rodrigue N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S. YAPO Assi Vincent De Paul	Maître-Assistant Maître-Assistante Assistante Assistant Assistante Assistant Assistant Assistante Assistant

IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	MALAN Kla Anglade AKE Michèle YOLOU Séri Fernand	Professeur Titulaire Professeur Titulaire Professeur Titulaire
Docteurs	AMIN N'Cho Christophe BONY Nicaise François GBASSI K. Gildas BROU Amani Germain KPAIBE Sawa André Philippe TRE Eric Serge	Maître-Assistant Maître-Assistant Maître-Assistant Assistant Assistant Assistant

V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur	YAPI Ange Désiré	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeur	OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé
Docteur	KACOU Alain	Assistant

VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeur	MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeur	YAVO William	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	BARRO-KIKI Pulchérie	Maître-Assistante
	DJOHAN Vincent	Maître-Assistant
	ANGORA Kpongbo Etienne	Assistant
	KASSI Kondo Fulgence	Assistant
	KONATE Abibatou	Assistante
	VANGA ABO Henriette	Assistante

VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE

Professeur	KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Docteurs	AMARI Antoine Serge G.	Maître-Assistant
	AKA-ANY Grah Armelle A.S.	Assistante
	DALLY Laba Ismaël	Assistant
	N'GUESSAN Alain	Assistant

VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE ET CRYPTOLOGAMIE

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteurs	ADJOUGOUA Attoli Léopold	Assistant
	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Assistante
	OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Assistante

IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeur	KABLAN Brou Jérôme	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeurs	ABROGOUA Danho Pascal KOUAKOU SIRANSY N'Doua G.	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégée
Docteurs	AMICHIA Attoumou M. DJADJI Ayoman Thierry Lenoir EFFO Kouakou Etienne IRIE N'GUESSAN Amenan G. KAMENAN Boua Alexis KOUAKOU Sylvain Landry	Assistant Assistant Assistant Assistante Assistant Assistant

X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département par intérim
Docteur	POLNEAU VALLEE Sandrine	Assistante

XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	DANO Djédjé Sébastien OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane EZOULIN Miézan Jean Marc MANDA Pierre SANGARE TIGORI B. SACKOU KOUAKOU J. DIAKITE Aïssata HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Maître-Assistant Maître-Assistant Maître-Assistant Maître-Assistante Maître-Assistante Assistante Assistante

LEKADOU KORE Sylvie

Assistante

YAO ATTIA Akissi Régine

Assistant

DÉDICACES

A L'ÉTERNEL MON DIEU

Mon âme, bénis l'Éternel !

Éternel mon Dieu tu es infiniment grand !

Tu es revêtu d'éclat et de magnificence !

Il s'enveloppe de lumière comme un manteau ;

Il étend les cieux comme un pavillon.

Il forme avec les eaux le faite de sa demeure ; il prend les nuées pour son char...

Il fait des vents ses messagers, des flammes de feux ses serviteurs.

(Psaume 104 :1-4)

*Merci pour cette grâce que tu m'as accordée d'achever ces longues années
d'étude. Honneur et gloire t'appartiennent aux siècles des siècles.*

MERCI SEIGNEUR !

A MON PERE N'DJA YAO LAMBERT

Papa, je ne sais s'il y a meilleur père que toi,

Tu n'as cessé de nous rappeler que les efforts finissent toujours par payer.

Aujourd'hui, si j'ai pu terminer ces difficiles études, c'est à toi que je le dois.

Je prends exemple sur toi, homme courageux qui affronte toutes sortes de difficultés, qui n'a peur de rien.

Que Dieu te donne toujours la santé !

A MA MERE KOUADJO CLAIRE

Maman, ta douceur, ta sagesse et ton calme ont contribué à notre réussite. Tu es le modèle même de la femme vertueuse.

Puisse Dieu me donner tes vertus et ton tempérament.

A MA GRAND-MERE MATERNELLE

"BOBO", Dieu t'a fait grâce de me voir terminer ces études difficiles.

J'espère pouvoir te rendre hommage chaque fois que tu auras besoin de moi.

IN MEMORIUM

A mes grands-parents paternels,

*Le destin ne nous a pas laissé le temps pour jouir de ce bonheur ensemble et de
vous exprimer tout notre respect.*

Puisse Dieu Tout-Puissant vous accorder sa clémence et sa miséricorde.

AU MINISTRE NIAMIEN KONAN

Vous qui ne cessez de faire la promotion du travail rien que le travail, que DIEU vous bénisse.

A MES TONTONS

KARIM TOURE, YAYA OUATTARA, GBOCHO

Veillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien, vos encouragements et affection. J'espère que vous trouverez, dans la dédicace de ce travail, le témoignage de mes sincères sentiments et de mes vœux de santé et de bonheur.

A MES FRERES ET A MA SCEUR

ANGE PATRICK, STEPHANE, AMANDINE-VANESSA

Je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse à votre endroit.

Puisse l'amour et la fraternité nous unir à jamais.

Je souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour vous combler.

Merci pour votre précieuse contribution à la réalisation de ce travail.

Ne cessons jamais de toujours écouter papa !

A MES ENFANTS

KOUAMELAN MARC-EMMANUEL, KOUAMELAN SYNTICHE-CORALINE,

*Voyez comment moi votre mère, j'ai à fournir des efforts pour vous mes enfants.
Faites-en de même ; aimez le travail.*

Gros bisous à vous, je vous adore.

A KOUAMELAN HERVE JULES

Demeure toujours un bon père pour tes enfants.

Aux Dr KPLE Denise et Dr POKOU Alain

Merci pour votre soutien.

A tous mes ami(e)s,

La grandeur d'un Homme se mesure par la qualité de ses ami(e)s. Je suis fière de vous avoir pour ami(e)s.

Je vous dédie cette thèse que vous m'avez aidé à réaliser.

Merci pour votre soutien.

A NOS MAÎTRES ET JUGES

A NOTRE MAÎTRE ET PRESIDENT DE JURY

Monsieur le Professeur MONNET DAGUI

- *Professeur Titulaire de Biochimie clinique et générale à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*
- *Chef du Département de Biochimie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan de l'Université Félix Houphouët-Boigny*
- *Chef de service de la Pharmacie du CHU de Cocody*
- *Directeur du Certificat d'Étude Spécialisé (CES) de Biochimie et de Biologie moléculaire*
- *Pharmacien biologiste des hôpitaux à l'Institut Pasteur d'Abidjan-Cocody*
- *Membre de plusieurs sociétés savantes*
- *Ancien Directeur de la Pharmacie de la Santé Publique (PSP)*
- *Ancien Directeur de l'École Préparatoire des Sciences de la Santé (EPSS)*

Cher Maître,

Nous sommes marqués par votre grande modestie et très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider notre jury de thèse.

En effet, heureuse d'avoir bénéficié de vos qualités d'enseignant méticuleux et rigoureux, durant notre parcours universitaire, vous avez toujours suscité notre admiration.

Nous vous prions de trouver ici, cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A NOTRE MAÎTRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur MENAN EBY Ignace Hervé

- Professeur Titulaire de Parasitologie et Mycologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan
- Chef du Département de Parasitologie – Mycologie – Zoologie – Biologie Animale
- Docteur ès Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Montpellier I
- Directeur du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les autres maladies infectieuses (CeDReS)
- Directeur Général de CESAM, laboratoire du Fonds de Prévoyance Militaire
- Officier supérieur des Forces Armées Terrestres de Côte d'Ivoire
- Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan (Lauréat du concours 1993)
- Lauréat du prix PASRES-CSRS des trois meilleurs chercheurs ivoiriens 2011
- Président de la Société Ivoirienne de Parasitologie (SIPAM)
- Secrétaire Général adjoint de la Société Africaine de Parasitologie (SOAP)
- Vice-Président du Groupe scientifique d'Appui au PNL
- Membre du groupe français des « Experts de Biologie du VIH » ESTHER
- Membre du Comité National des Experts Indépendants pour la vaccination et les vaccins de Côte d'Ivoire
- Membre du conseil scientifique de l'Université FHB

Cher Maître,

Nous avons découvert en vous un homme passionné du travail bien fait, un homme constamment disponible. Nous avons été surpris par votre simplicité et votre approche méthodique qui nous ont énormément facilité la tâche dans ces travaux de thèse.

Veillez recevoir par ces quelques mots, cher Maître, nos sincères remerciements.

A NOTRE MAÎTRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur OUATTARA Mahama

- Docteur ès Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Montpellier I
- Professeur Agrégé de Pharmacie Chimique
- Pharmacien
- Sous-Directeur de la Direction de la Pharmacie et du Médicament de Côte d'Ivoire, Chargé de la Promotion de l'Industrie Pharmaceutique
- Expert des référentiels de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et de Distribution (BPD) des médicaments (UEMOA,OMS)
- Inspecteur des Bonnes Pratiques de Fabrication et de Distribution des Médicaments (UEMOA, OMS)
- Lauréat du prix de Recherche Santé 2003 du Ministère de la Recherche Scientifique de la République de Côte d'Ivoire
- Thématique de recherche lauréate du Prix Scientifique KOUAME Egnankou 2013 des UFR Sciences de la Santé
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM)
- Membre du Réseau de Substances Bioactives Ouest Africain (ReSBOA)
- Membre de la Société de Chimie Thérapeutique de France (SCt France)

Cher Maître,

Votre simplicité et votre amour pour le travail bien fait ont suscité en nous une très grande admiration.

Veillez recevoir, cher Maître, le témoignage de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Monsieur le Professeur AHIBOH Hugues Franck Thierno

- Professeur Agrégé de Biochimie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan
- Docteur en Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, option biochimie, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan
- Docteur en Pharmacie, Université de Cocody Abidjan
- Pharmacien-Biologiste, responsable de l'Unité de biochimie du Centre de Diagnostic et de Recherches sur le Sida et maladies opportunistes (CeDReS, CHU de Treichville)
- Membre de la société savante Pharmaceutique de CI (SOPHACI)
- Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan

Cher maître,

Vos qualités pédagogiques et humaines forcent notre admiration. Nous avons voulu ce travail empreint de votre esprit critique. Vos exceptionnelles qualités professionnelles et humaines nous ont beaucoup touchées.

Veillez recevoir chère maître ma profonde gratitude et mon infini reconnaissance

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Madame le Docteur BARRO-KIKI PULCHERIE

- Docteur en pharmacie
- Maître-Assistante de Parasitologie et Mycologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan
- Pharmacienne hospitalière à la pharmacie du CHU de Treichville
- Biologiste des hôpitaux (CES de parasitologie-mycologie, CES de biochimie, CES d'Immunologie, DEA de Biologie humaine et tropicale)
- Ancienne Interne des hôpitaux d'Abidjan (lauréat du concours 1994)
- Membre de la Société Ouest Africaine de Parasitologie

Cher Maître,

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans le jury de cette thèse malgré vos nombreuses occupations nous a ému.

Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos enseignements et de vos conseils. Vos qualités humaines et pédagogiques forcent notre admiration.

Permettez-nous, cher Maître, de vous exprimer notre profond respect et notre gratitude.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	:	Acide Désoxyribonucléique
ARN	:	Acide Ribonucléique
CLSI	:	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	:	Concentration Minimale Inhibitrice
CeDRoS	:	Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les autres maladies infectieuses
DI	:	Diamètre d’Inhibition
EUCAST	:	European Committee for Antimicrobien Susceptibility Testing
MTT	:	Methyl Thiazolyl Tetrazolium
SAC	:	Sabouraud Actidione Chloramphenicol
SC	:	Sabouraud Chloramphenicol
SIDA	:	Syndrome d’ImmunoDéficiency Acquis
UFR	:	Unité de Formation et de Recherche
VIH	:	Virus de l’Immunodéficiency Humaine

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : Intertrigo inguinal candidosique-----	11
Figure 2 : Onychomycose candidosique-----	12
Figure 3 : Muguet et perlèche-----	13
Figure 4 : Levures ou blastospores -----	19
Figure 5 : Levures et filaments (mycélium) -----	19
Figure 6 : Aspect macroscopique des levures en culture-----	20
Figure 7 : Technique en milieu gélosé avec disques Biomic [®] -----	38
Figure 8 : Technique en milieu gélosé avec bandelettes Etest [®] -----	39
Figure 9 : photo illustrative des diamètres d'inhibition de 13 dérivés benzimidazolyl-chalcones vis-à-vis de <i>Candida albicans</i> souche27143-----	48

LISTE DE TABLEAU

	Page
Tableau I: structure chimique des treize (13) dérivés benzimidazolyl-chalcones.....	45
Tableau II: Activités antifongiques <i>in vitro</i> des composés 1 à 13 et des substances de référence vis-à-vis de <i>Candida albicans</i>	50

TABLE DES MATIERES

	Page
INTRODUCTION -----	1
PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE -----	4
CHAPITRE 1 : LES CANDIDOSES -----	5
I. HISTORIQUE -----	5
II. RAPPELS EPIDEMIOLOGIQUES -----	6
II.1.Agents pathogènes-----	6
II.1.1.Classification-----	6
II.1.2.Morphologie-----	7
II.2. Sources d'infection-----	7
II.3.Facteurs favorisants-----	8
II.3.1.Facteurs favorisants généraux-----	8
II.3.2.Facteurs favorisants locaux-----	9
III. MANIFESTATIONS CLINIQUES -----	10
III.1.Candidoses superficielles-----	10
III.1.1.Candidoses cutanées -----	10
III.1.2.Candidoses des ongles -----	11
III.1.3.Candidoses digestives -----	12
III.1.4. Candidoses génitales-----	15
III.1.4.1. La forme typique-----	15
III.1.4.2.Les formes récidivantes-----	15
III.1.4.3. Les formes associées-----	16
III.1.4.4. Les complications-----	16
III.1.4.5. Les candidoses génitales chez l'homme -----	16
III.2. Les candidoses profondes ou candidoses systémiques et disséminées---	17

IV. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES CANDIDOSES	17
IV.1. Diagnostic mycologique-----	18
IV.1.1. Prélèvement-----	18
IV.1.2. Examen direct-----	18
IV.1.3. Isolement des levures-----	19
IV.1.4. Identification des levures-----	20
IV.1.4.1. Examen macroscopique des colonies-----	20
IV.1.4.2. Test de blastèse ou test de filamentation en sérum ou encore test de TASHDJIAN-----	21
IV.1.4.3. Test de chlamydosporulation-----	22
IV.1.4.4. Tests biochimiques-----	23
IV.1.4.5. Sérotypage-----	23
IV.2. Diagnostic immunologique-----	23
CHAPITRE 2 : LES MEDICAMENTS ANTIFONGIQUES ET RESISTANCES-----	24
I-LES MEDICAMENTS ANTIFONGIQUES-----	24
I-1-Définition-----	24
I-2- Différentes familles d'antifongiques-----	24
I-2-1-Macrocytes polyèniques-----	24
I-2-2-Fluoropyrimidines-----	25
I-2-3-Azolés antifongiques-----	25
I-2-4-Echinocandines-----	26
I-2-5-Allylamines-----	26
I-2-6-Ciclopirox-----	26
I-2-7-Morpholines-----	27
II-RESISTANCES AUX ANTIFONGIQUES-----	28
II.1.Définition-----	28
II.2. Épidémiologie et facteurs de résistance-----	29

II.2.1. Classe des polyènes-----	29
II.2.2. Classe des fluoropyrimidines-----	30
II.2.3. Classe des azolés antifongiques-----	31
II.2.4. Classe des échinocandines-----	32
II.3. Mécanismes de résistance-----	32
II.3.1. Classe des polyènes-----	33
II.3.2. Classe des fluoropyrimidines-----	33
II.3.3. Classe des azolés-----	34
II.3.4. Classe des échinocandines-----	34
CHAPITRE 3 : DIFFERENTES METHODES D'EVALUATION	
DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE-----	36
I. EN MILIEU LIQUIDE-----	36
I.1. La macrométhode-----	36
I.2. La microméthode-----	36
II. EN MILIEU SEMI-SOLIDE-----	37
III. EN MILIEU SOLIDE-----	37
III.1 La méthode par diffusion -----	38
III.2 Le Etest®-----	38
III.3 La méthode bioautographique-----	40
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE-----	42
CHAPITRE 1: MATERIEL ET METHODES-----	43
I-MATERIEL-----	43
I.1. Type d'étude et cadre de travail-----	43
I.2. Matériel et réactifs de laboratoire-----	43
I.3. Molécules à évaluer-----	44
I.3-1. Molécules de synthèse totale-----	44
I.3-2. Substances de référence-----	46
I.3-3 Matériel microbiologique-----	46

II-METHODES D’EVALUATION DES ACTIVITES ANTIFONGIQUES-----	46
II-1- Principe de la technique de bioautographie (Agar overlay)-----	46
II-2 Préparation de l’inoculum-----	47
II-3 Détection des activités antifongiques-----	47
II-4 Mesure des diamètres d’inhibition-----	48
CHAPITRE 2: RESULTATS ET DISCUSSION-----	49
I.RESULTATS -----	49
II-DISCUSSION-----	51
CONCLUSION ET PERSPECTIVES-----	56
REFERENCES-----	58

INTRODUCTION

Les infections mycosiques sont des maladies provoquées par le développement chez l'homme ou l'animal de champignons microscopiques filamenteux ou levuriformes. On distingue les dermatophytoses dues aux champignons filamenteux dont les localisations sont superficielles, cutanées des levuroses de localisations profondes ou superficielles cutanéomuqueuses, causées par des champignons levuriformes[15].

En pathologie humaine, *Candida albicans* demeure l'espèce de champignon levuriforme la plus connue et la plus redoutable [14]. En effet, elle est à l'origine de maladies graves pouvant engendrer un taux de mortalité élevé et des surcoûts d'hospitalisation, surtout chez les patients immunodéprimés (VIH, diabète, cancers, etc.) [37, 49, 55]. *Candida albicans* est également responsable de 42% de mycoses vaginales chez les jeunes femmes en activité sexuelle [48]. Les mycoses en général représentent 2 à 10% des infections opportunistes chez les personnes vivant avec le VIH en Côte d'Ivoire [10]. Par ailleurs, les lésions cliniques évoluant sur un mode chronique majorent les difficultés thérapeutiques [15]. De ce fait, la prise en charge thérapeutique de ces infections est devenue un enjeu de santé publique par l'émergence de nouvelles souches de *Candida* résistantes à la plupart des médicaments antifongiques actuels [9, 18, 65]. Cette résistance fongique est plus alarmante vis-à-vis des médicaments azolés antifongiques qui constituent la classe thérapeutique la mieux tolérée et la plus utilisée [27,64].

Face à cette situation, plusieurs stratégies peuvent être envisagées, entre autres :

- des mesures hygiéno-diététiques appropriées ;
- l'utilisation rationnelle des médicaments anti-mycosiques encore efficaces au travers de bonnes pratiques de prescription et de dispensations ;
- la mise au point de nouveaux antifongiques plus efficaces.

C'est autour de cette dernière stratégie que se situe l'objectif général assigné à cette étude.

Il porte sur l'évaluation des activités antifongiques précisément anti-*Candida albicans* de treize (13) dérivés benzimidazolyl-chalcones. Quant aux objectifs spécifiques, il s'agira de :

- déterminer les diamètres d'inhibition de 13 benzimidazolyl-chalcones vis-à-vis d'une souche clinique de *Candida albicans* ;
- déterminer l'impact de modulateurs chimiques de type électrodonneur présents dans la molécule des nouvelles chalcones dans l'amélioration des activités anti-*Candida albicans* obtenues.

Aussi le présent travail se décline-t-il en deux parties :

- la première partie sera relative aux données de la littérature sur les candidoses, les médicaments antifongiques, la résistance de *Candida* aux médicaments existant déjà ainsi que les méthodes d'évaluation de l'activité antifongique ;
- la deuxième partie, de type expérimental, abordera successivement la méthodologie d'évaluation des activités antifongiques, puis l'analyse des résultats obtenus, suivies de la discussion de type relations structure-activité.

Elle s'achèvera par la conclusion et les perspectives qui découlent du présent travail.

PREMIERE PARTIE :

**REVUE DE LA
LITTERATURE**

CHAPITRE 1 : LES CANDIDOSES

I. HISTORIQUE [25]

L'infection provoquée par *Candida albicans* est connue depuis l'antiquité. Déjà, HIPPOCRATE, au IV^{ème} siècle avant JC(Jésus-Christ), décrit les lésions buccales caractéristiques et leur association à une altération sévère de l'état général.

200 ans avant JC, GALIEN souligne leur fréquente survenue chez les enfants.

Au XVIII^{ème} siècle, le traité européen de pédiatrie fait état de candidoses buccales et gastro-intestinales.

A partir de 1839, LANGENBECK, BERG et BENNET présentent une description plus ou moins fidèle du champignon, mais n'établissent pas toujours le rapport entre cet agent et la maladie candidosique.

Divers noms ont été proposés pour désigner ce champignon :

- En 1843, ROBIN fut le premier à utiliser le nom d'espèce

albicans : *Oidium albicans* ;

- Pendant de nombreuses années, le nom de *Monilia albicans* caractérisa ce champignon et celui de moniliase, la pathologie qui lui est associée.

En 1875, HAUSMAN démontre la pathogénicité de *Oidium albicans* pour les voies génitales féminines.

En 1900, à côté des formes superficielles, des formes viscérales profondes ont été décrites.

En 1923, BERKHOUT proposa le nom de genre *Candida* en remplaçant celui de *Monilia*, d'où le nom de *Candida albicans*.

En 1940, CASTELLANI décrit d'autres espèces de *Candida* pouvant être pathogènes.

II. RAPPELS EPIDEMIOLOGIQUES

II.1. Agents pathogènes

II.1.1. Classification

Les espèces du genre *Candida* sont des levures anamorphiques (asexuées) classées parmi les *Fungi imperfecti* [3].

Selon la classification de LÖDDER [33], ces levures appartiennent au groupe des Anascosporées, à la famille des Cryptococcacées, et à la sous-famille des Cryptococcoidées.

D'après LÖDDER, le genre *Candida* comporte environ 81 espèces dont actuellement une dizaine est reconnue pathogène pour l'homme en raison de leur adaptation à la température de 37°C.

Les *Candida sp.* sont des levures saprophytes de l'homme, normalement présentes dans le tube digestif.

Candida albicans et *Candida glabrata* sont des endosaprophytes naturels du tube digestif, les autres espèces de *Candida* (*Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, etc) peuvent survivre et se multiplier dans le tube digestif ; leur source est surtout alimentaire. Selon DROUHET et al., 73 % des levures isolées au niveau buccal sont représentées par *Candida albicans* [20].

Les autres espèces sont également présentes dans le tractus uro-génital ou sur la peau (en particulier *Candida parapsilosis* et *Candida guilliermondii*).

Candida albicans ne se trouve pas sur la peau dans des conditions normales.

II.1.2.Morphologie

Les espèces du genre *Candida* forment des cellules lévuriques arrondies ou ovales avec un bourgeonnement typique (blastoconidies), ou fabriquent des pseudo-hyphes. *In vivo*, sur coupe histologique d'organe, les espèces du genre *Candida* présentent simultanément deux formes : levures et pseudo filaments [21].

Les formes levures de *Candida* sont caractérisées par des éléments unicellulaires, ovalaires, mesurant 2 à 4 µm de diamètres.

Elles se reproduisent par bourgeonnement ou par production d'un véritable mycélium ou d'un pseudo-mycélium.

Au laboratoire médical, la culture en boîte de pétri des *Candida* donne des colonies qui sont grandes, rondes, de couleur blanche ou crème ('*albicans*' signifie 'blanchâtre').

II.2. Sources d'infection

La contamination se fait souvent à partir de la souche (saprophyte) hébergée par le malade. Cependant, il existe une possibilité de colportage en milieu hospitalier par exemple [22].

Les sources endogènes constituent l'essentiel des réservoirs d'infection.

Il peut s'agir d'un foyer digestif (mycose intestinale ou buccale) ou cutané (onyxis et péri-onyxis), le genre *Candida* étant saprophyte de la peau, des muqueuses (vaginale, bronchique) et du tube digestif de l'homme.

Seule l'espèce *Candida albicans* est un saprophyte exclusif des muqueuses, contrairement aux autres espèces.

Les sources exogènes telles que les objets ou les mains souillées concernent surtout le personnel hospitalier lors de nombreuses manœuvres

locales. Dans tous les cas, pour se développer, l'infection demande chez le sujet une réceptivité particulière, c'est-à-dire la présence d'un facteur favorisant.

II.3.Facteurs favorisants

Candida est saprophyte. Il existe chez l'homme sain dans les muqueuses de la cavité buccale, de l'intestin et du vagin.

Les infections à *Candida* sont opportunistes, la levure devenant pathogène quand certains facteurs favorisants sont présents [22].

II.3.1.Facteurs favorisants généraux

- L'âge: les enfants prématurés et les vieillards sont les plus exposés aux candidoses, compte tenu de leur faible immunité vis-à-vis des infections opportunistes.
- Certains états physiologiques, en particulier la grossesse, qui entraînent également une déficience de l'immunité [1].
- Certains médicaments, notamment les antibiotiques, les corticoïdes, les immunosuppresseurs, les psychotropes et les traitements favorisant la sécheresse buccale comme les somnifères, les contraceptifs oraux.
- Le diabète sucré, responsable d'une augmentation de la quantité du glycogène favorable au développement des candidoses.
- Les maladies malignes : certaines affections malignes, surtout hématologiques (leucémies, maladie de Hodgkin, aplasie médullaire), favorisent les candidoses.
- Le SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise).

II.3.2.Facteurs favorisants locaux

- L'humidité et la macération

Les intertrigos des grands plis sont en relation avec l'humidité, la macération ou l'extension à la peau d'une candidose muqueuse digestive ou génitale.

- L'acidité

Au niveau des mains, les modifications de cette barrière naturelle résultent de contacts répétés avec l'eau, de traumatismes mécaniques ou chimiques, tels que l'application de jus de citron sucré ou acide dans le blanchiment de la peau.

- La chaleur, la transpiration et la mauvaise hygiène.
- La radiothérapie.
- L'altération du revêtement cutané (traumatisme cutané, brûlure) favorise l'invasion superficielle de la peau par *Candida sp.*, le plus souvent *Candida albicans*.

III. MANIFESTATIONS CLINIQUES [13]

Deux types principaux de candidoses sont connus :

- les candidoses superficielles, cutanées et muqueuses ;
- les candidoses profondes qui se retrouvent chez les sujets immunodéprimés, en particulier les malades infectés par le VIH.

III.1.Candidoses superficielles

Les candidoses cutanéomuqueuses sont le plus souvent aiguës et subaiguës. Elles se développent dans quatre sites préférentiels (au niveau cutané, au niveau des ongles, bucco-digestif et génital).

III.1.1.Candidoses cutanées [22]

Elles se développent dans les zones de transpiration, comme l'aisselle, les aisselles, les zones interdigitales et sur les endroits brûlés ou écorchés.

➤ Intertrigo des grands plis

Il peut se rencontrer au niveau de tous les grands plis: inter fessiers, inguinaux, sous-mammaires et replis abdominaux, creux axillaires.

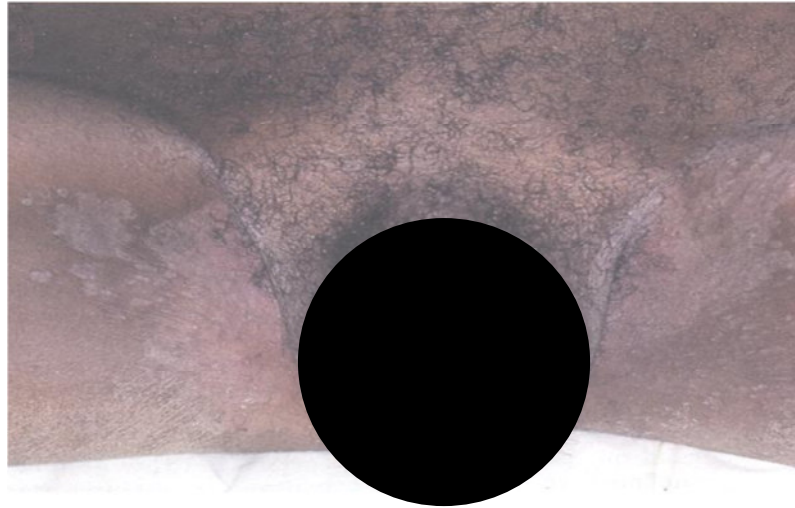


Figure 1 : Intertrigo inguinal candidosique

(Source : photothèque service de dermatologie du CHU de Treichville, 2013)

➤ Intertrigo des petits plis

Il concerne les espaces inter orteils (3^{ème} et 4^{ème} espaces surtout). L'atteinte des espaces interdigitaux des mains est rare.

III.1.2.Candidoses des ongles [22]

Candida pénètre par la sertissure de l'ongle et provoque les onyxis qui s'observent essentiellement aux mains. L'onyxis est accompagné de péri onyxis. L'atteinte typique débute par un péri onyxis avec atteinte secondaire de l'ongle. L'évolution subaiguë peut aboutir à une onychomycose totale. Un second type d'atteinte est l'onycholyse primitive d'apparition brutale.



Figure 2 : Onychomycose candidosique

(Source : photothèque service de dermatologie du CHU de Treichville, 2013)

III.1.3.Candidoses digestives [22]

Les candidoses digestives qui font partie des candidoses superficielles constituent une des portes d'entrée des candidoses viscérales profondes surtout chez les sujets à risque.

➤ **Candidoses buccales**

Les candidoses de la cavité buccale autrement dit de la sphère oropharyngée se divisent en quatre formes cliniques notamment les formes hyperplasiques, érythémateuses, pseudomembraneuses, candidoses de la commissure labiale. Ainsi distingue-t-on :

- le muguet ou forme pseudo membraneuse caractérisé par un enduit blanchâtre sur la langue, la face interne des joues, le voile du palais, le pharynx. La langue est recouverte d'un enduit pseudomembraneux blanchâtre. L'atteinte diffuse est généralement précédée par l'apparition de granulations blanchâtres reposant sur une langue rouge et qui évoluent vers la confluence [8].

Le raclage avec un abaisse-langue détache l'enduit et fait saigner la muqueuse. Le muguet ou stomatite aiguë est fréquent chez le nourrisson et chez le sujet immunodéprimé, en particulier lorsqu'il est infecté par le VIH au stade SIDA ;

- La perlèche, qui présente une fissuration des commissures labiales à fond blanchâtre parfois croûteuse.



Figure 3 : Muguet et perlèche

(Source : photothèque service de dermatologie du CHU de Treichville, 2013)

-
-
- La glossite érythémateuse, qui est une des formes les plus fréquentes de candidose linguale avec une langue érythémateuse lisse, vernissée, siège de brûlures, en particulier lors de l'alimentation [39] ;
 - La stomatite (des dentiers) est une inflammation chronique qui concerne les sujets porteurs de prothèse dentaire. Elle se traduit par un érythème avec œdème de la voûte palatine au niveau du point d'appui de l'appareil digestif. La langue noire qui est une manifestation très évocatrice de l'origine candidosique.

Ce symptôme s'observe notamment au cours d'une antibiothérapie et/ou chez les sujets atteints d'affections malignes hématologiques ou lymphatiques.

Les lésions comportent une hypertrophie des villosités (langue noire villeuse) et leur pigmentation en noire par oxydation.

➤ Candidose œsophagienne

Les candidoses de l'œsophage accompagnent souvent l'infection causée par le VIH. L'endoscopie montre un muguet œsophagien.

L'association d'une candidose buccale peut faire défaut, rendant difficile le diagnostic étiologique de cette œsophagite.

Les symptômes habituels sont, en prédominance, la dysphagie douloureuse et les douleurs rétro sternales quasi constantes ; des nausées, des vomissements et des hémorragies peuvent s'y associer [22].

➤ Candidoses anales

L'atteinte ano-rectale se traduit par une sensation de brûlure, un prurit et souvent un intertrigo péri-anal et inter fessier.

Chez le nourrisson de moins de six mois, une candidose du siège est souvent associée à une infection bactérienne [23].

III.1.4. Candidoses génitales

III.1.4.1. La forme typique

L'incidence de la pathologie est élevée (20% des leucorrhées) [30].

Les manifestations cliniques caractéristiques associent :

- Leucorrhées abondantes, épaisses, blanchâtres, grumeleuses, qui rappellent le lait caillé et qu'on qualifie de caillebotées. Elles sont inodores ;
- Prurit vulvo-vaginal, quasi-constant. Lorsque le prurit est intense, il entraîne des lésions de grattage au niveau de la vulve. Ces lésions sont responsables de brûlures vulvo-vaginales et mictionnelles ;
- La dyspareunie et la dysurie sont également retrouvées dans certains cas.

A l'examen physique, on observe parfois :

- Une vulve inflammatoire avec un œdème et la présence possible de fissures de plis inter labiaux. On note une atteinte des plis cutanés adjacents avec une collerette épidermique péri lésionnelle caractéristique ;
- Une muqueuse vaginale rouge vive, fragilisée et pouvant saigner au contact. Dans les formes hydrorrhéiques, on note la présence de leucorrhée caractéristique en petit amas, parfois plus liquide ;
- Un col inflammatoire, où siègent parfois des lésions érosives.

III.1.4.2. Les formes récidivantes

Le caractère récidivant est suspect devant la répétition des signes cliniques et des preuves mycologiques. Quatre récidives par an pour la plupart des auteurs et avec preuves mycologiques au moins à deux reprises, sont les critères indispensables pour affirmer le caractère récidivant de la mycose [63].

Ces formes récidivantes sont souvent le fait de traitement de durée insuffisante, de résistance de certaines levures aux antifongiques utilisés, ou encore le fait de ré-infestation.

III.1.4.3. Les formes associées

De nombreuses associations entre *Candida* et d'autres germes ont été relevées. Elles sont importantes à considérer car elles peuvent gêner la thérapeutique.

Le *Candida* peut être associé : [19]

- Aux germes bactériens : les associations *Candida*/bactéries sont assez fréquentes. DOUCHET et al. trouvent des associations allant de 3 à 20% ;
- Aux parasites : les associations avec ceux-ci sont plus rares. L'association avec *Trichomonas vaginalis* est assez faible, de 2 à 5%.

III.1.4.4. Les complications

Les complications d'une mycose vaginale sont exceptionnelles. Cependant, elles paraissent plus fréquentes chez les gestantes, et elles sont à craindre car le nouveau-né pourrait faire une candidose localisée voire généralisée.

On peut observer des urétrites, des cystites, des salpingites à *Candida* [30].

III.1.4.5. Les candidoses génitales chez l'homme [57]

Chez l'homme, la candidose génitale est souvent liée à des irritations locales répétées ou chroniques faisant le lit de l'infection lors des rapports avec une partenaire infectée ou à l'existence d'un diabète qui doit être recherché par principe.

L'homme souffre de balanites et de balanoposthites, parfois compliquées d'urétrites. L'infection débute dans le sillon balano-préputial par un érythème plus ou moins suintant, exulcéré, recouvert d'un enduit blanchâtre.

Elle s'étend au prépuce et au gland qui est parsemé de petites papules érythémateuses ou de papulo-pustulètes.

Cette phase aiguë peut se compliquer d'œdèmes et de phimosis. Prurit et picotements sont les symptômes habituellement associés.

III.2. Les candidoses profondes ou candidoses systémiques et disséminées

D'origine endogène (foyer digestif) ou exogène (à partir d'un traumatisme vasculaire, cathéter), les candidoses systémiques peuvent se manifester dans tous les organes (reins, cœur, poumons, yeux, système nerveux, peau), bien que les localisations rénales soient les plus fréquentes. Elles touchent les personnes souffrant de neutropénie et sont souvent mortelles [57].

Les candidoses ostéoarticulaires sont dues au développement de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et de *Candida parapsilosis* dans les os, les articulations et le tissu péri articulaire [57].

IV. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES CANDIDOSES

Les symptômes cliniques suffisent souvent à poser le diagnostic des candidoses superficielles à savoir : cutanées, génitales, unguéales et bucco-digestif. En cas de doute, on procède au diagnostic mycologique. Quant aux candidoses profondes, le diagnostic repose sur les bases immunologiques.

IV.1. Diagnostic mycologique

IV.1.1. Prélèvement

Le Prélèvement des muqueuses se fait en frottant les lésions avec 2 écouvillons stériles humidifiés à l'eau distillée stérile (un pour l'examen direct, l'autre pour la culture). Dans le cas des lésions membraneuses de la muqueuse buccale : détacher les membranes avec une curette. Quant au prélèvement de la muqueuse vaginal, il se fait après la pose d'un spéculum non lubrifié, au niveau du cul-de-sac postérieur du vagin par écouvillonnage.

Lorsque le matériel biologique est constitué de la peau, il faut gratter les lésions avec une curette tranchante ou un vaccinostyle. Pour les ongles, on coupe des fragments d'ongle pour la culture, puis on prélève de la poudre au niveau du lit de l'ongle pour l'examen direct.

Dans le cas des périonyxis on presse le bourrelet érythémateux, et on prélève les sérosités à l'écouvillon.

IV.1.2. Examen direct

L'observation entre lame et lamelle du matériel biologique dans une goutte de sérum physiologique stérile (après traitement par la potasse à 20 % afin d'éclaircir la préparation, des squames et phanères) permet une orientation

rapide du diagnostic. Les levures apparaissent sous forme arrondie ou ovale, de 4 μm à 8 μm , éventuellement bourgeonnantes. La présence de filaments oriente vers les espèces capables d'en produire (*C. albicans*) et élimine d'autres espèces (*C. glabrata*) incapable de filamenté. Les levures sont également visibles sur des frottis colorés au MGG ou au Gram (les levures sont à Gram positif).

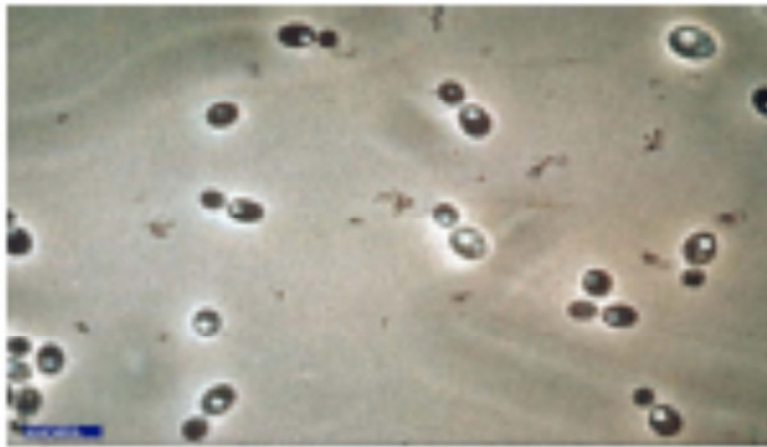


Figure 4 : Levures ou blastospores

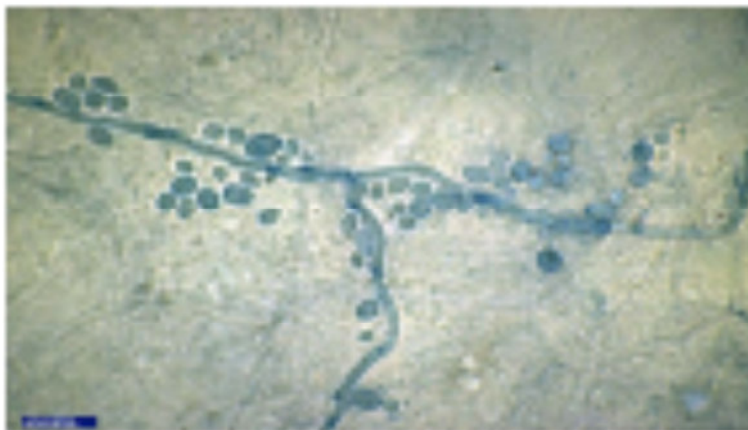


Figure 5: Levures et filaments (mycélium)

IV.1.3. Isolement des levures

Pour l'isolement des colonies de levures, la culture se fait sur différents milieux :

- Le milieu Sabouraud gélosé sans antibiotique.

C'est le milieu de référence des champignons pathogènes ou saprophytes. Mais, il n'est pas à l'abri de contaminants bactériens.

- Le milieu Sabouraud gélosé additionné d'antibiotique à large spectre (Chloramphénicol) ou milieu SC.

L'addition de chloramphénicol permet d'éliminer certaines bactéries associées.

- Le milieu Sabouraud gélosé avec antibiotique (Chloramphénicol) et antiseptique (Actidione) ou milieu SAC.

Ce milieu permet déjà un début d'identification des levures car l'Actidione inhibe la croissance de certaines espèces de *Candida*. Les produits pathologiques sont ensemencés sur ces milieux, coulés en plan incliné ou sur une boîte de pétri par un ensemencement en strie ou en point. Puis, on incube à l'étuve 37°C.

La lecture se fait au bout de 24 à 48 heures.

IV.1.4. Identification des levures

IV.1.4.1. Examen macroscopique des colonies

Après 48 heures environ et à 37°C, on obtient des colonies crémeuses, luisantes ou mates, de couleur blanchâtre.

L'identification traditionnelle des levures s'effectue à l'aide de critères phénotypiques, comme la formation d'un pseudomycélium sur milieu pauvre,

de chlamydozoaires, et l'assimilation ou la fermentation de certains sucres à l'aide de galeries d'identifications commerciales.



Figure 6 : Aspect macroscopique des levures en culture

IV.1.4.2. Test de blastèse ou test de filamentation en sérum ou encore test de TASHDJIAN

Le but est d'obtenir des levures du genre *Candida*, des tubes germinatifs au bout de 3 heures à 37°C dans un sérum humain ou animal frais.

Une suspension homogène d'une à deux colonies de levures de primo isolement sur le milieu de Sabouraud est réalisée dans 0,5 à 1 ml de sérum humain ou animal frais.

Après 3 heures d'incubation à 37°C à l'étuve, on examine une à deux gouttes de suspension au microscope optique.

- S'il y a formation de tube germinatif de longueur (L) égale à au moins trois fois le diamètre de la forme levure, il s'agit de *Candida albicans* ;
- Si l'on observe des levures bourgeonnantes ou des tubes germinatifs courts ($L < 3D$), on a alors des levures du genre *Candida*, mais pas l'espèce *albicans* ;
- Si l'on note l'absence de bourgeonnement ($L=0$), la levure n'appartient pas au genre *Candida*.

En résumé, le test est considéré comme positif, si 70% des levures présentent un tube de germination flexueux dont la longueur atteint au moins trois fois celle du diamètre de la levure [7].

IV.1.4.3. Test de chlamydosporulation

Il se fait sur des milieux relativement pauvres en éléments nutritifs tels que :

- le milieu RAT (riz, agar-agar, tween 80) ;
- le milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile).

Le principe est basé sur la production de chlamydospores en milieu pauvre, créant ainsi des conditions difficiles de survie du champignon.

On obtient de grosses spores terminales ou intercalaires à paroi épaisse portées par des filaments. Ce sont des formes de résistance des levures.

En pratique, le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri de 55 mm de diamètre. On réalise une suspension d'une colonie de levures dans 1 ml d'eau distillée stérile.

Une goutte de cette suspension est déposée au centre de la boîte de pétri et est recouverte d'une lamelle stérile. La boîte est examinée par transparence après 24 à 48 heures d'incubation à 27°C.

Si l'observation au microscope montre :

- L'absence de pseudo mycéliums et de chlamydospores, la levure n'appartient pas au genre *Candida* ;
- La présence de pseudo mycéliums sans chlamydospores faisant environ 15 µm de diamètre et ayant une paroi épaisse réfringente, la levure correspond au genre *Candida* ;
- La présence de pseudo mycéliums et de chlamydospores, la levure est identifiée comme étant *Candida albicans*.

IV.1.4.4. Tests biochimiques

Ils permettent une identification plus spécifique des différentes espèces :

- l'auxanogramme ou test d'assimilation des sucres et des bases azotées ;
- le zymogramme ou test de fermentation des sucres.

En outre, on peut utiliser la sensibilité de la souche à l'actidione et la réduction des sels de tétrazolium. Il existe sur le marché de très nombreux types de galeries proposant des clés d'identification informatisées (système API 32C[®], Fungiscreen[®], Auxacolor[®]) [7].

IV.1.4.5. Sérotypage

Il existe chez l'espèce *Candida albicans* deux sérotypes : A et B, correspondant à des structures antigéniques de surfaces différentes [22].

Les sérotypes peuvent être identifiés par agglutination avec des sérums mono-spécifiques. L'intérêt est épidémiologique, biochimique et thérapeutique.

Un sérotype AB a cependant été observé par OUHON et al. lors d'une étude effectuée à Abidjan [52].

IV.2. Diagnostic immunologique

Dans les atteintes viscérales, le diagnostic se fait :

- Soit par la recherche d'anticorps avec les méthodes d'électrosynérèse, d'immunodiffusion, d'électroimmunophorèse et d'immunofluorescence ;
- Soit par la recherche d'antigènes circulants (chez les immunodéprimés).

CHAPITRE 2 : LES MEDICAMENTS ANTIFONGIQUES ET RESISTANCES

I - LES MEDICAMENTS ANTIFONGIQUES

I-1-Définition

Le traitement des candidoses fait appel à des antifongiques. Ce sont des médicaments capables d'inhiber spécifiquement les différents champignons isolés en mycologie médicale et responsables de lésions plus ou moins graves. Plusieurs familles médicamenteuses sont utilisées dans la chimiothérapie des candidoses. Parmi celles-ci, on dénombre : Les macrocycles polyéniques, les fluoropyrimidines, les azolés, les échinocandines, les allylamines, les ciclopirox et les morpholines.

I-2-Différentes familles d'antifongiques

I-2-1-Macrocycles polyéniques

Ils constituent une classe de médicaments antifongiques à pouvoir fongistatique aux doses thérapeutiques et fongicides à fortes doses. Ils sont obtenus par fermentation des souches bactériennes du genre *streptomyces* et sont caractérisés par un nombre variable de doubles liaisons dans leur structure. Seuls deux représentants sont utilisés actuellement en thérapeutique :

- la Nystatine A,
- l'Amphotericine B.

Les polyènes interagissent avec les stérols membranaires des cellules antifongiques pour former un complexe qui conduira à la lyse de la cellule et partant, à la mort du champignon microscopique. Ils ont un spectre d'action antifongique très large, actif vis-à-vis des champignons pathogènes tels que le genre *Candida*, *Aspergillus* et *Cryptococcus* [9,65].

I-2-2-Fluoropyrimidines

Ce sont des antifongiques à spectre étroit, ayant une activité inhibitrice sur de nombreuses espèces de levures, notamment les genres *Candida*, *Cryptococcus* et *Aspergillus*. Ce sont des dérivés 5-fluorés de la pyrimidine. Le seul représentant en thérapeutique antifongique est la 5 fluorocytosine qui est un analogue structural de la cytosine.

La 5 fluorocytosine est fongistatique à dose thérapeutique et fongicide à dose élevée. Elle agirait comme une prodrogue qui serait transportée dans la cellule fongique grâce à une cytosine perméase avant d'être transformée en 5 fluoro uracile, substance active par une cytosine désaminase. La 5 fluoro uracile obtenue se comporterait ensuite comme un faux substrat qui se substitue à l'uracile dans la biosynthèse des ARN fongiques, ce qui aboutirait au blocage de la synthèse protéique et de la multiplication cellulaire [9,65].

I-2-3-Azols antifongiques

Les azols antifongiques constituent une famille relativement homogène d'antifongiques de synthèse totale, possédant des activités thérapeutiques de nature fongistatique. Ils sont représentés par deux groupes chimiques :

- les imidazolés (deux atomes d'azote) : miconazole, ketoconazole ;
- les triazolés (trois atomes d'azote) : fluconazole, itraconazole.

Les azols antifongiques agiraient au niveau des stérols membranaires en bloquant la biosynthèse de l'ergostérol par suite de l'inhibition de la 14 α -stérol deméthylase enzyme à cytochrome p450 à l'origine de la transformation de lanosterol en ergostérol indispensable à la membrane des champignons. Ils présentent un spectre d'action large incluant les levures du genre *Candida* sauf *Candida glabrata*, les champignons dimorphes, *Cryptococcus neoformans*, les dermatophytes et le genre *Aspergillus* [9,41,65].

I-2-4-Echinocandines

Les échinocandines sont des lipopeptides d'origine naturelle et d'hémisynthèse à activité fongicide issues de la fermentation de plusieurs espèces de champignons, notamment *Aspergillus rugulovalvus* et *Zalerion arboricola*. Ils agissent au niveau de la paroi fongique par inhibition de la synthèse de la β -(1,3)- D-glycane, composant essentiel de ladite paroi qui assurent le maintien de son intégrité et de sa rigidité. Les échinocandines sont actifs sur les champignons d'intérêt clinique tels que *Candida sp.* et *Aspergillus sp.* Ils sont, en revanche, peu actifs sur *Cryptococcus neoformans*.

Les molécules actuellement utilisés en thérapeutique sont la Capsosungine, la Micafungine et l'Anidulafangine [9,65].

I-2-5-Allylamines

Les allylamines sont des antifongiques fongostatiques ayant dans leur structure une entité allylamine tertiaire liée à un support de type arylalkyle par l'intermédiaire d'un chaînon mono carboné. Le seul représentant actuellement utilisé en thérapeutique humaine est la terbinafine. Cette famille agirait par inhibition réversible et compétitive de la squalène epoxidase, enzyme responsable de la cyclisation de la squalène en lanostérol. La déplétion en ergostérol qui en résulte et l'accumulation du squalène affectent la structure de la membrane antifongique à l'origine de la mort du champignon. Les allylamines ont un spectre d'action relativement étroit orienté vers les dermatophytes et *Candida albicans* [9,65].

I-2-6-Ciclopirox

Le ciclopirox est un antifongique à pouvoir fongicide. Il possède dans sa structure une entité de type-2-pyridinone. Sa forme d'utilisation la plus fréquente est la ciclopiroxolamine, qui est un sel du ciclopirox et du 2-aminoéthanol. Le ciclopirox et la ciclopiroxolamine sont les seuls représentants

utilisés en thérapeutique humaine. Les ciclopirox entraîneraient des perturbations au niveau du métabolisme des champignons, notamment la respiration cellulaire, la synthèse de l'ATP et l'inhibition de l'absorption cellulaire de l'acide aminé, des ions phosphates et potassiums à l'origine de la mort du champignon. Ils ont un spectre d'action relativement étroit orienté vers les levures du genre *Candida*, exceptés *Candida glabrata* et les dermatophytes[27,64].

I-2-7-Morpholines

Les morpholines constituent une classe chimique d'antifongiques de synthèse totale à action fongistatique et fongicide. Ils possèdent dans leur structure un motif de type diméthyl-morpholine. L'amorolfine est actuellement le seul représentant utilisé en thérapeutique humaine. Il agirait par inhibition successive de la C14 stérol reductase et Δ^{7-8} isomerase, deux enzymes impliquées dans la synthèse de l'ergostérol. L'amorolfine a un spectre étroit orienté vers les levures du genre *Candida*, exceptées *Candida glabrata* et les dermatophytes [9,65].

Autres classes chimiques d'antifongiques

Benzohydrofuranes

Le seul représentant en thérapeutique antifongique est la griséofulvine. Il s'agit d'un antifongique, fongistatique, d'origine naturelle et obtenu par fermentation de diverses souches de *Penicillium* dont *Penicillium griséofulvium*. Elle agirait par inhibition de la mitose cellulaire au niveau des microtubules fongique. Le spectre d'action est strictement limité aux dermatophytes [9,65]. Il n'a donc aucune action sur les *Candida*.

Thiocarbamates

Cette famille d'antifongiques possède dans leur molécule respective une entité thiocarbamate reliée à deux groupes aryles de nature aromatique ou

hétéroaromatique par l'intermédiaire d'un atome d'azote et d'oxygène. Le seul représentant utilisé actuellement en thérapie humaine est le Tolnaftate [9,65].

Le tolnaftate agirait comme les allylamines par inhibition réversible et compétitive de la squalène epoxidase, enzyme responsable de la cyclisation du squalène en lanostérol. La déplétion en ergostérol qui en résulte, associée à l'accumulation du squalène, affecte la structure de la membrane fongique à l'origine de la mort du champignon [9,65].

II- RESISTANCES AUX ANTIFONGIQUES

Malgré leur diversité, l'efficacité des molécules antifongiques est limitée par l'émergence de souches résistantes. En effet, ces souches développeraient des stratégies pour échapper à l'action des antifongiques sous l'effet de divers facteurs. Ainsi, nous exposerons les facteurs et mécanismes de résistance mis en jeu dans chaque classe d'antifongiques.

II.1.Définition

La résistance aux antifongiques se définit comme étant l'insensibilité d'une souche fongique à un ou plusieurs antifongiques. La souche fongique résistante est capable alors de supporter des concentrations d'antifongiques supérieures à celles qui inhibent le développement de la majorité des souches de la même espèce. Cette résistance peut être primaire (intrinsèque) ou secondaire (acquise) [34].

La résistance primaire est celle que développe une souche fongique à l'égard d'un antifongique sans jamais avoir été en contact avec celui-ci. Autrement dit, il s'agit d'une insensibilité existant naturellement chez tous les champignons d'un même genre ou d'une même espèce. Elle fait partie généralement du patrimoine génétique normal du champignon. C'est par exemple le cas de la

résistance de *Candida krusei* au Fluconazole et celle du *Cryptococcus neoformans* aux échinocandines.

La résistance secondaire est développée par une souche de champignon à l'égard d'un antifongique auquel elle était auparavant sensible. Cette résistance ne touche que certaines souches au sein d'une espèce et peut être due à une mutation ou à l'altération d'un gène. La résistance des espèces de *Candida albicans* et de *Cryptococcus neoformans* au Fluconazole illustre bien ce type de résistance [56,67].

II.2. Épidémiologie et facteurs de résistance

L'épidémiologie des levures du genre *Candida* s'est considérablement modifiée ces dernières années, avec l'apparition d'espèces résistantes à un ou plusieurs antifongiques. Plusieurs facteurs peuvent expliquer la survenue de ces résistances aux antifongiques [56].

II.2.1. Classe des polyènes

La résistance aux polyènes reste un fait relativement rare chez les isolats cliniques de champignons pathogènes, bien qu'elle soit de plus en plus rapportée [34]. Si la plupart des espèces fongiques sont considérées comme sensibles aux antifongiques polyéniques, il semble que certaines espèces leur soient naturellement peu sensibles, comme *Candida glabrata* chez les levures [67]. Ainsi, les résistances primaires à l'Amphotéricine B sont bien connues pour les souches de *Candida lusitaniae* et *Candida guilliermondii* [56]. Des résistances secondaires à Amphotéricine B ont également été décrites pour des souches de *Candida krusei* et *Candida glabrata* [54]. Chez les champignons filamenteux, des résistances à l'Amphotéricine B ont été notifiées chez les espèces du genre *Fusarium*, chez *Scedosporium prolificans* et *Aspergillus terreus* [61]. Les facteurs de risques pouvant expliquer cette résistance sont :

-
-
- ✓ L'exposition préalable aux azolés. La résistance secondaire des souches de *Candida sp.* et de *Cryptococcus neoformans* à l'Amphotéricine B se développerait chez les patients préalablement exposés à des antifongiques azolés.

Ceci serait dû à une altération des composants de la membrane cellulaire créée par l'usage préalable d'azolés [26, 31] ;

- ✓ L'état de déficience immunitaire : la déficience immunitaire est un facteur contribuant à la résistance secondaire à l'Amphotéricine B. Des résistances secondaires à l'Amphotéricine B de certaines levures ont été documentées chez des patients soumis à une chimiothérapie anticancéreuse et chez des patients transplantés [26, 31].

II.2.2. Classe des fluoropyrimidines

La résistance à la 5-FC est un phénomène relativement fréquent. Cette résistance peut être primaire comme chez *Candida tropicalis*, ou secondaire par sélection de mutants résistants après exposition à l'antifongique [56]. En effet, 10% des souches de *Candida* présentent une résistance primaire (*Candida albicans* sérotype B, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*) à la 5-FC [54, 61]. Quant à la résistance secondaire, elle est observée, pour *Candida albicans*, chez 30 % des patients recevant une monothérapie à la 5-FC [54]. Il est indiqué que la gravité de l'immunodépression et la monothérapie sont des facteurs de risque importants dans l'apparition des résistances à la 5-FC [24].

II.2.3. Classe des azolés antifongiques

La résistance des souches du genre *Candida* aux antifongiques azolés est fréquemment rapportée, en raison de la sélection d'espèces résistantes due à l'utilisation croissante des antifongiques azolés. Toutefois, la prévalence des

résistances primaires aux triazolés de première génération chez les souches du genre *Candida* est faible [2,54]. Elle a été décrite, dans moins de 2,5 % des cas, pour le Fluconazole et dans moins de 9 % des cas pour l'Itraconazole [56]. Les souches de *Candida albicans* sont le plus souvent sensibles ; *Candida glabrata* est souvent «sensible-dose dépendant», *Candida krusei* est le plus souvent résistant [56].

Quelques résistances secondaires ont été décrites chez des patients sous prophylaxie au Fluconazole, notamment chez les patients vivant avec le VIH ayant une candidose oropharyngée [2] et les patients greffés de la moelle [56].

Par ailleurs, des résistances croisées entre différents azolés ont également été décrites [42]. En fait, plusieurs facteurs contribueraient à la résistance clinique aux antifongiques azolés. Des études ont mis en cause la pression de l'environnement imposée par l'exposition au Fluconazole [69]. D'autres facteurs, tels que l'exposition à des agents antibactériens, à des traitements immunosuppresseurs et la condition médicale sous-jacente de l'hôte, pourraient se révéler être de meilleurs facteurs prédictifs de la distribution des espèces de *Candida* que l'utilisation du Fluconazole [40,44].

II.2.4. Classe des échinocandines

La résistance aux échinocandines est relativement rare [65]. On estime à plus de 99% le taux d'isolats sensibles aux échinocandines chez les espèces du genre *Candida* [54]. Toutefois, des résistances primaires aux échinocandines chez *Cryptococcus neoformans* ont été décrites. La résistance de *Cryptococcus neoformans* aux échinocandines semble liée à la composition de sa paroi en polysaccharides qui diffère de celle des autres champignons [45]. De même, des résistances secondaires ont été décrites chez certaines espèces de levures (*Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* et *Candida glabrata*) capables de croître en présence de fortes concentrations en échinocandines, bien

supérieures à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) [53]. L'exposition répétée de la levure aux échinocandines est un facteur déterminant dans l'apparition de cette résistance secondaire.

En effet, la résistance secondaire serait due à une adaptation physiologique du champignon en réponse au blocage de la synthèse des β - (1,3)-D-glycanes et à la modification de la structure de la paroi qui en résulte [11].

II.3.Mécanismes de résistance

II.3.1. Classe des polyènes

La résistance à l'Amphotéricine B peut être due à deux mécanismes: la disparition de la cible et la mutation d'un gène.

- ✓ **la disparition de la cible :** la voie de biosynthèse de l'ergostérol, dans un premier temps, serait bloquée afin de soustraire la cible à l'action de l'antifongique. Dans un deuxième temps, l'ergostérol serait remplacé dans les membranes par d'autres stérols viables [54]. Cependant, une mutation du gène *ERG3* (codant la Δ -5,6 désaturase) pourrait conférer à elle seule une résistance croisée à l'Amphotéricine B et aux azolés. Elle empêche la formation du 14-méthyl- 3,6- diol toxique et permet l'accumulation de 14-méthyl-fécostérol, un stérol méthylé qui pourrait suppléer l'ergostérol. Ce mécanisme a été évoqué chez *Candida albicans* [54].

- ✓ **la mutation d'un gène :** il a été montré qu'un isolat clinique de *Candida albicans* possédant une mutation dans les gènes *ERG11* et *ERG5* (C22 désaturase) avait une résistance croisée au Fluconazole et à l'Amphotéricine B [5].

II.3.2. Classe des fluoropyrimidines

La résistance des souches de *Candida sp.* peut être due à :

- ✓ un défaut de transport ou de pénétration de l'antifongique à l'intérieur de la cellule fongique lié à un déficit ou une altération de l'activité de la cytosine perméase codée par le gène *FCY* [32,68] ;
- ✓ un défaut de transformation de l'antifongique en forme active toxique, par mutation du gène *FURI* codant une enzyme impliquée dans le métabolisme de la 5-FC [32,68] ;
- ✓ une surproduction des cibles cellulaires de l'antifongique par surexpression du gène *CDC21*, codant la thymidylate synthétase [32, 68].

II.3.3. Classe des azolés

Plusieurs mécanismes de résistance des levures aux dérivés azolés ont été décrits, incluant la diminution de l'accumulation intracellulaire des dérivés azolés, l'altération de la composition en stérols de la membrane et la surproduction ou la mutation des cibles enzymatiques des dérivés azolés[56].

✓ **Diminution de l'accumulation intracellulaire des dérivés azolés :**

L'accumulation intracellulaire des dérivés azolés peut être réduite par un manque de pénétration, à cause d'un faible taux d'ergostérol dans la membrane. Une possible diminution du ratio entre la phosphatidylcholine et la phosphatidyl-éthanolamine dans le plasma peut changer les fonctions barrières de la membrane. De plus, une importante cause de la réduction de l'accumulation des drogues est la présence d'un système actif d'efflux sortant qui tente de refouler ces azolés hors de la cellule. Pour les souches résistantes, ce système d'efflux est très développé. Cela

est dû à la surexpression des gènes codant pour ces systèmes d'efflux [54,65,67].

✓ **Altération de la composition en stérols de la membrane :**

Les levures résistantes sont capables de modifier la voie de biosynthèse de l'ergostérol, qui de ce fait, supprime l'effet délétère des azolés, en évitant ainsi la formation par ces derniers de métabolites toxiques à partir de stérols méthylés en position 14- α . Chez *Candida albicans*, le 14 α -méthyl fécostérol peut être métabolisé par l'enzyme Δ -5-6 désaturase (codé par le gène *ERG3*) en un produit toxique. Plusieurs études ont montré que les souches résistantes aux dérivés azolés avaient une mutation dans le gène *ERG3* [54,65,67].

✓ **Altération ou surproduction de la cible enzymatique des dérivés**

azolés : des études ont montré que des mutations du gène *ERG11* engendrent une diminution de l'affinité entre les dérivés azolés et les enzymes (14 α -déméthylase) ou une surexpression du gène *ERG11*, mais ce mécanisme de résistance aurait un effet plus réduit [54,65,67].

II.3.4. Classe des échinocandines

La résistance des souches de *Candida* aux échinocandines est due à:

- ✓ La mutation des gènes *FKS1* ou *FKS2*, indispensable à la synthèse de l'enzyme β (1-3)-D-glucane synthase [38] ;
- ✓ Une adaptation physiologique du champignon, par la voie de signalisation responsable du maintien de l'intégrité de la paroi, en réponse au blocage de la synthèse des β -(1-3)-glucanes[11].

Au terme de cette revue de littérature relative aux candidoses et à leur chimiothérapie, nous pouvons relever que le traitement des candidoses à l'heure

actuelle repose principalement sur l'utilisation de quatre principales classes chimiques d'antifongiques, à savoir :

1. Les polyènes procèdent, par complexation de l'ergostérol membranaire créant des pores à l'origine de la lyse du champignon ;
2. Les fluoropyrimidines, analogues des bases pyrimidiques, inhibent la croissance fongique en perturbant la synthèse protéique et la réplication de l'ADN ;
- 3 Les antifongiques azolés agissent par inhibition de la synthèse de l'ergostérol, principal composant de la membrane plasmique des champignons.
- 4 Les échinocandines perturbent, pour leur part, la synthèse de la paroi fongique en inhibant une enzyme responsable de la synthèse de certains polysaccharides pariétaux.

Malheureusement, dans leur utilisation pratique, toutes ces familles ont montré des limites à savoir :

- ✓ Les phénomènes de résistance qui n'épargnent aucune de ces familles d'antifongiques,
- ✓ Un spectre plus ou moins étroit, car aucune famille d'antifongique n'est active sur tous les champignons pathogènes.

Au vu de toutes ces limites, la recherche de nouvelles biomolécules antifongiques plus performantes et moins toxiques ayant des mécanismes et/ou des sites d'actions différents s'avère indispensable.

CHAPITRE 3 : DIFFERENTES METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE

L'activité *invitro* des champignons aux antifongiques est évaluée par la méthode de dilution, réalisée de plusieurs manières.

En effet, elle se réalise soit :

- en milieu liquide,
- en milieu semi-solide,
- en milieu solide.

I.EN MILIEU LIQUIDE

Il existe deux méthodes par diffusion liquide, une macro méthode et une micro méthode. Ces deux méthodes ont été standardisées par le CLSI (clinical and Laboratory standards institute) [36].

I.1.La macrométhode

Elle est réalisée en tubes stériles contenant des dilutions sériées d'antifongiques dans un milieu de culture liquide. Après ensemencement par un inoculum préparé à partir de culture de levure, les tubes de culture sont incubés pendant 24 à 48 heures à 28°C. La lecture des résultats est faite, soit visuellement, soit par mesure spectrophotométrique de la turbidité. Les résultats sont exprimés en concentration minimale inhibitrice ou CMI, correspondant à la plus faible concentration d'antifongique inhibant la croissance du champignon étudié.

Plusieurs paramètres influencent de manière importante la détermination des CMI : le milieu de culture, le pH, la charge de l'inoculum, la température et le temps d'incubation [46]. Mais, la méthode a été standardisée par le CLSI [28].

I.2. La microméthode

Cette méthode a été développée selon le protocole standardisé de la macro méthode du CLSI afin de pallier les difficultés de mise en œuvre de la méthode originelle [28]. Des études comparatives ont montré que la différence entre les deux n'est pas significative [28] ; ce qui a permis la standardisation par le CLSI [47].

Comme pour la macrométhode, des paramètres (milieu de culture, pH, charge de l'inoculum, température et temps d'incubation) influencent la valeur des CMI.

II. EN MILIEU SEMI-SOLIDE

Il existe actuellement plusieurs méthodes en milieu semi-solide commercialisées. Parmi elles, on peut citer l'ATB Fungus[®]. C'est une méthode simple et rapide.

Elle permet de déterminer la sensibilité des *Candida* aux antifongiques dans des conditions très proches de la technique de référence de micro dilution, selon les normes de l'European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [12] et du CLSI [62].

Les résultats obtenus avec cette méthode permettent de déterminer les CMI et un classement des souches en termes « sensible », « intermédiaire » ou « résistante » selon des concentrations recommandées par le CLSI.

III. EN MILIEU SOLIDE

La technique de dilution en milieu solide la plus utilisée est la méthode de STEERS [6,62].

Pour un antifongique donné, une gamme de concentration est réalisée, incorporée à un milieu gélosé en surfusion, puis coulée en boîte de pétri. La CMI d'un antifongique correspond à la plus petite concentration de

l'antifongique capable d'inhiber la pousse de la souche testée, comparativement aux témoins.

Cette technique, comme celle de la dilution en milieu liquide, est influencée par le milieu de culture, le pH, la charge de l'inoculum, la température et le temps d'incubation.

III.1. La méthode par diffusion [1]

Cette méthode utilise des disques imprégnés d'antifongiques. Son principe consiste à déposer des disques chargés avec une concentration connue d'antifongique sur un milieu de culture gélosé,ensemencé par inondation de l'inoculum. L'antifongique va diffuser radialement à partir de l'endroit où le disque est déposé. Il se forme un gradient de concentration d'antifongique autour du disque. La CMI de l'antifongique testé est déterminée après mesure des diamètres des zones d'inhibition et utilisation des abaques.

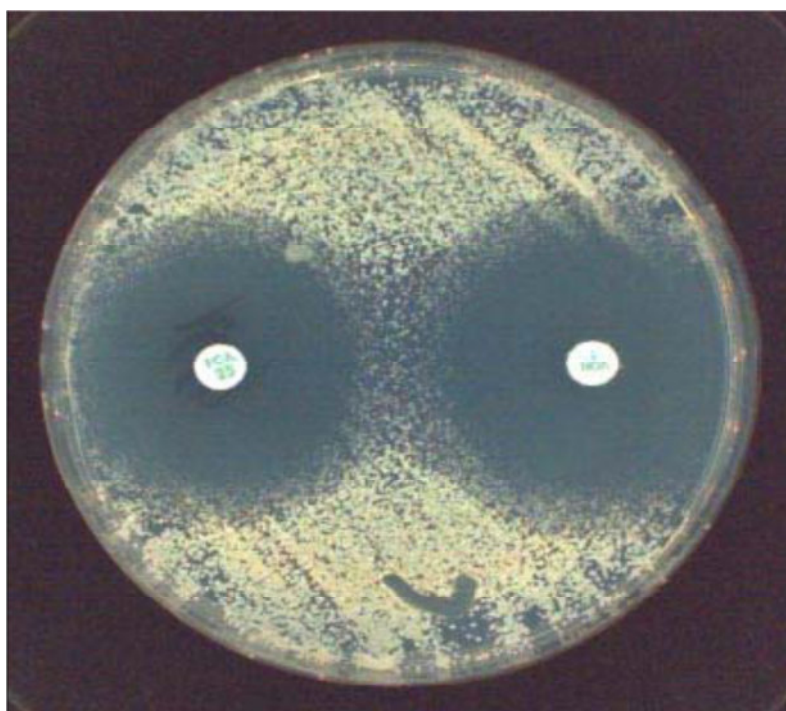


Figure 7 : Technique en milieu gélosé avec disques Biomic® [66]

III.2. Le Etest[®]

Le Etest[®] est une nouvelle méthode de détermination directe de la CMI des antifongiques systémiques à l'aide de bandelettes minces contenant un gradient exponentiel continu d'antifongique.

Ce test est un hybride des méthodes par dilution en milieu liquide ou en gélose et de la méthode par diffusion à partir des disques [28].

Les premières études comparant cette nouvelle technique avec les méthodes de référence du CLSI ont montré une bonne corrélation des résultats. Ces études ont conclu que le Etest[®] constituait une méthode facile et rapide à mettre en œuvre [12].

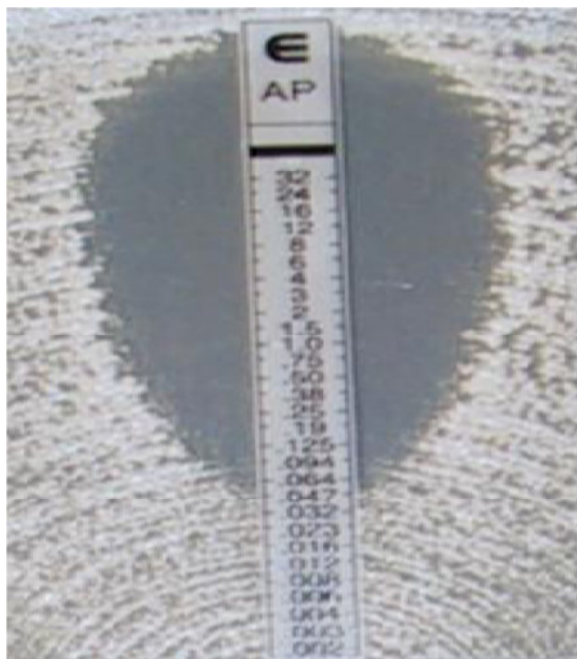


Figure 8 : Technique en milieu gélosé avec bandelettes Etest[®] [66]



III.3. La méthode bioautographique[16,17,59,60]

Le test par bioautographie « *agar overlay* », utilisé dans nos travaux avec *Candida albicans*, a été mis au point par RAHALISON et al. (1991).

Les chromatogrammes sur couche mince sont d'abord développés sur des plaques de gel de silice de 10 x 10 cm avec un support en verre qui est la phase solide. Il est ensuite très important de sécher complètement les plaques afin d'éliminer toute trace de solvant. Toutes les opérations décrites ci-après sont effectuées près d'une flamme, avec les précautions d'usage lors de la manipulation de microorganismes potentiellement pathogènes et le souci d'éviter toute contamination des milieux de culture utilisés par d'autres germes.

Après développement en tube sur gélose de Sabouraud, une oese de 24 heures du germe est mise en culture liquide dans 50 ml de bouillon de Sabouraud. Après incubation pendant 15 heures à 30°C, 1 ml de cette solution est prélevé afin d'inoculer 50 ml d'un second milieu de culture à base de Sabouraud liquide. Incuber à 30°C pendant 8 heures afin d'atteindre la phase de croissance exponentielle du microorganisme. Introduire ensuite 1 ml de cette solution dans chacune des fractions de 50 ml de milieu gélosé à l'extrait de malt, préparées et maintenues à l'état liquide à 45 °C.

Ces milieux contiennent alors environ 105 cellules/ml, et on en prépare 20 ml par plaque de 10 x 20 cm.

La technique de l'« *agar overlay* » consiste à verser sur les plaques développées, à l'aide d'une pipette stérile et en fine couche de 1-2 mm d'épaisseur, l'inoculum à base de gélose à l'extrait de malt.

Ce dernier se solidifie alors en refroidissant. Après incubation pendant une nuit à 30°C en atmosphère humide, les bioautogrammes sont révélés par

vaporisation d'une solution aqueuse de MTT (Methyl Thiazolyl Tetrazolium) à 2,5 mg/ml.

Le test bioautographique est une variante de la méthode en milieu solide qui utilise des plaques de gel de silice. C'est une méthode facile à utiliser et qui ne demande pas un équipement lourd ; certains matériels ont d'ailleurs été adaptés avec ceux qui sont disponibles au laboratoire. On peut citer, entre autres, la chambre humide qui est faite de deux plateaux en inox et de papier buvard. De plus, c'est une méthode très sensible qui détecte une activité antifongique à partir de 10 microgrammes de substances de synthèse. Les réactifs utilisés sont relativement faciles à obtenir, sauf le révélateur des zones d'inhibition, le MTT (Methyl Thiazolyl Tetrazolium).

DEUXIEME PARTIE :
ETUDE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE 1: MATERIEL ET METHODES

I- MATERIEL

I.1. Type d'étude et cadre de travail

Ce travail de type expérimental a eu lieu, en ce qui concerne la synthèse chimique totale des biomolécules potentielles, au Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Biomolécules de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan. Au total, ce sont treize (13) chalcones à support benzimidazolique qui ont été conceptualisées puis synthétisées [50].

Quant aux structures chimiques de toutes ces molécules préparées, elles ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques habituelles (RMN : ^1H , ^{13}C ; EI Masse) au Laboratoire CEISAM de Nantes [50].

Pour notre part, nous nous sommes focalisés sur l'évaluation des activités antifongiques de 13 (treize) de ces nouvelles chalcones à support benzimidazolique. Cette évaluation a été réalisée durant un mois (du 15 décembre 2013 au 15 janvier 2014) au Laboratoire de Mycologie du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les autres maladies infectueuses (CeDReS) d'Abidjan, sis au sein du CHU de treichville.

I.2- Matériel et réactifs de laboratoire

- Milieux de cultures : Sabouraud 4% glucose Agar (Fluka) ; Sabouraud agar maltose(OXOID)
- Bain-marie
- Flacon de culture en verre
- Plaque chauffante
- Pipettes graduées (10 ml)
- Boîtes de pétri
- Incubateur

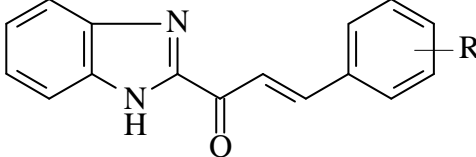
-
- Substances médicamenteuses antifongiques (Kétoconazole, Fluconazole)
 - Produits à tester (13)
 - Chlorure de methyl thiazolyl tetrazolium (MTT)
 - Bacs en polyéthylène
 - Souche de *Candida albicans* 27143

I.3- Molécules à évaluer

I.3-1. Molécules de synthèse totale

Les treize (13) dérivés benzimidazolyl-chalcones (**Tableau I**) soumis à l'évaluation anti-*Candida albicans* ont été fournis par le Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Biomolécules de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan sous forme de poudres pures.

Tableau I : structure chimique des treize (13) dérivés benzimidazolyl-chalcones

Structure chimique	Composés	R
 <p style="text-align: center;">benzimidazolyl-chalcone</p>	1	H
	2	2-CH ₃
	3	3-CH ₃
	4	4-CH ₃
	5	4-CH(CH ₃) ₂
	6	2-OH
	7	3-OH
	8	2-OCH ₃
	9	3-OCH ₃
	10	4-OCH ₃
	11	3,4-diOCH ₃
	12	2,5-diOCH ₃
	13	4-N(CH ₃) ₂

I.3-2. Substances de référence

Les activités antifongiques de ces chalcones ont été comparées à celles du Kétoconazole et du Fluconazole utilisés comme substances médicamenteuses de référence. Le choix de ces deux substances médicamenteuses se justifie par leurs efficacités antifongiques vis-à-vis de *Candida albicans*. Ces médicaments, sous forme de poudres pures provenaient des laboratoires SIGMA Chemical Co (USA).

I.3-3 Matériel microbiologique

Les activités anti-*Candida albicans* de ces nouvelles chalcones ont été évaluées vis-à-vis d'une souche clinique de *Candida albicans* (souche 27143 CeDReS). Cette souche clinique sensible au Fluconazole et au Ketoconazole a été caractérisée et fournie par le laboratoire de mycologie du CeDReS.

II-METHODES D'EVALUATION DES ACTIVITES ANTIFONGIQUES

Pour la détermination *in vitro* de l'activité anti-*Candida albicans* des produits à tester, nous avons utilisé la technique de bioautographie «agar overlay» mise au point par Rahalison [59,60]. L'activité de chaque produit à la quantité seuil de 10 µg, a été mesurée par son diamètre d'inhibition (DI).

II-1- Principe de la technique de bioautographie (Agar overlay)

C'est une méthode qui consiste à mettre en contact un inoculum avec un chromatogramme sur couche mince (CCM), préalablement développé à partir des produits à tester. Elle a l'avantage de permettre le criblage antifongique de plusieurs produits à la fois (10 produits par plaque) [59,60].

II-2 Préparation de l'inoculum

On prépare une culture de *Candida albicans* sur de la gélose de Sabouraud glucosée (Sabouraud 4% glucose agar, Fluka) en boîte de pétri, incubée à 30°C pendant 24 à 48 heures. Une à trois colonies sont ensuite ensemencées dans 50 ml de Sabouraud liquide, puis laissées sous agitation pendant une nuit à température ambiante. On prélève ensuite un (1) ml du bouillon que l'on transfère dans un nouveau bouillon, laissé sous agitation pendant 6 heures (temps nécessaire pour atteindre une croissance exponentielle de *Candida albicans*).

Au moment du test, on ajoute 5 ml du bouillon d'environ 6 heures dans 50 ml d'agar à l'extrait de malt (Sabouraud agar maltose, OXOID), maintenu fondu au bain-marie à 45°C pour obtenir un inoculum contenant environ 10⁵ cellules /ml.

II-3 Détection des activités antifongiques

Des solutions méthanoliques des produits de synthèse et des substances médicamenteuses de références antifongiques à tester sont préparées à 1 mg/ml. Puis, 10 µl de ces solutions, soit 10 µg de produit, sont déposés sur les plaques de silicagel 60 F254 sur verre. Ces chromatogrammes sont ensuite séchés et maintenus à 35-40°C environ, sur une plaque chauffante. Sur chaque chromatogramme, on étale rapidement l'inoculum, à raison de 10 µl par portion de plaque de silicagel (10 cm x 10 cm). Après solidification de l'agar, les plaques sont incubées à 30°C dans des bacs de polyéthylène pendant une nuit, en atmosphère humide. Après l'incubation, les plaques sont révélées à l'aide de solution aqueuse de Chlorure de methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) à 2,5 mg/ml. Après une nouvelle incubation de 2 à 4 heures environ, des zones

d'inhibition de croissance apparaissent sous formes de taches blanches sur un fond violet.

II-4 Mesure des diamètres d'inhibition

Les diamètres d'inhibition des produits de synthèse et de substances médicamenteuses de référence à la quantité seuil de 10 μ g ont été mesurés à l'aide d'une règle graduée et exprimé en millimètres.



Figure 9 : Photo illustrative des diamètres d'inhibition des 13 dérivés benzimidazolyl-chalcones vis-à-vis de *Candida albicans* souche27143

CHAPITRE 2: RESULTATS ET DISCUSSION

I.RESULTATS

Les activités anti-*Candida albicans* de chaque produit à la quantité de 10 µg sont données par leur diamètre d'inhibition (DI) exprimé en millimètres (mm).Tableau2

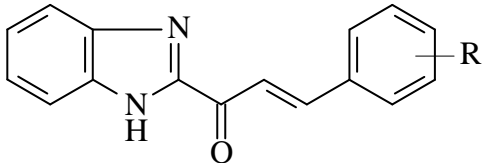
Les résultats rapportés font ressortir que :

- Dix (10) composés ont induits des DI compris entre 11mm et 16mm. Parmi ces dix composés :
 - Les **composés 1 et 2** ont présenté la même efficacité antifongique vis-à-vis de la souche clinique 27143 de *Candida albicans*, avec des DI à 15 mm.
 - Les **composés 3 ; 5 et 9** ont également présenté des activités anti-*Candida albicans* équivalentes. Celles-ci se traduisent par des DI de 16mm.
 - Les **composés 6 ; 11 et 12** ont montré, eux aussi, une efficacité anti-*Candida albicans* de 12 mm de DI.
 - Les **composés 4 et 10** ont induit des activités anti-*Candida albicans* respectives de 14mm et 11mm de DI.

- Trois (03) dérivés à savoir les **composés 7 ; 8 et 13** n'ont présenté aucune activité anti-*Candida albicans* (DI=0), à la quantité de 10 µg.

- Le Fluconazole et le Ketoconazole ont présenté, à cette même quantité, une efficacité anti-*Candida albicans*, avec des DI respectifs de 39mm et 26mm.

Tableau II: Activités antifongiques *in vitro* des **composés 1 à 13** et des substances de référence vis-à-vis de *Candida albicans*

Structure chimique	Composés	R	Diamètre d'inhibition (DI) en mm <i>Candida albicans</i>
 <p>benzimidazolyl-chalcone</p>	1	H	15
	2	2-CH ₃	15
	3	3-CH ₃	16
	4	4-CH ₃	14
	5	4-CH(CH ₃) ₂	16
	6	2-OH	12
	7	3-OH	0
	8	2-OCH ₃	0
	9	3-OCH ₃	16
	10	4-OCH ₃	11
	11	3,4-diOCH ₃	12
	12	2,5-diOCH ₃	12
	13	4-N(CH ₃) ₂	0
Fluconazole			39
Kétoconazole			26

II-DISCUSSION

A la suite de l'évaluation des activités antifongiques des benzimidazolyl-chalcones vis-à-vis d'une souche clinique de *Candida albicans*, nous avons entrepris une discussion de type relation-structure-activité. Dans cette discussion, nous utiliserons le diamètre d'inhibition pour quantifier l'efficacité anti-*Candida* de chaque composé à la quantité seuil de 10 µg. En d'autres termes, un composé sera dit plus efficace lorsque son diamètre d'inhibition est plus grand.

L'analyse des résultats permet d'établir que le **composé 1**, issu de l'accolement de l'hétérocycle benzimidazolique à l'enchaînement fonctionnel arylpropénone, possède effectivement une activité anti-*Candida albicans* à la quantité de 10 µg.

Cette efficacité anti-*Candida albicans* traduit par son diamètre d'inhibition à 15mm corrobore les propriétés anti-infectieuses intrinsèques de l'hétérocycle benzimidazolique et des chalcones [29,35 ,50 ,51 ,58 ,70]. En effet, le noyau benzimidazole possède de remarquables activités antifongiques découvertes par Woolley en 1944 [29]. D'ailleurs, il constitue le support hétérocyclique du chlormidazole, premier antifongique de synthèse totale [41,51].

Quant aux chalcones, leurs multiples propriétés sont liées à la présence de l'enchaînement fonctionnel arylpropénone dans leur molécule respective. En effet, ces composés carbonylés α , β éthyléniques sont capables d'inhiber certaines enzymes à fonction thiol telles que le glutathion *S*-transférase, la cystéine, la kératine à l'origine de leurs nombreuses propriétés biologiques [4, 43].

De plus, en vue d'induire de plus grand diamètre d'inhibition, divers modulateurs d'activités biologiques ont été introduits sur l'homocycle benzénique du **composé 1**. Ces pharmacomodulations permettent d'établir que :



En série des dérivés alkylés : composés 2 à 5

L'introduction d'un groupement faiblement électrodonneur de type alkyle en l'occurrence un méthyle, quelle que soit sa position isomérique sur l'homocycle benzénique conduit, de façon générale, à des activités antifongiques superposables, avec des diamètres d'inhibition autour de 15 mm.

Ainsi, le dérivé orthométhylé (**composé 2**) a induit une efficacité antifongique superposable à celle du **composé 1**, avec un diamètre d'inhibition de 15 mm.

De même, la présence du méthyle en position méta (**composé 3**) conduit à une légère amélioration de l'efficacité antifongique qui se traduit par un élargissement du diamètre d'inhibition à 16mm.L'hypothèse émise pour expliquer cette meilleure efficacité est que le dérivé méta posséderait une conformation structurale stable favorable à l'activité anti-*Candida*.

Quant au dérivé paraméthylé (**composé 4**), celui-ci a induit une efficacité antifongique sensiblement égale à celle du **composé 1**, avec un diamètre d'inhibition de 14 mm.

Par ailleurs, le remplacement de ce méthyle en para par un homologue supérieur plus lipophile de type isopropyle (**composé 5**) conduit à une amélioration de l'efficacité antifongique caractérisé par un diamètre d'inhibition de 16mm.Un tel résultat avec l'isopropyle pourrait trouver son origine dans sa plus grande lipophilie par rapport au groupement méthyle, quand on sait la nature lipidique de la paroi fongique.

Une telle modulation des activités antifongiques par des groupements alkyles, s'avère pertinente avec un groupement méthyle en position méta ou un groupement isopropyle en position para de l'homocycle benzénique.

En série des dérivés hydroxylés et alkylaminés : composés 6 ; 7 ; 13

L'introduction de groupement fortement électrodonneur, en l'occurrence un hydroxyle (**composé 6 et 7**), sur l'homocycle benzénique conduit à une diminution voire une annihilation de l'activité antifongique en fonction de la position isomérique.

En effet, le dérivé ortho hydroxylé (**composé 6**) a induit une diminution de l'activité antifongique, avec un diamètre d'inhibition de 12 mm, tandis que le dérivé méta hydroxylé (**composé 7**) conduit à une annihilation de l'activité antifongique (DI= 0 mm). La meilleure efficacité du dérivé 2-hydroxylé par rapport au dérivé 3-hydroxylé pourrait s'expliquer par la capacité de l'hydroxyle en position 2 de l'homocycle benzénique à former des ponts hydrogènes avec le groupement carbonyle de la propénone ce qui induirait une conformation structurale stable favorable à l'activité anti-*Candida*.

Par ailleurs, la présence d'un groupement *N,N*-diméthylamine (**composé 13**) encore plus électrodonneur que l'hydroxyle conduit à une annihilation de l'activité antifongique (DI=0mm).

La modulation des activités antifongiques par des groupements fortement électrodonneurs de type hydroxylé ou alkylaminé n'est donc pas favorable à l'amélioration des activités antifongiques, car elle conduit à des dérivés moins performants que le **composé 1** (DI=15mm).

En série des dérivés alcoylés : composés 8 à 12

La *O*-méthylation des hydroxyles en méthoxyle pour avoir des groupements moins électrodonneurs que le groupement hydroxyle conduit, de façon générale, à des résultats variables en fonction de la position du méthoxyle sur l'homocycle benzénique.

Ainsi, le dérivé ortho méthoxylé (**composé 8**) conduit à une annihilation de l'activité antifongique (DI= 0 mm).L'absence d'activité antifongique avec le dérivé ortho méthoxylé confirme notre hypothèse selon laquelle la présence de l'hydroxyle en position 2 serait favorable à la formation de pont hydrogène, avec la fonction carbonyle de la propénone pouvant expliquer l'activité anti-*Candida albicans* du dérivé 2- hydroxylé.

Par contre, le dérivé méta méthoxylé (**composé 9**) conduit à une amélioration de l'activité antifongique, avec un diamètre d'inhibition de 16mm contrairement à son analogue méta hydroxylé (**composé 7**) qui n'a présenté aucune activité.

Quant au dérivé para méthoxylé (**composé 10**), celui-ci a induit une diminution de l'activité antifongique se traduisant par un diamètre d'inhibition de 11mm.

Par ailleurs, la duplication des méthoxylés conduit, de façon générale, à une diminution de l'activité antifongique par rapport au **composé 1**.

En effet, la combinaison du dérivé métaméthoxylé (**composé 9**) et paraméthoxylé (**composé 10**) pour obtenir le dérivé 3,4-diméthoxylé conduit à une efficacité moindre, avec un diamètre d'inhibition de 12mm.

Ce même type de résultat est observé avec le dérivé 2,5-diméthoxylé issu de la combinaison du dérivé ortho méthoxylé (**composé 8**) et métaméthoxylé (**composé 9**).

La modulation des activités anti-*Candida albicans* par des groupements alcoylés semble être favorable à une amélioration desdites activités, avec un groupement méthoxylé en position isomérique méta.

Au final, l'élargissement des diamètres d'inhibition, partant l'amélioration des activités antifongiques, nécessite :

-
- la présence de modulateur de type méthyle (**composé 3**) ou méthoxylé (**composé 9**) en position isomérique 3 sur l'homocycle benzénique, ou
 - la présence de modulateur de type isopropyle (**composé 5**) en position 4 de l'homocycle benzénique.

Quoiqu'il en soit, les modulateurs fortement électrodonneurs de type hydroxyle ou alkylamine sont à proscrire pour améliorer les activités antifongiques de nos benzimidazolyl-chalcones.



**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la recherche pharmacochimique de nouvelles chalcones à support benzimidazolique antifongiques, pour contribuer à la lutte contre les infections mycosiques à *Candida albicans*.

L'évaluation des activités antifongiques vis-à-vis de *Candida albicans*, selon la méthode bioautographique, a montré que le benzimidazolyl-chalcone ou **composé 1** possède des activités antifongiques, avec un diamètre d'inhibition de 15mm.

Par ailleurs, lesdites activités sont améliorées voire exaltées par la présence d'un groupement faiblement électrodonneur de type alkyle ou alcoyle (méthoxyle) sur l'homocycle benzénique.

Ainsi, les **composés 1;2 ; 3 ; 5 et 9**, avec des diamètres d'inhibition supérieurs ou égaux à 15 mm, sont capables d'inhiber totalement la pousse de *Candida albicans*. Ces résultats nous permettent de valider le profil chimique hybride de benzimidazolyl-chalcones comme nouveau pharmacophore antimycosique potentiel. Il nous apparaît donc nécessaire de poursuivre ces travaux de recherche par:

- ✓ la détermination des Quantités Minimales Inhibitrices (QMI) de ces molécules sur *Candida albicans*
- ✓ l'évaluation de la tolérance de ces molécules
- ✓ l'extension de l'évaluation antifongique à d'autres espèces de *Candida* tel que *Candida glabrata*
- ✓ l'évaluation de l'activité antifongique sur les souches chimiorésistantes de *Candida*

Les résultats obtenus dans ce travail de thèse ouvrent une nouvelle voie de recherche vers la mise au point de nouveaux médicaments antifongiques, afin de contribuer à la lutte contre les maladies fongiques.

REFERENCES

1. Adjambri A.

Étude de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques des souches de *Candida albicans* isolées des prélèvements vaginaux à Abidjan à l'IPCI (Institut Pasteur de Côte d'Ivoire). 107p.

Th. Pharm. : Abidjan. Université de Cocody, 2005, 1014

2. Andargachew M, Afework K, Belay A et al.

Frequent detection of 'azole' resistant *Candida* species among late presenting AIDS patients in northwest Ethiopia.

BMC Infectious Diseases. 2013 ; 13 : 82

3. Andreas V, Paul V.

Épidémiologie. Tendances actuelles des infections systémiques à *Candida*.

Les candidoses systémiques. France :Optimed (JIDIF), 2001. P.11-13.

4. Awasthi S, Nidhi M, Sandeep K et al.

Antifilarial activity of 1, 3-diarylpropen-1-one: effect on glutathione-S-transferase, a phase II détoxification enzyme.

The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2009; 80(5): 764-768.

5. Barker K S, Crisp S, Wiederhold Net al.

Genome-wide expression profiling reveals genes associated with amphotericin B and fluconazole resistance in experimentally induced antifungal resistant isolates of *Candida albicans*.

J Antimicrob Chemother. 2004 ; 54 (2): 376-385.

6. Blancard A, Moulin-Traffort J, Regli P et al.

Apport du laboratoire dans la surveillance du traitement antifongique par le Fluconazole des candidoses chez les immunodéprimés.

Path Biol. 1991; 39(5): 534-538.

6. Bouchet P, Guinard J, Modulo-Lebond G.

Mycologie générale et médicale : abrégés de pharmacie.

Masson ; Paris 1989 : 108-109

7. Bordais P, Bourrat E.

Ce qu'il faut savoir sur les stomatites érythémateuses de l'enfant. Quot. du Méd. 1999, (6422).(page consultée le 7 janvier 2014)

<<http://www.quotimed.com>>

8. Bryskier A.

Antibiotiques agent antibactériens et antifongiques.

Paris :Ed ellipses,1999. 1216 p.

9. Candidoses générales.(page consultée le 5 Janvier 2014)

<[http// :www.pubmed](http://www.pubmed)>

11. Cota J M, Grabinski J L, Talbert R L et al.

Increases in SLT2 expression and chitin content are associated with incomplete killing of *Candida glabrata* by caspofungin.

Antimicrob Agents Chemother. 2007; 52 : 1144-1146.

12. Cuenca-Estrella M., Lee-Yang W., Ciblak M et al.

Comparative evaluation of NCCLS M27-A and EUCAST broth microdilution procedures for antifungal susceptibility testing of *Candida* species.

AntimicrobAgentsChemother.2002; 46 (11) : 3644-3647.

13 .Dembele B.

Sensibilité *in vitro* aux antifongiques de *Candida albicans* isolés de la sphère oropharyngée de sujets VIH positif et traités par le Kétoconazole à Abidjan. 92p.

Th. Pharm: Abidjan. Université de Cocody, 1999, 508.

14. Develoux M, Bretagne S.

Candidoses et levures diverses.

EMC- Maladies Infectieuses. 2005 ; 2: 119-139.

15. Deveze L.

Agressions fongiques buccales et péribuccales.

Le Biologiste.1987; 21 (171): 445-449.

16. Diallo D.

Ethnopharmacological survey of medical plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Aizoacées), *Diospyros abyssinica* (Ebenacées), *Entada africana* (Mimosacées), *Trichilia aemeticum* (Meliacées). 221p.
Th. Pharm. : Lausanne, Université de Lausanne, 2003
(Page consultée le 7 Janvier 2014).
<<http://www.linkinghub.elsevier.com>>

17. Diallo D, Marston A, Terreaux C et al.

Screening of Malian plants for antifungal, larvicidal, molluscidal, antioxidant and radical scavenging activities.
Phytother Res. 2001 ; 15 : 401-406.

18. Djohan V, Angora K .E, Vanga-Bosson A .H et al.

Sensibilité *in vitro* des souches de *Candida albicans* d'origine vaginale aux antifongiques à Abidjan (Cote d'Ivoire).
Journal de Mycologie Médicale. 2012 ; 22 (2): 129-133.

19. Douchet C., Gelard M., Attingora N et al.

Étude microbiologique effectuée sur 1998 prélèvements vaginaux.
Médecine Tropicale. 1985 ; 45(1) : 59-65.

20. Drouhet E., Dupont B.

Les champignons lévuriformes d'intérêt médical.
Rev d'Information de Diagnostique. 1985 ; 21 : 3-13.

21. Dupont B.

1. L'évolution du monde mycologique. 2. Candidoses en pratiques : diagnostic biologique et traitements.
Paris : Laboratoires SQUIBB, 1984.

22. Dupont B.

Cours de mycologie médicale.
Paris : Institut Pasteur, 1984. (page consultée le 7 Janvier 2014).
<<http://www.pasteur.fr>>

23. Dupont B.

Candidoses, Cryptococcoses, Aspergilloses

Rev générale Roche. Laboratoire Roche (page consultée le 7 Janvier 2014).

<[http : //medecinetropicale.free.fr/cours/mycose_profonde.htm](http://medecinetropicale.free.fr/cours/mycose_profonde.htm)>

24. Edlind T D, Katiyar S K.

Mutational analysis of flucytosine resistance in *Candida glabrata*.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy.2010 ;54(11): 4733-4738.

25. Eloy O., Ghinassia J., yeni P.

Choix et surveillance du traitement des mycoses systémiques: intérêt et limite des tests *in vitro*.

Presse Médicale.1992; 21:937-942.

26. Eric D.

Antifungal resistance in *Candida*: detection and mechanisms.

Rev francophone des laboratoires. 2013; 43 (450) : 71-77.

27.Espinel Ingroff A.

Mechanisms of resistance to antifungal agents: Yeasts

and filamentous fungi. Rev IberoamMicol. 2008; 25: 101-106.

28. Etest[®].

(Étude de la sensibilité des levures aux antifongiques). Détermination de la concentration minimale inhibitrice

2eme Ed. Biomédicals Diagnostics, 1995

29. Fromtling R.

Overview of medically important antifungal azolé derivatives.

Clin Microbiol Rev. 1988 ; 1: 187-217.

30. Gondry J., De Groote P., Boulanger J.C.

Leucorrhée: orientation diagnostique.

Revue du Praticien. 1996 ; 46 : 871-877.

31. Granier F.

Antifongiques : classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance.

EM-Antibiotiques. 2003; 5 (1): 39-48.

32. Hope W W, Taberner L, Denning D W et al.

Molecular mechanisms of primary resistance to flucytosine in *Candida albicans*.

Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48 (11) : 4377-4386.

33. Hutchinson J., Dalziel M.D.

Flora of West Tropical Africa.

London: Crown Agents for over sea Governments and Administrations.

34. Kanafani Z A, Perfect J R.

Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents mechanisms and clinical impact.

Clin Infect Dis. 2008; 46 : 120-128.

35. Khabnadideh S, Rezaei Z, Pakshir K et al.

Synthesis and antifungal activity of benzimidazole, benzotriazole and aminothiazole derivatives.

Research in Pharmaceutical Sciences. 2012; 7(2): 65–72

36. Klep M., Woffe E., Joves R et al.

Antifungal pharmacodynamic characteristic of fluconazole and amphotericin B tested against *Candida albicans*.

Antimicrobien. Agents Chemother.1997; 41: 1935-1937.

37. Lass-Florl C.

The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses. 2009; 52 (3): 197-205.

38. Laverdiere M, Lalonde R G, Baril J G et al.

Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of *Candida albicans* oesophagitis.

Antimicrob Chemother. 2006 ; 57 (4) : 705-708.

39. Les Candidoses buccales.

Le Quot. du Méd., Web-FMC. 2001, 153

(page consultée le 7 Janvier2014).

<<http://www.searchmedica.fr>>

40. Lin M Y, Carmeli Y, Zumsteg J.

Prior antimicrobial therapy and risk for hospital-acquired *Candida glabrata* and *Candida krusei* fungemia: a case-case-control study.

Antimicrob Agents Chemother.2005; 49: 4555-4560.

41. Maertens J. History of the development of azole derivatives.

Clinical Microbiology and Infection. 2004; 10 (1): 1-10.

42. Magill S, Shields C, Sears C L et al .

Résistance croisée aux dérivés triazolés chez *Candidasp*: Observation, fréquence dans les isolats sanguins et implications pour les traitements antifongiques.

Journal de Mycologie Médicale. 2007 ; 17: S1 -S10.

43. Mahama O, Drissa S, Mamidou K, Hervé M et al.

Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid Benzimidazolyl-chalcone derivatives Tropical.

Journal of Pharmaceutical Research. 2011; 10 (6): 767-775.

44. Malani A, Hmoud J, Chiu L et al.

Candida glabrata fungemia: experience in a tertiary care center.

Clin Infect Dis. 2005; 41:975-981.

45. Maligie M A, Selitrennikoff C P.

Cryptococcus neoformans résistance to echinocandins: (1,3) β -glucan synthase activity is sensitive to echinocandins.

Antimicrob Agents Chemother. 2005 ; 49: 2851-2856.

46. Mallie M., Jouvert S., Lebecqj et al.

Valeurs comparées de différentes méthodes d'évaluation de la CMI des antifongiques : sensibilité de *Candida albicans* à l'éconazole.

Bull. Soc. Mycol. Méd. 1983 ; 7 : 155-160

47. Minagi S., Miyake Y., Inagaki K et al.

Hydrophobic interaction in *Candida albicans*, *Candida tropicalis* : adherence to various denture base resin materials.

Infect. Immun. 1985; 47 : 11-1

48. Ministère de la Santé et l'hygiène Publique. Côte d'Ivoire.

Manuel de référence du Ministère de la Santé Publique pour la prévention de la transmission mère enfant du VIH (PTME). Abidjan : MSHP, 2005

49. Morgan J, Meltzer M I, Plikaytis B D, et al.

Excess mortality, hospital stay and cost due to candidemia: A case control study using data from population-based candidemia surveillance.

Infect Control HospEpidemiol. 2005; 26: 540-547.

50. Namrata S, Annamalai P, Kavita R et al.

Benzimidazole: A short review of their antimicrobial activities.

International Current Pharmaceutical Journal. 2012 ; 11 (5) : 119-127.

51. Nowakowska.

A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones.

European Journal of Medicinal Chemistry. 2006, 42 : 125-137.

52. Ouhon J., Enoh J., Adou-Bryn K et al.

Intérêt thérapeutique du sérotypage de *Candida albicans* isolés des prélèvements vaginaux à Abidjan- Côte d'Ivoire.

Méd. Afr. Noire. 1996; 43 (10) : 517-520.

53. Perlin D S.

Résistance to echinocandins class antifungal drugs.

Drug Res. Updates. 2007; 10:121-130

54. Pfaller M A.

Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment.

The American Journal of Medicine. 2012; 125 (1) : S3-S13.

55. Pfaller M A , Diekema D J.

Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem.
Clinical Microbiology Reviews. 2007 ; 20 (1): 133-163.

56. Piens M A, Monbrison F, Picot S.

Étude de la sensibilité des levures aux antifongiques en pratique médicale.
La lettre de l'Infectiologie. 2003 ; 18 (6): 222-226.

57. Poulain D., Feuillade de Chauvin M.

Candidoses et levures diverses.
In Encyclopédie Médicale Chirurgicale.
Paris : Flammarion, 1995. P. 12

58. Rachid Z, Ahmed M, Redouane A et al.

Activités biologiques de dérivés du benzimidazole.
Rev Roumaine de Chimie. 2009; 54 (8): 643–650.

59. Rahalison L, Hamburger M, Monod M et al.

Antifungal tests in phytochemical investigations comparison of bioautographic methods using phytopathogenic and human pathogenic fungi.
Planta Medica. 1994; 60 : 41-44.

60. Rahalison L, Hamburger M, Monod M et al .

A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants.
Phytochemistry Analysis. 1991; 2 :199-203.

61. Sabatelli F, Patel R, Mann P A, et al.

In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts.
Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50 (6) : 2009-2015.

62. Salvat J., Romand P., Vincent-Genod A et al.

Mycoses vulvo-vaginales récidivantes (MVVR). Centre Hospitalier Thonon 74203. (page consultée le 7 Janvier 2014)

<<http://www.gyneweb.fr/sources/congres/aa/ttgyn/ttmyc.html>>

63. Sanglard D, et al.

Résistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences.

Lancet Infect Dis. 2002; 2: 73-85

64. Seguela J. P., Linas M., Bessiere M et al.

Levures et antifongiques : étude de la résistance de certaines souches vis-à-vis de neuf antifongiques.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1983; 12: 169-173.

65. Smagill S, Shields C, Sears C.L et al.

Résistance croisée aux triazolés chez *Candida* sp: observation, fréquence dans les isolats sanguins et implications pour les traitements antifongiques.

Journal de Mycologie Médicale. 2007 ; 17 (1) : 1-10.

66. Tchaou O.

Recensement des travaux sur la valorisation de la pharmacopée traditionnelle africaine à l'université de Cocody Abidjan 1994-1998. 203p.

Th. Pharm: Abidjan. Université de Cocody, 1999, 321.

67. Vandeputte P.

Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida glabrata*. P 17-32.

Th Doc: Angers, 2008, 930

68. Vandeputte P, Laurent P, Gerald L, et al.

Molecular Mechanisms of Résistance to 5-Fluorocytosine in Laboratory Mutants of *Candida glabrata*. Mycopathologia. 2011; 171: 11-21.

69. Vandeputte P, Selene F, Alix T C.

Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections.

International Journal of Microbiology. 2012; 2012: 1-26.

70. Woolley D.

Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines.

Journal of Biological Chemistry.1944; 152: 225-232