

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE  
Union – Discipline - Travail

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année : 2014-2015

N° 1729/15

THÈSE

*Présentée en vue de l'obtention du*

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

*par*

Monsieur N'GUESSAN Kanga Patrick-Aurèle

**Activités anticandidosiques de quatre dérivés  
cycliques d'imidazopyridinyl-cyclohexénones  
vis-à-vis de *Candida albicans*, de *Candida  
tropicalis* et de *Candida glabrata***

*Soutenue publiquement le 22 Juillet 2015*

**COMPOSITION DU JURY**

Président : Monsieur MONNET DAGUI, Professeur Titulaire  
Co-Directeur de thèse : Monsieur OUATTARA MAHAMA, Maitre de Conférences Agrégé  
Co-Directeur de thèse : Monsieur SISSOUMA DRISSA, Maitre de Conférences  
Asseseurs : Monsieur GBASSI K. GILDAS, Maitre de Conférences Agrégé  
: Monsieur DJOHAN VINCENT, Maitre Assistant

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

## I. HONORARIAT

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

## II. 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	Madame NADO M.
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

### III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

#### 1. PROFESSEURS TITULAIRES

Mme AKE Michèle	Dominique	Chimie Analytique
M ATINDEHOU Eugène		Chimie Analytique, Bromatologie
Mme ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.		Biochimie et Biologie Moléculaire
M DANO Djédjé Sébastien		Toxicologie.
Mme KONE BAMBA Diéneba		Pharmacognosie
MM KOUADIO Kouakou Luc		Hydrologie, Santé Publique
	MALAN Kla Anglade	Chimie Ana., Contrôle de qualité
	MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
	MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme SAWADOGO Duni		Hématologie
M YOLOU Séri Fernand		Chimie Générale

#### 2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM ABROGOUA Danho Pascal		Pharmacie Clinique
	AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie moléculaire

Mme AKE EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie moléculaire
MM AMARI Antoine Serge G.	Législation pharmaceutique
AMIN N'Cho Christophe	Chimie analytique
DEMBELE Bamory	Immunologie
GBASSI K. Gildas	Chimie Générale
MM INWOLEY Kokou André	Immunologie
KABLAN Brou Jérôme	Pharmacologie
KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle	Pharmacologie
MM KOUASSI Dinard	Hématologie
LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
OGA Agbaya Stéphane	Santé publique et Economie de la santé
OUASSA Timothée	Bactériologie-Virologie
OUATTARA Mahama	Chimie thérapeutique
YAPI Ange Désiré	Chimie organique, Chimie thérapeutique
YAVO William	Parasitologie – Mycologie
ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

### 3. MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

M DIAFOUKA François Biochimie et Biologie de la  
Reproduction

#### 4. MAITRES ASSISTANTS

Mme BARRO KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
MM BONY François Nicaise	Chimie Analytique
CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
DALLY Laba	Pharmacie Galénique
DJOHAN Vincent	Parasitologie -Mycologie
Mme IRIE N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie
M KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mme KOUASSI AGBESSI Thérèse	Bactériologie-Virologie
MM MANDA Pierre	Toxicologie
MmesPOLNEAU VALLEE Sandrine	Mathématiques Biophysique
SACKOU KOUAKOU Julie	Santé Publique
SANGARE Mahawa	Biologie Générale
SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
VANGA ABO Henriette	Parasitologie-Mycologie
M YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie moléculaire

## 5. ASSISTANTS

MM	ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
	ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
Mmes	AFFI-ABOLI Mihessé Roseline	Immunologie
	AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
MM	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
	ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie
	APETE yah sandrine épouse TAHOU	Bactériologie-Virologie
Mme	AYE YAYO Mireille	Hématologie
	BOKA Paule Mireille épouse A.	Législation Pharmaceutique
MM	BROU Amani Germain	Chimie Analytique
	BROU N'guessan Aimé	Pharmacie Clinique/Thérapeutique
	CABLAN Mian N'Dédey Asher	Bactériologie-Virologie
	COULIBALY Songuigama	Chimie Thérapeutique
Mlle	DIAKITE Aïssata	Toxicologie
M	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
Mme	DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie

M	EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mlle	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
Mme	HOUNSA Annita Emeline Epse Alla Sante Publique	
MM	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
	KACOU Alain	Chimie Thérapeutique
	KOFFI Akissi Joelle épse SIBLI	Biochimie et Biologie moléculaire
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 Denis Rodrigue	Immunologie
	KPAIBE Sawa André Philippe	Chimie Analytique
	KOFFI Kouame	Santé publique
	LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
	N'GBE Jean Verdier	Toxicologie
M	N'GUESSAN Alain	Galénique
Mmes	N'GUESSAN-BLAO Amoin Rebecca J.	Hématologie
M	N'GUESSAN Deto Jean-Paul	Chimie Thérapeutique
	N'GUESSAN Kakwopko Clémence	Galenique



Mme	OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Pharmacognosie
MM	TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mlle	TUO Awa Nakognon	Galenique
	YAO ATTIA Akissi Régine	Santé publique
M.	YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale

## 6. 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

#### IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES

##### 1. PROFESSEURS

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

##### 2. MAITRES DE CONFERENCES

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

##### 3. NON UNIVERSITAIRES

MM.	AHOUSSE Daniel Ferdinand	Secourisme
	DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
Mme	KEI-BOGUINARD Isabelle	Gestion
MM.	KOFFI ALEXIS	Anglais
	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
Professeurs	ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé
	OUASSA Timothée	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KOUASSI AGBESSI Thérèse	Maître- assistante
	CABLAN Mian N'Dédey Asher	Assistant
	DOTIA Tiepordan Agathe	Assistante
	LATHRO Joseph Serge	Assistant
	APETE yah sandrine épse TAHOU	Assistante

## **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 Agrégé
	DIAFOUKA François	Maître de Conférences
Docteurs	YAYO Sagou Eric	Maître- assistant

KONAN Konan Jean Louis                      Assistant

KONE Fatoumata                                      Assistante

KOFFI Akissi Joelle épouse SIBLI                      Assistante

**III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET  
IMMUNOLOGIE**

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

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

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire
		Chef de Département
Professeurs	MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire
	AKE Michèle	Dominique Professeur Titulaire
	YOLOU Séri Fernand	Professeur Titulaire
Professeurs	AMIN N'cho Christophe	Maître de Conférences Agrégé
	GBASSI K. Gildas	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	BONY Nicaise François	Maître-assistant
	BROU Amani Germain	Assistant
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Assistant
	TRE Eric Serge	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
	N'GUESSAN Deto Jean-Paul	Assistant

COULIBALY Songuigama

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

KASSI Kondo Fulgence

Maître-assistant

VANGA ABO Henriette

Maître-assistante

ANGORA Kpongbo Etienne

Assistant

KONATE Abibatou

Assistante

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

Professeur KOFFI Armand A.

Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Professeur AMARI Antoine Serge G.

Maître de Conférences Agrégé

Docteurs DALLY Laba Ismaël

Maître-assistant

AKA-ANY Grah Armelle A.S.	Assistante
N'GUESSAN Alain	Assistant
BOKA Paule Mireille épouse A.	Assistante
N'GUESSAN Kakwopko C.	Assistante
TUO Awa Nakognon	Assistante

**VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOGRAMIE,**

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

**IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE, ET PHYSIOLOGIE HUMAINE**

Professeurs	KABLAN Brou Jérôme	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de Département
	ABROGOUA Danho Pascal	Maître de Conférences Agrégé
	KOUAKOU SIRANSY N'doua G.	Maître de Conférences Agrégé



Docteurs	IRIE N'GUESSAN Amenan G.	Maître-assistante
	AMICHIA Attoumou M.	Assistant
	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Assistant
	EFFO Kouakou Etienne	Assistant
	KAMENAN Boua Alexis	Assistant
	KOUAKOU Sylvain Landry	Assistant
	BROU N'GUESSAN Aime	Assistant

**X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE**

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteur	POLNEAU VALLEE Sandrine	Maître-assistante

**XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE**

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de département
	DANO Djédjé Sébastien	Professeur Titulaire
	OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane	Maître-assistant
	MANDA Pierre	Maître-assistant

SANGARE TIGORI B.	Maître-assistante
SACKOU KOUAKOU J.	Maître-assistante
DIAKITE Aissata	Assistante
HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Assistante
YAO ATTIA Akissi Régine	Assistante
N'GBE Jean Verdier	Assistant
KOFFI Kouame	Assistant

# INTRODUCTION

Les candidoses sont présentes dans toutes les régions du globe et sont dues à des levures ubiquitaires appartenant au genre *Candida*. Ces levures peuvent provoquer des infections superficielles (touchant les muqueuses et la peau) et des infections viscérales. Les levures du genre *Candida* sont responsables de la majorité des infections fongiques graves disséminées observées notamment chez les patients Immunodéprimés (en soins intensifs, sous chimiothérapie, en attente d'une transplantation, atteints de VIH Sida...) [1-4]. Depuis une vingtaine d'années l'incidence de ces candidoses n'a cessé d'augmenter avec un taux de mortalité des mycoses invasives très élevé variant selon les études de 40 à 60% [1, 5-10]. En effet, chaque année, plus de 400.000 cas sont recensés mondialement, provoquant ainsi environ 200.000 décès [4].

Cette incidence croissante des mycoses invasives et l'utilisation précoce des antifongiques, notamment chez les patients immunodéprimés et/ou de réanimation, a conduit à un accroissement très net de la prescription des antifongiques; entraînant le risque d'émergence de souches de sensibilité diminuée ou résistantes aux antifongiques traditionnels [10, 11].

La prise en charge médicamenteuse des candidoses, aujourd'hui centrée sur l'utilisation en première ligne des Azolés notamment du Fluconazole [12-17], se heurte à une forte chimiorésistance de certaines souches de *Candida* [18-24]. Si *Candida albicans* demeure l'espèce la plus présente dans les isolats, son impact épidémiologique a baissé au profit de nouvelles espèces émergentes de *Candida* telles que *Candida glabrata* et *Candida tropicalis* [1].

Face à ces nouveaux enjeux d'intérêt sanitaire et afin d'éviter une propagation de la chimiorésistance à d'autres espèces, plusieurs stratégies peuvent être envisagées :

1. l'application de mesures d'hygiène appropriées,

2. l'usage rationnel des antifongiques actuellement disponibles,
3. la mise au point de nouveaux antifongiques plus efficaces et capables de contourner la chimiorésistance induite par les espèces de *Candida*.

C'est en application de cette dernière stratégie que se situe le présent travail dont les fondements se trouvent dans les travaux antérieurs du Département de Chimie Thérapeutique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. En effet, ces travaux de pharmacochimie ont permis d'établir le potentiel antifongique des arylpropénones à support imidazopyridine vis-à-vis de *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida tropicalis* [25, 26]. De fait, il nous a donc semblé opportun d'évaluer toujours en série imidazopyridine, les activités antifongiques des cyclohexénones qui sont des arylpropénones cyclisés; et ce dans l'optique de mimer la structure chimique des flavonoïdes. C'est pourquoi, nous nous sommes fixés comme objectif général d'établir une corrélation entre le profil chimique de ces dérivés imidazopyridinyl- cyclohexénones et les activités obtenues, afin de sélectionner de futurs candidat-médicaments anticandidosiques. De façon spécifique, nous avons pour objectifs de:

1. déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des nouvelles imidazopyridinyl-cyclohexénones vis-à-vis de *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida tropicalis*,
2. établir les éléments structuraux favorables à l'apparition, au maintien voire à l'amélioration des activités anticandidosiques.

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

1. la première est relative à la revue de littérature sur les candidoses et leur épidémiologie. Cette même revue abordera la classe chimique des Azolés antifongiques, la résistance fongique à ces médicaments ainsi que leur utilisation dans la prise en charge thérapeutique des candidoses.

2. la seconde partie, de type expérimentale, abordera successivement :
  1. la description de la méthodologie d'évaluation antifongique,
  2. la présentation des résultats obtenus, suivie de discussion de type relation structure-activité.

Notre travail s'achèvera par une conclusion ainsi que les perspectives qui en découlent.

*Première partie :*

**CANDIDOSES ET CHIMIOOTHERAPIE**

## **I. GENERALITES SUR LES CANDIDOSES**

### **I.1. Définition**

Les candidoses sont des infections fongiques cosmopolites à localisation superficielle ou profonde, provoquées par des levures du genre *Candida*. L'espèce la plus fréquente à savoir *Candida albicans*, fait partie de la flore habituelle de l'oropharynx et du tube digestif. Elle peut aussi être présente en faible quantité dans la flore vaginale normale. [27, 28]

### **I.2. Différents types de candidoses**

Les candidoses sont le plus souvent classées en fonction de leur localisation. Ainsi l'on distingue les candidoses superficielles et les candidoses profondes ou systémiques. [27, 28]

#### **I.2.1. Candidoses superficielles**

Les candidoses superficielles sont localisées au niveau du revêtement cutané, des ongles et des muqueuses. Elles peuvent être chroniques ou aiguës. [27]

##### **I.2.1.1. Candidoses de la peau et des ongles**

Ces candidoses se présentent sous plusieurs formes cliniques à savoir l'intertrigo à *Candida*, la folliculite à *Candida* et l'onychomycose. [27]



## 1. L'intertrigo à *Candida*

Ce type de mycose siège au niveau des grands plis cutanés (inter fessiers, inguinaux, sous-mammaires, axillaires...) ou des petits plis cutanés (interdigitaux des mains ou des pieds). Ce type d'intertrigo se manifeste par un érythème suintant, lisse, prurigineux et parfois douloureux. Il débute au fond du pli puis il s'étend. Les bords sont irréguliers avec des papules ou pustules satellites. Le fond du pli est parfois recouvert d'un enduit blanchâtre. L'évolution est chronique et récidivante chez le sujet obèse, le diabétique et les individus en contact permanent avec l'eau [27, 28].

## 2. Folliculites à *Candida*

Ces mycoses siègent à la barbe, au cuir chevelu ou dans les régions poilues fréquemment couvertes comme le thorax. Ce sont des lésions à types de papules folliculaires ou pustules touchant les zones séborrhéiques. Elles sont particulièrement associées à l'héroïnomanie [27].

### 1. Onychomycose à *Candida*

Elle atteint préférentiellement les ongles des doigts mais ces atteintes sont rares aux orteils. Elle débute par un périonyxis et se traduit par une tuméfaction tendue, érythémateuse parfois douloureuse, entourant la tablette unguéale. La pression de l'œdème fait sourdre une sérosité, voire du pus. L'atteinte de l'ongle est secondaire; des dépressions transversales de son bord apparaissent au fur et à mesure des poussées évolutives. Un autre type d'atteinte est l'onycholyse dans laquelle la tablette de l'ongle n'adhère plus à son lit. Elles sont le plus souvent chroniques chez la femme ménagère ayant un contact prolongé avec l'eau [27].

### **I.2.1.2.Candidoses des muqueuses**

Ces candidoses se manifestent au niveau digestif, génital et urinaire.

#### **2. Candidoses de l'appareil digestif**

Il s'agit de mycose insidieuse qui se traduit par un état érythémateux inflammatoire. Ces candidoses atteignent un ou plusieurs segments du tube digestif à savoir l'oropharynx, l'œsophage et la muqueuse gastro-intestinale [27, 28].

#### **3. Candidoses oropharyngées**

Les manifestations les plus fréquentes de ce type de candidose sont le « muguet » et la perlèche. En ce qui concerne le muguet, c'est une forme pseudomembraneuse localisée à la face interne des joues. Il peut intéresser toutes les muqueuses orales, et envahir le pharynx et l'œsophage chez l'immunodéprimé [27]. Il débute par un érythème de la muqueuse, conduisant à des granulations blanchâtres qui vont confluer, pour donner des membranes blanc-jaunâtres d'où le nom de «muguet». Il est particulièrement fréquent chez le sujet infecté par le VIH où il est plus ou moins envahissant. Les signes fonctionnels sont une sécheresse, une sensation de goût métallique et de cuisson de la bouche [27]. L'importance des signes fonctionnels chez les personnes vivants avec le VIH peut conduire à une réduction des apports nutritionnels liquides et solides majorant ainsi l'état de dénutrition. Quant à la perlèche ou chéilite angulaire, elle peut être uni ou bilatérale, il s'agit d'un intertrigo localisé au niveau de la commissure labiale. Elle correspond à une inflammation de la commissure labiale qui devient érythémateuse, fissurée, squameuse ou croûteuse

pouvant s'étendre à la peau adjacente et au reste de la lèvre. Elle évolue souvent sous le mode subaigu ou chronique [27].

#### **4. Candidoses œsophagiennes**

Elles sont localisées au niveau de l'œsophage et surviennent généralement après une candidose oropharyngée surtout chez le sujet atteint du SIDA. Elles se présentent sous forme d'œsophagite avec dysphagie, brûlures rétrosternales, hoquet et anorexie. La candidose œsophagienne est l'une des infections opportunistes les plus fréquentes au cours de l'infection du SIDA [27].

#### **5. Candidoses gastro-intestinales**

Ce genre de mycose provoque des ulcérations au niveau des muqueuses gastriques et intestinales à l'origine de diarrhées fréquentes, inodores et liquides, pouvant entraîner des déshydratations notamment chez le nourrisson. Ce type de candidose est fréquent chez les sujets ayant reçu une antibiothérapie en particulier aux âges extrêmes de la vie [27].

#### **6. Candidose anale**

Cette infection mycosique se manifeste en particulier dans la zone péri anale et peut s'étendre aux fesses et aux plis inguinaux. Elle se traduit par un prurit intense avec une sensation de brûlure et un érythème suintant. Elle est fréquente chez les nourrissons où l'atteinte s'installe volontiers sur une dermatite préexistante (dermatite fessière du nourrisson) [27, 28].

## 7. Candidoses génitales

Ce type d'infection fongique est représenté essentiellement par les candidoses vulvo-vaginales chez la femme et par les balanites chez l'homme [27, 28].

## 8. Vulvo-vaginites candidosiques

Localisées au niveau vulvaire et au niveau de la muqueuse vaginale, ces mycoses sont caractérisées par un prurit et des brûlures associés à des leucorrhées d'abondance variable classiquement blanchâtres et « caillebotées » [27, 28]. Cependant, cet aspect n'est pas toujours retrouvé et les leucorrhées peuvent être absentes. Une dysurie et une dyspareunie sont souvent signalées. L'examen clinique peut retrouver un érythème et un œdème de la vulve, parfois des fissures ou des excoriations [27].

## 9. Balanites candidosiques

Elle est parfois compliquée par une urétrite ou une cystite. Le début se fait dans le sillon balano-préputial par un érythème qui va intéresser le gland et le prépuce. De petites vésicules sont présentes à leur surface, ainsi que des papules avec souvent des plaques blanchâtres. L'éruption peut s'étendre au pénis, au scrotum et à l'aîne chez l'obèse [27].

### 1. Candidoses urinaires

Les atteintes candidosiques de l'appareil urinaire se caractérisent par des infections urinaires hautes (rein et uretères) ou basses (vessie et urètre). Les localisations symptomatiques de l'appareil urinaire bas sont rares et se traduisent par des signes d'irritation vésicale avec dysurie, hématurie et douleurs sous-pubiennes. Les infections hautes, ascendantes, sont indiscernables des pyélonéphrites bactériennes; elles sont favorisées par une lithiase. La candidurie asymptomatique est le cas de figure prédominant. Elle concerne des patients hospitalisés le plus souvent sondés et est alors liée à la colonisation de la sonde urinaire. La candidurie peut être le premier signe d'une colonisation profonde ou disséminée [27, 28].

### I.2.2. Candidoses profondes ou systémiques

Les candidoses profondes sont des infections fongiques dues au passage de la levure du genre *Candida* dans le sang, point de départ de leur propagation à d'autres organes. Ainsi, on distingue trois types de candidoses systémiques à savoir: les candidémies, les candidoses invasives et les candidoses disséminées. Les candidémies sont des infections du sang par les levures du genre *Candida* tandis que, les candidoses invasives correspondent à l'atteinte d'un seul organe ne comportant pas habituellement de souche de *Candida*. Quant aux candidoses

disséminées, elles sont caractérisées par l'atteinte d'au moins deux organes non contigus ne comportant pas de *Candida* normalement [27].

La symptomatologie des infections systémiques à *Candida* n'est pas spécifique. Ces infections fongiques systémiques se manifestent habituellement par une fièvre persistante et ne répondent pas à une antibiothérapie à large spectre [27].

A cela, il faut ajouter une dégradation de l'état général associée à des douleurs diffuses et une leucocytose. Cet état peut entraîner un choc septique conduisant à la mort du patient. Ces candidoses surviennent surtout chez des patients hospitalisés dans les unités de soins intensifs et spécialisés [27].

## **II. EPIDEMIOLOGIE ET IMPACT DES CANDIDOSES SUR LA SANTE PUBLIQUE**

L'épidémiologie des candidoses a considérablement évolué ces dernières années avec l'apparition d'infections invasives et de nouvelles espèces non-*albicans*, notamment, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis* [29-31]. Certaines de ces espèces sont résistantes ou de sensibilité diminuée aux différentes classes d'antifongiques [18-23, 32-40]. Elles ont un impact majeur sur la mortalité et la morbidité, ainsi que sur la durée et le coût de l'hospitalisation des patients [10, 36]. De plus, l'augmentation des patients immunodéprimés et les transplantations d'organes, ont accentué l'incidence des candidoses [31].

## II.1. Incidence des candidoses sur la santé publique

Depuis une vingtaine d'année, l'incidence des candidoses ne cesse d'augmenter. Cette augmentation est plus prononcée chez les groupes de patients spécifiques, en particulier ceux hospitalisés en réanimation. Une augmentation similaire est également notée dans les études basées sur la population.

Des études de surveillance de la population déclarent en effet que, l'incidence des infections à *Candida* notamment des candidoses invasives est de huit pour 100 000 habitants (8 /100 000) par an [1] soit plus de 400 000 cas recensés chaque année [2]. En dépit des progrès pour le diagnostic et le traitement des candidoses, ces infections possèdent encore un taux de mortalité élevé qui varie selon les études entre 40 et 60% [1, 5-10]. L'incidence de ces candidoses invasives varie d'un pays à l'autre. Pour l'illustrer, des études aux Etats-Unis d'Amérique signalent des taux d'incidence plus élevés (entre 8 et 26 /100 000 habitants) [1, 37, 38] par rapport à ceux des pays européens dans lesquels l'incidence des candidoses invasives est généralement moins élevé (en France, en Espagne, en suède il est environ de 4 /100 000 habitants) [1, 6, 7, 10] sauf pour le Danemark (environ 9 /100 000 habitants) [1, 38] où le taux est en effet proche de celui des États-Unis d'Amérique. En plus de l'augmentation de la fréquence de ces infections, il y a également une modification de la répartition de l'incidence des agents pathogènes.

## II.2. Distribution des espèces de *Candida*

Il a été déterminé que dans 95% des infections, les agents pathogènes en cause sont *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* et *Candida krusei*. Parmi ces espèces, *Candida albicans* est encore l'agent pathogène le plus fréquent en dépit d'une diminution de son incidence.

Récemment, de nouveaux agents antifongiques et de nouvelles stratégies de thérapie telles que la prophylaxie antifongique, le traitement préemptif et le traitement empirique ont commencé à être utilisés [1, 5]. Ces changements ont entraîné une modification des espèces de *Candida*, causant les infections invasives [1, 10]. L'incidence de *Candida albicans* a diminué dans de nombreux pays, en particulier chez les patients atteints de troubles immunosuppresseurs, tandis que celle des espèces autres que *Candida albicans* a augmentée. Jusqu'à récemment, *Candida albicans* était responsable de la majorité des infections. Cependant, les infections acquises dans les hôpitaux et dans la collectivité par des espèces non-*albicans* sont devenues plus fréquentes aujourd'hui. Les études mondiales font état d'une diminution de l'ordre d'environ 20% des cas de candidoses invasives causées par *Candida albicans*; entre la fin des années 1990 et 2010, leur taux est en effet passé de 65% à 44%. Cependant, une augmentation de l'incidence de *Candida tropicalis* (de 7 à 11%) de *Candida parapsilosis* (de 6 à 17%) et de *Candida glabrata* (11 à 18%) est observée [1].

### II.2.1. Incidence des espèces de *Candida* à travers le monde.

Hormis *Candida albicans*, qui malgré une baisse de sa fréquence reste l'espèce la plus présente dans les isolats dans toutes les régions du globe, les résultats de quelques études relatives à la fréquence des candidoses montrent que l'incidence de *Candida* varie selon les régions géographiques. Par exemple, l'incidence *Candida glabrata* est forte en Amérique du nord (environ 29% des isolats) [1, 37, 38], alors que les espèces les plus couramment observées en Amérique latine et dans les pays d'Asie-Pacifique sont *Candida tropicalis* (entre 17 et 27% des isolats en Amérique latine et entre 17 et 27% dans certain pays d'Asie pacifique) et *Candida parapsilosis* (16 à 24 % des isolats dans certains pays d'Asie pacifique et entre 14,1 et 38,5 en Amérique latine) [1, 39-41]. En ce qui



concerne l'Europe, dans son ensemble, *Candida glabrata* (avec des taux pouvant aller jusqu'à 25,8% en Angleterre) [1, 42] et *Candida parapsilosis* (jusqu'à 46,8% en Espagne) [1, 7] sont parmi les agents pathogènes les plus courants. L'incidence de *Candida parapsilosis* est aussi significativement plus forte dans les pays méditerranéens [1, 6, 7]. En Afrique subsaharienne, *Candida albicans* demeurent l'espèce la plus rependue. Des études menées en Cote d'Ivoire, au Sénégal, au Burkina faso et au Gabon montrent en effet que cette espèce représente 80 à 84% des isolats [43, 44, 45, 46, 47]. Même si elle est en constante évolution l'incidence des autres espèces demeure faible, notamment celle de *Candida Glabrata* (6.9 % des isolats) et de *Candida Tropicalis* (1,9 % des isolats) [44].

## II.2.2. Distribution des espèces dans les populations à risque

L'isolement et le taux de détection des espèces non-*albicans* varient selon les caractéristiques (l'âge, les maladies sous-jacentes, l'hospitalisation, etc) de la population et des patients. Pour l'illustrer, *Candida parapsilosis* cause 30% des cas de candidémie chez les nouveau-nés, tandis que le taux est de 10-15% chez les adultes. *Candida glabrata* est un des agents infectieux les plus communs chez les patients âgés et néoplasiques. *Candida tropicalis* est plus communément observé chez les patients atteints de leucémie et les patients neutropéniques. *Candida parapsilosis* colonise la peau, et peut causer des infections liées au cathéter. *Candida krusei* est plus fréquent chez les patients bénéficiaires de souches hématopoïétiques cellulaires ou chez les patients atteints de leucémie neutropéniques ayant reçu le Fluconazole en prophylaxie [1, 5, 48].

## **II.3. Facteurs de risque de survenue de quelques candidoses**

### **II.3.1. Cas des candidoses profondes**

Les facteurs favorisant la survenue des candidoses sont multiples. Les candidoses profondes sont favorisées par deux types de facteurs, les facteurs extrinsèques tout d'abord tels que l'utilisation des cathéters centraux, la nutrition parentérale totale, les interventions chirurgicales notamment la chirurgie digestive, l'utilisation des traitements antibiotiques (pré-exposition aux anticandidosiques comme le fluconazole et certaines échinocandines par exemple) ou immunosuppresseurs (anticancéreux, corticothérapie), les longs séjours en soins intensifs. Ensuite les principaux facteurs liés à l'hôte sont des maladies sous-jacentes entraînant une immunodéficience (VIH-Sida), la neutropénie, l'âge (vieillesse, prématurés) [1, 49].

### **II.3.2. Cas des candidoses oropharyngées**

Elles sont favorisées par toute altération de la muqueuse buccale consécutive au port d'une prothèse, par la survenue d'un cancer et à une ulcération due à des cytotoxiques anticancéreux. D'autres facteurs notamment la corticothérapie, les antibiotiques à large spectre et les traitements immunosuppresseurs facilitent aussi la survenue de cette infection. Les candidoses oropharyngées sont les formes les plus courantes chez les personnes vivant avec le VIH. Ainsi environ 80% de ces patients développent une candidose orale à tous les stades de la maladie. [50]

Le passage vers une candidose clinique est l'un des meilleurs marqueurs de l'évolution de la maladie. L'importance des signes fonctionnels chez les personnes vivant avec le VIH conduit à une réduction des apports liquides et solides majorant la dénutrition et peut être responsable d'une inobservance du traitement [27]. Une étude récente menée en Côte d'Ivoire chez 151 personnes vivant avec le VIH et porteuses de candidoses oropharyngées a montré la prédominance de l'espèce *Candida albicans* [43].

### **II.3.3. Cas des candidoses cutanées**

Les candidoses cutanées sont des formes de mycoses communes favorisées par l'humidité et la macération. L'atteinte se fait préférentiellement au niveau des plis chez le sujet en surpoids [27]. Cette forme clinique peut résulter de l'extension d'une candidose digestive ou génitale où l'on retrouve des facteurs favorisants comme le très jeune âge, les personnes âgées, le diabète, la prise d'antibiotiques et de corticoïdes [27]. En outre, certaines professions et occupations favorisent la survenue d'un intertrigo à *Candida* localisé au niveau des mains, c'est le cas chez les cuisiniers, les aides ménagères et les blanchisseurs [27].

### **II.3.4. Cas des onychomycoses à *Candida*,**

Dans les onychomycoses à *Candida* la prédominance féminine est nette. En effet, les femmes sont plus exposées aux principaux facteurs de risque locaux en raison des contacts prolongés, répétés avec l'eau et les produits d'entretien et de l'abus des soins de manucure. La contamination due le plus souvent à l'espèce *Candida albicans*, résulte d'une auto-inoculation à partir d'un foyer digestif ou génital [27].

### II.3.5. Cas des candidoses vulvo-vaginales

La candidose vulvo-vaginale est l'une des infections gynécologiques les plus fréquentes chez la femme en période d'activité sexuelle. On estime qu'entre 40 % et 75% des femmes connaîtront au moins un à plusieurs épisodes de candidose vaginale durant leur vie [51]. Rare avant la puberté, sa prévalence décroît après la ménopause, sauf chez les femmes sous traitement hormonale de substitution. De plus la candidose vaginale est suspectée de favoriser l'infection du VIH chez les femmes à cause de la réaction inflammatoire au niveau de la muqueuse [50].

Au vue de ce qui précède nous pouvons affirmer que les infections candidosiques constituent un véritable problème de santé publique car elles touchent de nombreuses couches sociales professionnelles et affectent aussi bien les sujets immunocompétents que les sujets immunodéprimés. De plus, elles compliquent la prise en charge thérapeutique et nutritionnelle de personnes vivant avec VIH.

### III. GENERALITES SUR TROIS ESPECES DU GENRE CANDIDA

Les espèces du genre *Candida* sont des levures asexuées classées parmi les fungi imperfecti [52]. Ce genre comporte environ 248 espèces et 8 biovars dont actuellement 23 espèces ont été reconnues pathogènes pour l'homme [53]. L'espèce prédominante à savoir *Candida albicans* est le plus souvent isolée au niveau des muqueuses vaginales et/ou oropharyngées. A côté de cette espèce, d'autres émergentes telles que *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr*, *Candida lusitanae*, ont vu leur prévalence modifiée au fil des années [53].

Même si *Candida albicans* reste la levure la plus souvent en cause, son statut est passé d'un quasi monopole dans les années 1970 à une faible majorité dans les années 1990. L'ensemble des espèces non *albicans* représente maintenant un peu moins de 50 % des infections sévères avec *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, représentant chacun 10 à 20 % des espèces suivant les études [53].

#### III.1 Généralités sur *Candida albicans*

L'espèce *Candida albicans* est une levure cosmopolite, commensale des muqueuses oro-pharyngées, gastro-intestinales et génito-urinaires. Elle peut occasionnellement coloniser la peau [52].

### III.1.1 Morphologie, organisation cellulaire et moléculaire

C'est une levure non capsulée, non pigmentée et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes, se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère, formant ainsi des colonies blanches crémeuses [49]. Au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15  $\mu\text{m}$ , et est caractérisée par un polymorphisme qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire. En effet, certains paramètres tels que le pH, la température ou encore la richesse du milieu de culture influencent l'aspect morphologique que peut prendre *Candida albicans*. Ainsi, trois aspects morphologiques peuvent être rencontrés : la forme blastospore, ronde ou ovale, la forme pseudomycélium et la forme mycélium vrai, champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *Candida albicans* (**figure 1**) ; Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte [49].

*Candida albicans* possède tous les organites intracellulaires caractéristiques des eucaryotes à savoir, un noyau, délimité par une double membrane nucléaire et renfermant huit chromosomes, un nucléole, un réticulum endoplasmique, un appareil de Golgi. La seule structure différenciant la levure d'une cellule eucaryote « classique » est la présence d'un système vaculo-vésiculaire, évoluant en relation avec le cycle cellulaire et la division, et impliqué en majeure partie dans la synthèse de la paroi [49].



**Figure 1** : Aspect microscopique de *Candida albicans* [54]

### III.1.2 Mécanismes de pathogénicité et facteurs de virulence

De façon générale, le rôle infectieux de *Candida albicans*, pathogène opportuniste, semble favorisé par une combinaison de facteurs liés aux statuts immunologique et physiologique de l'hôte, ainsi qu'à des facteurs liés au microorganisme, plutôt qu'à un facteur de virulence unique. Les infections candidosiques sont ainsi probablement initiées par une diminution des défenses de l'hôte, qui modifie l'équilibre de commensalisme au profit de la levure, et entraîne le basculement du stade de colonisation à celui de l'infection [49].

Les infections de la peau et des muqueuses telles que les candidoses vaginales par exemple, sont principalement dues à des modifications du pH et de l'environnement microbien. Alors qu'une atteinte systémique est habituellement associée à une insuffisance des défenses de l'hôte, telle que celle présentée par les patients hospitalisés en cancérologie soumis à une chimiothérapie ou à une antibiothérapie à large spectre [49]. La séquence des événements qui contribuent à l'installation de *Candida albicans* chez son hôte peut se résumer en trois étapes clés, à savoir l'adhérence et colonisation, l'invasion au niveau des tissus et enfin la multiplication et survie chez l'hôte [49]. Plusieurs facteurs peuvent

expliquer la virulence de *Candida albicans* :

1. L'adhérence aux surfaces
2. La formation de mycéliums vrais et de pseudomycéliums
3. L'interférence avec la phagocytose
4. L'interférence avec le complément
5. Les enzymes

### III.2 Généralités sur *Candida glabrata*

Anciennement appelé *Torulopsis glabrata*, *Candida glabrata* est une levure haploïde qui ne présente pas de dimorphisme. Jusqu'à récemment, on pensait que *Candida glabrata* n'était pas un pathogène. Toutefois, avec l'augmentation du nombre de patients immunodéprimés (HIV positifs, transplantés, patients soumis à une chimiothérapie...), il s'est avéré que *Candida glabrata* est un pathogène opportuniste du tractus urogénital. De plus, lorsque *Candida glabrata* s'infiltré dans le flux sanguin, il peut y avoir le développement d'une candidémie [55].

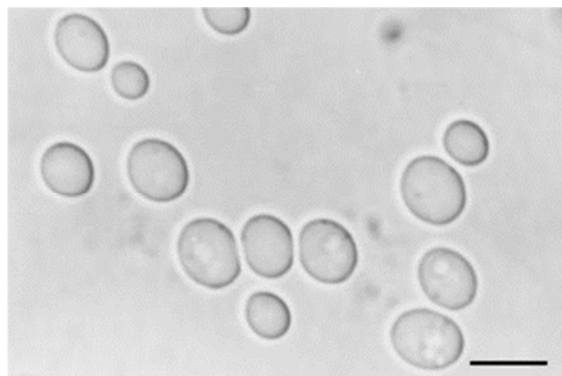
#### III.2.1 Morphologie

L'espèce *Candida glabrata* est organisée en 13 chromosomes nucléaires qui comportent tous un centromère. *Candida glabrata* se présente sur milieu standard (Agar-Agar) sous la forme de colonies lisses et brillantes de couleur blanc ou crème. Cette espèce qui se présente uniquement sous forme de levure, produit de petites blastospores ovoïdes de 1 à 4 µm, se multipliant par



bourgeonnement. L'absence de filaments mycéliens est caractéristique (**figure 2**).

Le génome mitochondrial de *Candida glabrata* est un des plus petits génomes mitochondriaux connus chez les héli-ascomycètes. La principale particularité de ce génome mitochondrial est son caractère non-indispensable. En effet, par opposition aux autres levures du genre du genre *Candida*, la perte totale ou partielle du génome mitochondrial est viable chez *Candida glabrata*, et représenterait même un avantage sélectif en présence d'antifongiques azolés, puisque cette petite mutation s'accompagne d'une résistance à ces antifongiques par surexpression des protéines d'efflux de type ABC [55].



**Figure 2** : Aspect microscopique de *Candida glabrata* [56]

### III.2.2 Pathogénicité et facteurs de virulence

*Candida glabrata* est considéré comme un constituant naturel de la flore microbienne des muqueuses des mammifères et n'est en revanche pas retrouvée dans l'environnement. Si cette espèce était considérée à l'origine comme non pathogène, elle est devenue aujourd'hui la deuxième espèce en fréquence dans les candidoses, après *Candida albicans*. En outre, les candidoses à *Candida*

*glabrata* sont associées à un taux de mortalité particulièrement élevé dans les formes systémiques [55].

L'absence de croissance mycélienne et d'expression de certains antigènes de surface dont le rôle dans la virulence a été démontrée chez *Candida albicans*, ainsi que la faible capacité d'adhérence aux cellules endothéliales, ne laissent pas présager une virulence élevée chez *Candida glabrata*. Pourtant, le pronostic vital des patients présentant une candidose profonde ou systémique ou une septicémie à *Candida glabrata* est souvent compromis [55].

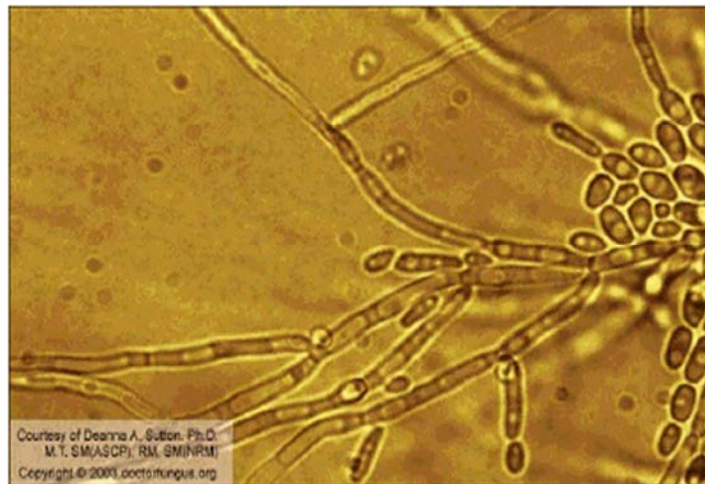
La première raison est certainement la faible sensibilité de cette espèce aux antifongiques azolés, dont l'utilisation prophylactique est à l'origine non seulement de l'augmentation de l'incidence de *Candida glabrata*, mais également de la sélection fréquente d'isolats résistants à ces antifongiques. En effet des azolés tels que le Fluconazole ou le Kétoconazole sont inefficaces dans 15 à 20 % des cas contre *Candida glabrata*. Par contre, *Candida glabrata* reste très sensible à l'action des polyènes (Amphotéricine B, nystatine) et des drogues comme la 5-Fluorocytosine et la Caspofongine qui présentent une efficacité variable [55].

Plusieurs facteurs dont le rôle dans la virulence a été démontré pour d'autres espèces ont été identifiés chez *Candida glabrata*.

1. La capacité d'adhérer aux cellules de l'hôte. Ce mécanisme est impliqué dans la formation de biofilm sur les cathéters et sur les prothèses dentaires.
2. La sécrétion d'hydrolases qui déterminent ses capacités d'envahissement des tissus de l'hôte.
3. La production d'enzyme à activité hémolytique [55].

### III.3 Généralités sur *Candida tropicalis*

Cette levure a une forme variable, ronde à allongée et ces colonies poussent rapidement. Elles sont crémeuses, blanches, lisses ou légèrement plissées [57] Le pseudomycélium peut être absent, rudimentaire ou abondant et il y a parfois présence de vrai mycélium (**figure 3**). La reproduction se fait par bourgeonnement multilatéral. Un milieu chromogène (*albicans ID*) permet de les identifier, les colonies sont de couleur rose. *Candida tropicalis* est isolé dans la nature, le sol, les végétaux et l'eau. Son pouvoir pathogène est comparable à celui du *Candida albicans* [58, 59].



**Figure 3** : Aspect microscopique de *Candida tropicalis* [60]

## IV. CHIMIOThERAPIE ANTI-CANDIDA : LES AZOLES ANTIFONGIQUES

### IV.1 Définition - Structure

Les azolés constituent une famille relativement homogène d'antifongiques de synthèse totale, possédant des activités thérapeutiques de nature fongistatique. Du point de vue de leur constitution chimique, ils possèdent tous dans leurs molécules respectives un hétérocycle pentagonal porteur de deux atomes d'imidazole ou trois atomes d'azote (triazole) d'où leur nom d'azolé. Cet hétérocycle azoté est le plus souvent relié à une chaîne latérale de type  $\beta$ -arylalkyloxy  $\beta$ -dichlorophényléthyl au niveau de l'atome d'azote en position 1 (Figure 4) [28, 35, 61].

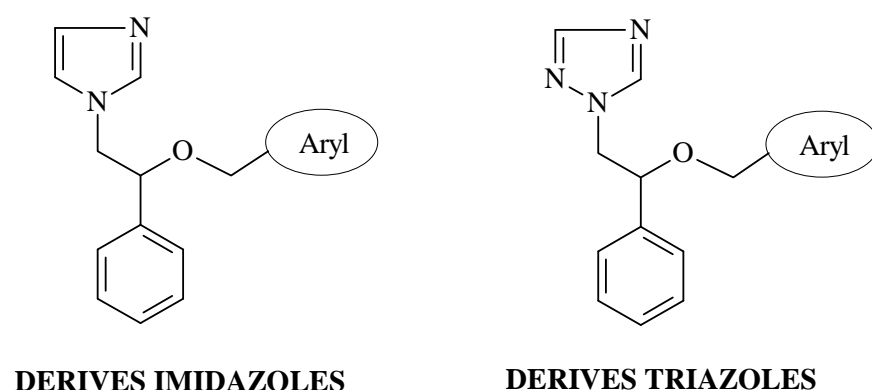


Figure 4 : Structure générale des azolés antifongiques

## IV.2. Origine et développement de série

L'histoire des antifongiques azolés commence en 1944 avec la mise en évidence par Woolley [62] des activités antifongiques du 1-(4-chlorobenzyl)-2-méthyl benzimidazole ou Chlormidazole. Mais ce n'est qu'en 1958 que ce dernier sera utilisé en médecine humaine en tant que premier médicament antifongique de synthèse totale. Très vite le Chlormidazole montra des limites d'utilisation notamment son activité uniquement par voie locale et non générale [28, 61].

Dès lors, d'intenses investigations pour la mise au point d'antifongiques plus efficaces conduiront à la suppression de l'homocycle benzénique du noyau benzimidazole et à l'avènement en 1967, des imidazolés antifongiques de première génération en thérapeutique. Ces derniers, bien qu'actifs par voie systémique, vont cependant présenter deux inconvénients majeurs à savoir :

1. un puissant effet d'induction enzymatique à l'égard des autres médicaments ;
2. un effet de premier passage hépatique non négligeable, de sorte qu'ils seront eux-aussi utilisés préférentiellement par voie locale [28, 61].

En 1977, d'autres pharmacomodulations aboutiront à la découverte des analogues structuraux des imidazolés de première génération. Ces molécules se sont révélées être de puissants antifongiques en raison de leur grande efficacité dans les mycoses systémiques par voie orale et parentérale. Toutefois, à l'instar des imidazolés de première génération, les analogues structuraux présentent des inconvénients, notamment une faible biodisponibilité et un faible taux

plasmatique nécessitant des doses élevées et rapprochées. De sorte qu'en pratique, ceux-ci seront également réservés à l'usage local à l'exception du Kétoconazole [28, 61].

Les nouvelles variations structurales entreprises en série des imidazolés antifongiques aboutiront en 1985, au remplacement du noyau imidazole par un isostère triazolique et à l'avènement des antifongiques triazolés, qui se révélèrent être plus stable à la métabolisation et actif dans les mycoses systémiques tant par voie orale que par voie parentérale à l'instar du Fluconazole [28, 61].

### **IV.3. Classification - Produits utilisés**

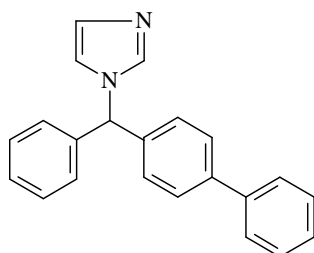
Les azolés antifongiques sont classés en fonction de la nature de leur hétérocycle azoté d'une part en dérivés imidazolés et leurs analogues structuraux et, d'autre part en dérivés triazolés et leurs analogues structuraux [28].

#### **IV.3.1 Les imidazolés antifongiques et analogues structuraux.**

Deux sous classes sont identifiées : les aryl-phénylméthyl imidazolés et les  $\beta$ -arylalkyloxy  $\beta$ -dichlorophényléthyl imidazolés.

1. Aryl-phénylméthyl imidazolés (Figure 5)

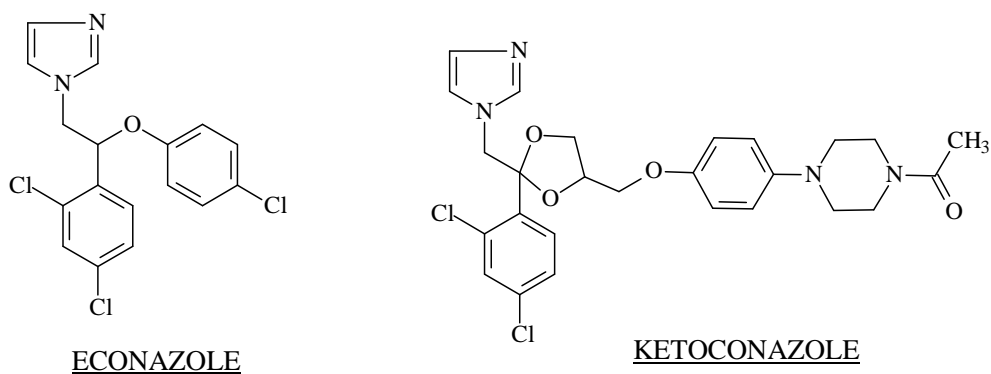
Cette sous-classe est représentée par :



**Figure 5** : Structure du Bifonazole

1.  $\beta$ -arylalkyloxy  $\beta$ -dichlorophényléthyl imidazolés (Figure 6)

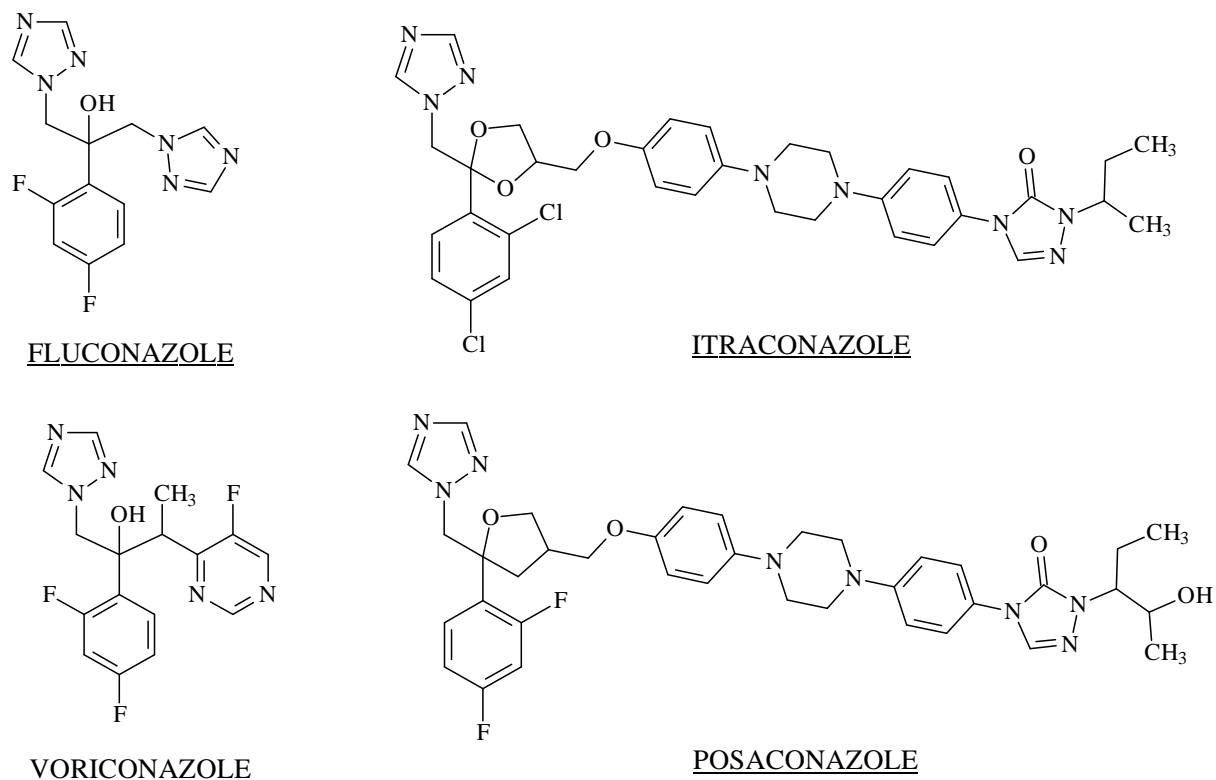
Cette sous-classe est représentée par :



**Figure 6**: Structure de quelques  $\beta$ -arylalkyloxy  $\beta$ -dichlorophényléthyl imidazolés

### IV.3.2 Les triazolés antifongiques et leurs analogues structuraux (Figure 7).

Cette classe est représentée par :



**Figure 7:** Structures de quelques triazolés antifongiques

Une classification pharmaco-thérapeutique des azolés antifongiques permet de distinguer ceux qui sont utilisés pour les traitements mycosiques locaux et ceux à usage systémique :

1. azolés antifongiques à effet locale : ils regroupent généralement les dérivés imidazolés, excepté le Kétoconazole,
2. azolés antifongiques à effet systémique : ce sont tous les dérivés triazolés antifongiques [28].



#### IV.4 Mécanisme et spectre d'action

Les azolés antifongiques agiraient au niveau des stérols membranaires en bloquant la biosynthèse de l'ergostérol par suite de l'inhibition de 14 $\alpha$ -stérol déméthylase enzyme à cytochrome P-450, à l'origine de la transformation du lanostérol en ergostérol, indispensable à l'édification de la membrane des champignons [28, 54].

La réaction de nature oxydative se déroulerait par suite de l'interaction entre les azolés au niveau de leur atome d'azote pyridinique en position 3 ou 4 et le fer hémique du cytochrome P-450. Ce complexe ainsi formé serait à l'origine du blocage du site d'occupation de l'oxygène, d'où l'action oxydative. Cette dernière se traduirait par une déplétion en ergostérol et une accumulation du lanostérol et d'autres stérols méthylés en position 14 [28].

Ces changements rendent la membrane plus fragile et altèrent l'activité de plusieurs enzymes liées à la membrane à l'origine des activités fongostatiques des azolés [28].

Ce mécanisme d'interaction des azolés avec le cytochrome P-450 tant chez les microorganismes que chez les mammifères serait responsable des effets indésirables et de l'hépatotoxicité imputés à certains azolés (Kétoconazole) [28].

Les antifongiques azolés présentent un spectre d'action large incluant les levures du genre *Candida* sauf *Candida krusei*, les champignons dimorphes, *Cryptococcus neoformans*, les dermatophytes et le genre *Aspergillus* dont la sensibilité est inconstante d'une molécule à une autre [28].

#### **IV.5. Contre-indications des azolés antifongiques**

Les azolés antifongiques seront contre-indiqués en cas d'insuffisance rénale, d'insuffisance hépatique, d'allergie à ces médicaments, chez la femme enceinte et la femme en période d'allaitement.

#### **IV.6. Effets indésirables des azolés antifongiques**

Les antifongiques azolés présentent de nombreux effets indésirables : une hépatotoxicité au long court, des troubles digestifs (nausées, vomissement, diarrhée), des troubles neurologiques et des troubles cutanéomuqueux à type d'allergies.

### **V. PLACE DES TRIAZOLES ANTIFONGIQUES DANS LA PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DES CANDIDOSES.**

Les agents antifongiques systémiques qui ont montré leur efficacité pour le traitement de la candidose comprennent quatre grandes catégories: les polyènes (amphotéricine B, nystatine), les triazolés (le fluconazole, l'itraconazole, le voriconazole et le posaconazole), les échinocandines (la caspofungine, l'anidulafungine et la micafungine) et la flucytosine [12].

De par leur large spectre et leur activité fongicide, les antifongiques triazolés sont fréquemment recommandés et prescrits dans le cadre de la prise en charge des infections fongiques invasives. Ils sont indiqués en première ligne dans les traitements préventifs et/ou curatifs de ces infections (en particulier les candidoses et aspergilloses) [12-17].

## V.1. Thérapie prophylactique

### V.1.1. Le Fluconazole

Le Fluconazole occupe le premier rang des triazolés et des antifongiques les plus utilisés dans la prophylaxie contre les candidoses invasives et les candidoses des muqueuses [12-16] notamment :

1. chez les patients adultes à haut risque hospitalisés en soins intensifs à la posologie de 400 mg (6 mg / kg) par jour [12, 15],
2. chez les patients atteints par le VIH et exposés à une candidose oropharyngée et œsophagienne [16],
3. en post opératoire pour les receveurs de greffe de foie, de pancréas, et les greffés à haut risque de l'intestin grêle à la posologie de 200-400 mg (3-6 mg / kg) par jour pendant 7 à 14 jours [12, 14],
4. en post opératoire abdominale et pour des perforations gastro-intestinales récurrentes ou des fuites anastomotiques intestinales à la posologie de 400 mg (6 mg/kg) une fois par jour [13],
5. chez les patients neutropéniques notamment ceux dont la neutropénie a été induite par la chimiothérapie à la posologie de 400 mg (6 mg/kg) une fois par jour [12]. Le traitement prophylactique avec le fluconazole doit débiter à temps, avant l'apparition de la neutropénie attendue,
6. pour les receveurs de greffe de cellules souches présentant un risque de neutropénie à la posologie de 400 mg (6 mg / kg) par jour [12, 14],
7. en néonatalogie pour les nouveaux nés dont le poids est inférieur à 1000g présentant de hauts risques de candidoses invasives, à la posologie de 6

mg/kg, 2 fois par semaine, en intraveineuse ou par voie orale et chez l'enfant sous chimiothérapie allogénique HSCT [12, 15].

### V.1.2. Le Posaconazole

Le posaconazole, disponible uniquement sous forme de suspension buvable, est majoritairement prescrit dans la prophylaxie des infections fongiques invasives notamment [12, 14, 17] :

8. chez les patients recevant une chimiothérapie d'induction de la rémission pour une leucémie myéloïde aiguë (LMA) ou un syndrome myélodysplasique (SMD), connus pour induire une neutropénie prolongée et qui sont à haut risque de développer des infections fongiques invasives, à la posologie de 200 mg, 3 fois par jour [12],
9. chez les receveurs (enfants ou adultes) de greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) sous traitement immunosuppresseur à haute-dose pour la maladie du greffon contre l'hôte et qui sont à haut risque de développer des infections fongiques invasives, à la posologie de 200 mg, 3 fois par jour [14, 15].

### V.1.3. Le Voriconazole

Le voriconazole est recommandé chez les receveurs de greffe (enfant ou adulte) de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) pendant la phase neutropénique et qui sont à haut risque de développer des infections fongiques invasives, à la posologie de 200 mg, 3 fois par jour [14, 15].

Le voriconazole et le posaconazole sont souvent utilisés comme alternatives au fluconazole ou en deuxième intention en cas notamment de résistance au fluconazole de certaines souches de *Candida* (*Candida Krusei*, *Candida Glabrata*) [12, 13, 17].

#### **V.1.4. L'Itraconazole**

L'itraconazole est une molécule de synthèse qui a démontré son efficacité en particulier chez l'immunodéprimé [17]. En effet, même si elle est moins bien tolérée, elle peut être recommandée comme alternative intéressante au fluconazole et au posaconazole pour la prophylaxie des infections mycosiques chez les patients immunodéprimés, ou recevant une chimiothérapie, ou une greffe (CSH) qui induit une neutropénie. La posologie est de 200 mg, 2 fois par jour [12, 14, 15].

### **V.2. Thérapie curative**

Les azolés ne doivent pas être utilisés pour le traitement empirique chez les patients qui ont reçu un azolé en prophylaxie. Le traitement antifongique empirique doit être envisagé pour les patients malades présentant des facteurs de risque de candidose invasive et dont la cause de la fièvre n'est pas connue; et il devrait être fondé sur une évaluation clinique des facteurs de risque [12].

#### **V.2.2. Le Fluconazole**

Le fluconazole est l'antifongique le plus recommandé en première intention:

10. dans le traitement des candidoses oropharyngées à la posologie de 100 mg par jour pendant 7 à 14 jours [14, 16],
11. dans les candidoses œsophagiennes par voie orale à la posologie de 200 mg par jour pendant 14 à 21 jours [14, 16],
12. à forte dose dans la prise en charge des candidoses oropharyngées et œsophagiennes réfractaires [14, 16],
13. dans le traitement des candidoses oropharyngées et œsophagiennes réfractaires si la souche de *Candida* y est sensible, à la dose de 100 à 200 mg, 3 fois par semaine ou 50 à 100 mg par jour [16],
14. dans le traitement de la candidose invasive chez les patients adultes non neutropéniques, à la posologie de 800 mg (12 mg/kg) dose de charge, ensuite 400 mg (6 mg/kg) par jour [12, 13] et chez les enfants à la posologie de 12 mg / kg par jour, avec une dose de charge de 25 mg / kg [12, 15],
15. dans le traitement empirique de la candidose invasive présumée chez les patients adultes non neutropéniques, dose de charge de 800 mg (12 mg / kg), puis 400 mg (12 mg / kg) par jour [12, 13],
16. dans la candidurie, notamment chez les patients immunodéprimés lorsque l'espèce de *Candida* est identifiée comme sensible [12, 16].

Le fluconazole est également souvent recommandé comme alternative dans la prise en charge ou le traitement empirique de la candidose invasive chez les patients neutropéniques n'ayant pas eu d'exposition récente aux azolés, à la dose de charge de 800 mg (12 mg / kg), puis 400 mg (6 mg / kg) par jour [12].

### V.2.3. Le Voriconazole

Le voriconazole est après le fluconazole, le triazolé le plus recommandé en première intention notamment [12-14] :

17. dans le traitement des candidoses invasives résistantes au fluconazole (candidoses à *Candida krusei*, ou *Candida glabrata*) à la posologie de 400 mg (6 mg/kg), 2 fois par jour pour deux doses et ensuite 200 mg (3mg/kg) par jour,
18. dans le traitement empirique de la candidose invasive présumée chez les patients neutropéniques, à la posologie de 400 mg (6 mg/kg) deux fois par jour pour deux doses, ensuite 200 mg (3 mg/kg) par jour, administration par voie intraveineuse.

#### **V.2.4. Le Posaconazole**

Le posaconazole est recommandé dans la candidose oropharyngée et œsophagienne en traitement de première intention chez les patients avec une pathologie sévère ou chez les patients immunodéprimés chez qui une réponse faible à un traitement local est attendue [12, 17]. Le caractère réfractaire est défini par la progression de l'infection ou l'absence d'amélioration après un minimum de 7 jours de traitement par un antifongique efficace aux doses thérapeutiques (Ex : Fluconazole ou Nystatine) [12].

#### **V.2.5. L'Itraconazole**

L'itraconazole est utilisé en deuxième intention dans le traitement empirique de la candidose invasive présumée chez les patients neutropéniques, à la posologie de 200 mg (3 mg/kg), deux fois par jour [12]; et en première ligne dans le traitement des candidoses oropharyngées et œsophagiennes réfractaires, à la dose minimale de 600 mg par jour [12, 16].



## VI. RESISTANCES AUX AZOLES ANTIFONGIQUES

Presque toutes les classes d'agents antifongiques systémiques actifs disponibles à ce jour, comme les polyènes (amphotéricine B), les azolés, les flucytosines, et les plus récents les échinocandines contribuent à améliorer la gestion des infections fongiques invasives. Néanmoins, le taux d'échecs antifongiques est élevé et l'émergence de souches fongiques résistantes est une préoccupation croissante, en particulier pour les souches capables de présenter une résistance aux antifongiques les plus recommandés et les plus couramment prescrits [63].

En effet, la large utilisation des triazolés recommandés dans le traitement primaire (Fluconazole et Voriconazole) et le traitement prophylactique (Fluconazole et Posaconazole) des infections invasives causées par les espèces du genre *Candida* [12-17] a conduit à l'émergence d'une résistance *in vitro* de *Candida* et d'autres isolats fongiques au Fluconazole [21, 24] et dans une moindre mesure aux plus récents des triazolés, le Voriconazole et le Posaconazole [20, 23].

Des mécanismes moléculaires différents sont associés à la résistance *in vitro* à des triazolés parmi les espèces du genre *Candida*; par exemple des modifications dans la qualité ou la quantité de l'enzyme cible, réduit l'accès du médicament à la cible, des mutations dans les gènes ERG participant à la biosynthèse d'ergostérol ou une combinaison de ces mécanismes et l'activation des transporteurs d'efflux multi résistantes codées par des gènes MDR et CDR [23].

La maîtrise des mécanismes physiologiques déterminants la résistance des champignons aux antifongiques permet de mieux cerner l'épidémiologie de ces microorganismes, d'identifier des cibles pour les nouvelles molécules mais aussi

d'anticiper les nouvelles résistances. Ainsi, nous exposerons les facteurs et mécanismes de résistance mis en jeu dans la classe des azolés antifongiques.

### **VI.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'antifongique 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) [64].

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 de *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 [55, 65].

## VI.2 Epidémiologie 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 [66].

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. En effet l'utilisation des antifongiques n'est pas restreinte au traitement curatif des infections fongiques. La forte mortalité de ces infections, significativement augmentée en cas de retard de mise en route d'un traitement antifongique adapté chez les patients immunodéprimés et/ou de réanimation, et l'incidence croissante des mycoses systémiques dans certains groupes de patients (hémopathies malignes, transplantation), a conduit à un usage plus précoce des antifongiques. Le traitement peut ainsi être instauré avant même le développement de l'infection (traitement prophylactique, basé uniquement sur des facteurs de risques) ou le plus précocement possible dans l'histoire naturelle de l'infection (traitement préemptif, traitement empirique) [10], c'est notamment le cas du fluconazole fortement recommandé en prophylaxie [10, 12-17]. 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 [67] et les patients greffés de la moelle [65]. Aussi ce qui est constaté actuellement, c'est que ce n'est plus seulement la pré-exposition aux azolés (fluconazole, itraconazole...) qui impacte l'épidémiologie des infections fongiques invasives en hématologie. L'exposition récente aux échinocandines (capsosungine, anidulafungine...) a fait ressortir plus de *Candida parapsilosis*

lors d'événements invasifs ultérieurs. En outre, il a été observé que des espèces normalement sensibles ont acquis des mutations de résistance aux échinocandines comme *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida krusei*. [68].

Toutefois, la prévalence des résistances primaires aux triazolés de première génération chez les souches du genre *Candida* est faible [67, 69]. Elle a été décrite dans moins de 2,5 % des cas pour le fluconazole et dans moins de 9 % des cas pour l'itraconazole [65]. Les souches de *Candida albicans* sont le plus souvent sensibles, *Candida glabrata* est souvent «sensible-dose dépendant», *Candida krusei* est le plus souvent résistant [65].

Par ailleurs, des résistances croisées entre différents azolés ont également été décrites [70, 22, 23].

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 [71]. 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 de l'utilisation du fluconazole [72, 73].

### **VI.3 Mécanismes de résistance**

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 [64].

### **VI.3.1 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 phosphatidyléthanolamine 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. Ceci est dû à la surexpression des gènes codant pour ces systèmes d'efflux [30, 55, 69].

### **VI.3.2 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- $\alpha$ . Chez *Candida albicans*, le 14  $\alpha$ -méthyl fécostérol peut être métabolisé par l'enzyme  $\Delta$ -5-6 désaturase (codé par le gène *ERG3*) en un produit toxique. Cette étude a montré que les souches résistantes aux dérivés azolés avaient une mutation dans le gène *ERG3* [35, 55, 69].

### **VI.3.3 Altération ou surproduction de la cible enzymatique des azolés**

Certaines mutations du gène *ERG 11* ont été révélées dans plusieurs études comme étant la cause de la diminution d'affinité entre les dérivés azolés et les enzymes (14  $\alpha$ -déméthylase) ou une surexpression du gène *ERG11* [35, 55, 69]. Plusieurs nouvelles mutations ont été découvertes ces dernières années, parmi elles une nouvelle mutation L321F a été identifiée chez *Candida albicans*

résistantes au fluconazole [21], ainsi qu'une autre (A395T) chez *Candida tropicalis* lui conférant également une résistance au fluconazole [24].

*Deuxième partie :*  
**ETUDE EXPERIMENTALE**

## I. MATERIEL ET METHODES

### I.1. Matériel

#### I.1.1. Type d'étude et cadre de travail

Ce travail de type expérimental a été initié par suite de la synthèse chimique totale des biomolécules au Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Biomolécules de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan. Au total, ce sont quatre (4) hybrides de cyclohexénone à support imidazopyridine qui ont été conceptualisés puis synthétisés.

Les structures de toutes les molécules préparées ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques habituelles (RMN :  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ; Masse) au Laboratoire CEISAM de Nantes.

Pour notre part, nous nous sommes uniquement focalisés sur l'évaluation des activités antifongiques de ces quatre (4) hybrides de cyclohexénones à support imidazopyridine. Cette évaluation a été réalisée durant 2 mois (du 05 Mai au 30 Juin 2014) au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie du Centre Suisse de Recherche Scientifique (CSRS) en Côte d'Ivoire.

### **I.1.2. Appareils**

Pour la réalisation de ce travail, nous avons utilisé les appareils suivants :

1. Bain-marie de marque SALVIS®
2. Plaque chauffante BEKO®
3. Balance de précision AG 204 DELTA RANGE®
4. Agitateur de marque STUART SCIENTIFIC®
5. Incubateur de marque LABCON®

### **I.1.3. Réactifs de laboratoire**

Comme réactifs de laboratoire, nous avons utilisé :

1. Milieux de cultures : Sabouraud 4% glucose Agar (Fluka, bouillon); Sabouraud agar maltose (OXOID), Bouillon SABOURAUD ; Tryptone Soja (OXOID) Milieux de culture :
2. Solvant (hexane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol, DMSO, eau distillée)
3. Substance médicamenteuse antifongique (Fluconazole)
4. Produits à tester (4)
5. Souches de *Candida albicans*27396, de *Candida tropicalis* et de *Candida glabrata*
6. Chlorure de methylthiazolyltetrazolium (MTT)



#### **I.1.4. Petits matériels**

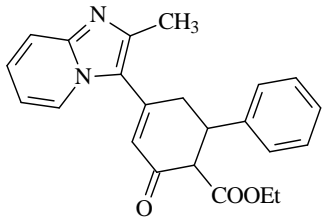
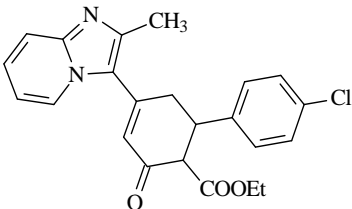
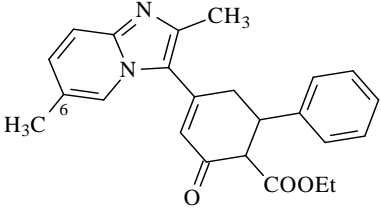
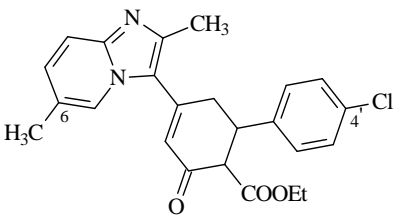
Les petits matériels qui ont servi à la réalisation de ce travail sont :

1. Flacon de culture en verre
2. Pipettes graduées (10 ml)
3. Micropipettes (50µl et 100µl)
4. Embouts
5. Boîtes de Pétri
6. Plaques de silicagel 60 F254 sur verre (Merck)
7. Anse de platine
8. Bacs en polyéthylène
9. Microplaques (96 puits)

#### **I.1.5. Produits de synthèse à évaluer**

Les quatre (4) hybrides de cyclohexénones à support imidazopyridine (**Tableau I**) soumis à l'évaluation anti-*Candida* ont été fournis par le Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Biomolécules de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan sous forme de poudre.

**Tableau I :** Structures chimiques des quatre hybrides de cyclohexénone à support imidazopyridine

Composés	Structures chimiques
1	
2	
3	
4	

### **I.1.6. Substance de référence**

Pour mettre en évidence l'efficacité antifongique de nos nouveaux hybrides de cyclohexénones à support imidazopyridine, nous avons utilisé une substance médicamenteuse à savoir le Fluconazole qui en raison de ses indications thérapeutiques contre les infections fongiques à *Candida* fait office de substance de référence.

Ce médicament sous forme de poudre pure provenait des laboratoires SIGMA Chemical Co. (USA).

### **I.1.7. Matériel microbiologique**

Pour évaluer l'activité antifongique en particulier anti-*Candida* des nouveaux hybrides de cyclohexénones à support imidazopyridine, nous avons utilisé une souche clinique de *Candida albicans*, une souche de *Candida tropicalis* et une souche de *Candida glabrata*; toutes provenant du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les Maladies Opportunistes (CeDReS) du CHU de Treichville d'Abidjan, Côte d'Ivoire.

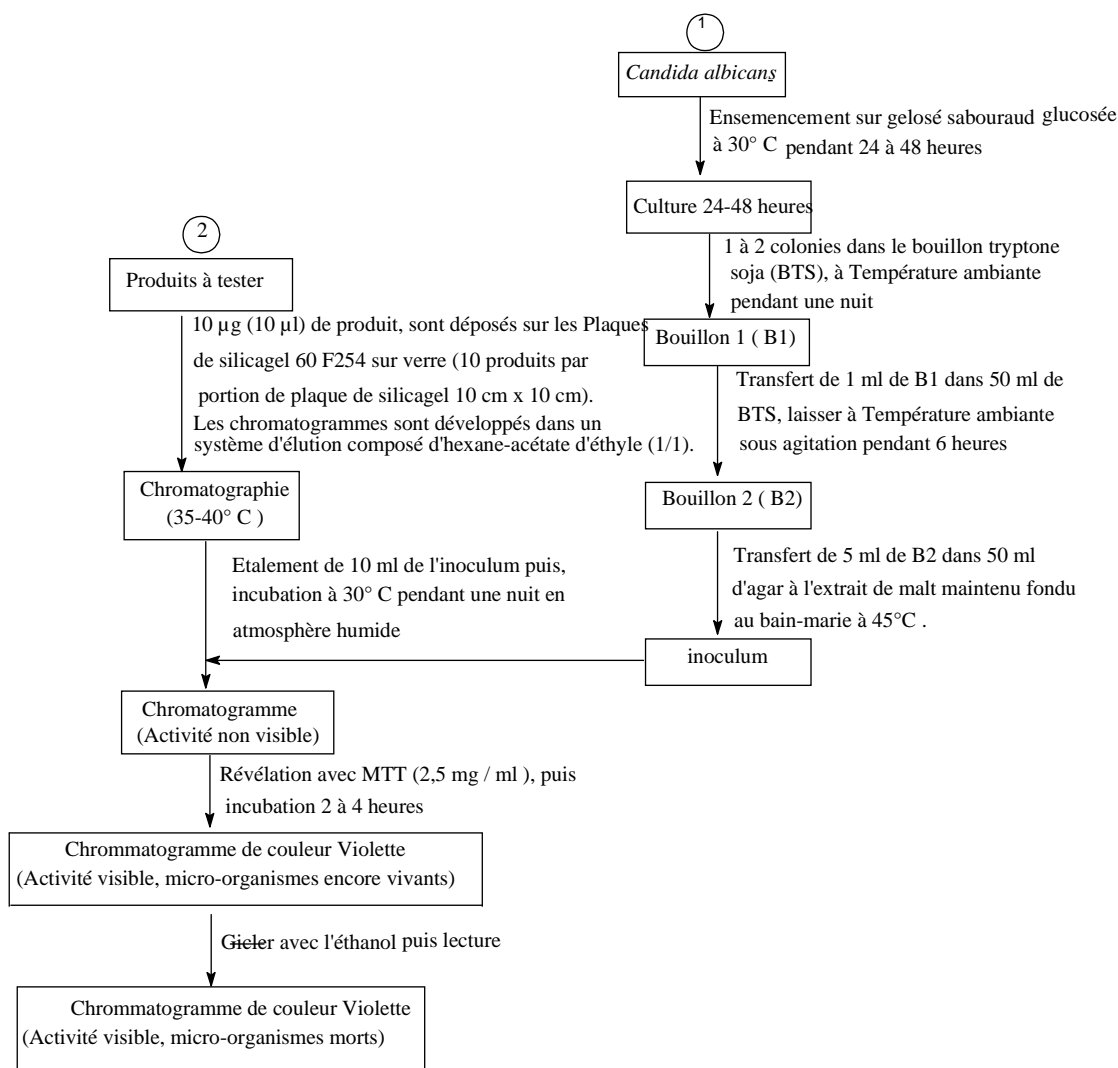
## **I.2. Méthodes**

Pour la détermination *in vitro* de l'activité anti-*Candida* des produits à tester, un screening a été réalisé grâce à la technique de bioautographie « agar overlay » mise au point par Rahalison [74, 75]. L'activité de chaque produit à la quantité seuil de 10 µg a été mesurée par la détermination de sa Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

### I.2.1. Principe de la technique de bioautographie (Agar overlay)

Il s'agit d'une méthode de détermination *in vitro* par chromatographie sur couche mince (CCM) des quantités minimales capables d'inhiber la prolifération des souches fongiques.

Elle a l'avantage de permettre le criblage antifongique de plusieurs produits à la fois (10 produits par plaque) [74]. L'inhibition de la croissance fongique a été évaluée par la détection colorée de l'activité déshydrogénasique des germes à l'aide du Chlorure de Méthyl Thiazolyl Tétrazolium (MTT) (Schéma 1).



## Schéma 1 : Etapes de réalisation de la technique de bioautographie

### I.2.2. Préparation de l'inoculum microbien

Pour chaque espèce de *Candida*, nous avons réalisé la culture des souches cliniques sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose SABOURAUD glucosé (SABOURAUD 4% glucosée Agar) avec une incubation à 30°C pendant 48 h.

Pour chaque espèce, une à deux colonies ont été prélevées et mises en suspension dans 50 ml de milieu SABOURAUD liquide. Les suspensions obtenues sont maintenues sous agitation pendant 24 h à température ambiante. On prélève ensuite un (1) ml du bouillon que l'on transfère dans une solution de 50 ml de tryptone soja, laissé sous agitation pendant 6 heures (temps nécessaire pour atteindre une croissance exponentielle de nos différentes espèces de *Candida*).

Au moment du test, on ajoute 5 ml du bouillon de 6 h 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 de chaque espèce contenant théoriquement  $10^5$  cellules/ml.

### I.2.3. Détection des activités antifongiques

Des solutions méthanoliques des produits de synthèse et du Fluconazole à tester sont préparées à 1mg/ml. Avec des capillaires, 10 µl de chaque solution soit 10 µg de substance ont été déposées en spots sur deux plaques de silicagel 60 F254 en verre. Les plaques ont été développées dans des cuves chromatographiques préalablement saturés d'une phase mobile composée d'hexane-acétate d'éthyle, l'une des plaques a servi à faire le test antifongique. Ces plaques sont ensuite séchés et maintenus à 35-40° C environ, sur une plaque chauffante. Sur chaque

plaques, 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. Pour la révélation, les plaques ainsi préparées sont imprégnées d'une solution aqueuse de Chlorure de Méthylthiazolyl-Tétrazolium (MTT) à la concentration de 2,5 mg/ml. A la suite d'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. La lecture des plaques se fait à la lumière ultraviolette.

#### I.2.4. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI)

Pour tous les produits qui induisent une zone d'inhibition, donc actifs au moins sur une des espèces de *Candida*, les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de ces derniers ont été déterminées suivant une gamme de dilution (Tableau II).

**Tableau II :** Gammes de dilution et de concentration des produits à évaluer

Gamme de dilution	Concentration (µg/µL)
1	10
2	5
3	2,5
4	1,25
5	0,625

Gamme de dilution	Concentration (µg/µL)
6	0,3125
7	0,15625
8	0,078125
9	0,0390625
10	0,01953125

#### **I.2.4.1 Principe de la méthode de microdilution**

La méthode de microdilution est utilisée pour déterminer la CMI des différents extraits. C'est une méthode qui consiste à mettre en contact un inoculum de *Candida* avec une dilution croissante d'antifongique dans des microplaques de 96 puits (12 rangés de 8 puits) (**figure 4**). L'inhibition de la croissance fongique sera évaluée par la détection colorée de l'activité déshydrogénasique des germes à l'aide du Chlorure de Méthyl ThiazolylTétrazolium (MTT). La CMI est donnée par la plus faible concentration n'entraînant pas de transformation du MTT.

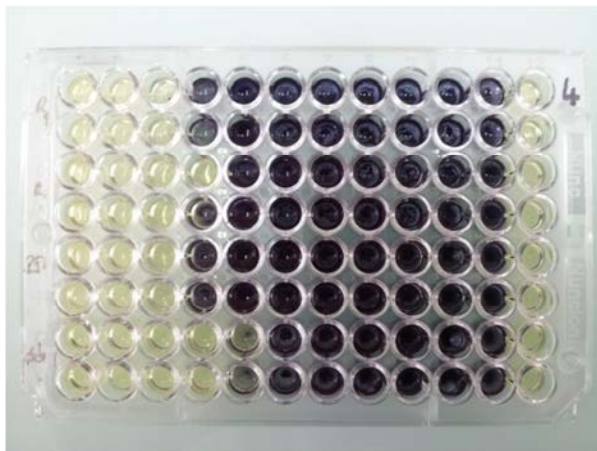
#### **I.2.4.2 Préparation de l'inoculum**

La préparation de l'inoculum se fait selon le principe de la technique de bioautographie « agar overlay ». On prépare les cultures de *Candida* sur de la gélose de Sabouraud glucosée (Sabouraud 4% glucose agar, Fluka) en boîte de Pétri, incubée à 30°C pendant 48 heures. Une à deux colonies sont ensuiteensemencées dans 50 ml de bouillon de Tryptone Soja (OXOID), puis laissées sous agitation pendant une nuit à température ambiante. On prélève ensuite 10 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*). Au moment du test, on ajoute 5 ml du bouillon d'environ 6 heures dans 50 ml de bouillon pour le diluer.

#### **I.2.4.3 Détection des activités**

Le test est réalisé sur des microplaques de 96 puits. Les solutions mères des différents extraits ont été préparées avec du Diméthylsulfoxyde (DMSO) à la concentration de 1 mg/ml puis dilué avec le bouillon pour obtenir des solutions concentrées à 10 µg/ml. 100 µl de cette dilution sont déposés dans les puits de la première colonne. On distribue ensuite 50 µl de bouillon dans les puits suivants et 50 µl de la solution du premier puit sont utilisés pour obtenir la gamme de dilution du tableau ci-dessus. 50µl de l'inoculum sont distribués dans les puits à l'exception du dernier qui sert de témoin pour vérifier qu'il n'y a pas de contamination. Les plaques sont incubées à 30°C pendant 48h. Après incubation, 40 µl de solution aqueuse de chlorure de methylthiazoyltetrazolium (MTT) ont été ajoutés à chaque puit et incubé encore pendant 30 min à température ambiante. Les tests ont été répétés et vérifiés à deux reprises.





**Figure 8 :** CMI : dilution en milieu liquide en microplaque (plaque de 96 puits)

## II. RESULTATS ET DISCUSSION

### II.1. Résultats de l'évaluation des activités antifongiques

#### II.1.1 Résultat du screening antifongique

Les résultats obtenus lors du screening antifongique des hybrides de cyclohexénones à support imidazopyridine et du Fluconazole vis-à-vis des souches de *Candida albicans*, de *Candida glabrata* et de *Candida tropicalis*, sont rassemblés dans le **tableau III**.

Ces résultats montrent que :

1. Sur *Candida albicans* et *Candida glabrata*, les 4 composés se sont montrés actifs à la QMI seuil de 10 µg.
1. Sur *Candida tropicalis* seul le **composé 1**, le **composé 3** et le **composé 4** ont montré une activité à la QMI seuil de 10 µg.
2. La substance de référence (le Fluconazole) s'est montrée active sur les trois souches de *Candida* à la QMI seuil de 10 µg.

**Tableau III** : Statut antifongique des **composés 1 à 4** et du Fluconazole vis-à-vis des souches de *Candida* à 10 µg

Composés	Structures	Statut antifongique		
		<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>
<b>1</b>		<b>Actif</b>	<b>Actif</b>	<b>Actif</b>
<b>2</b>		<b>Actif</b>	<b>Inactif</b>	<b>Actif</b>
<b>3</b>		<b>Actif</b>	<b>Actif</b>	<b>Actif</b>
<b>4</b>		<b>Actif</b>	<b>Actif</b>	<b>Actif</b>
<b>Fluconazole</b>		<b>Actif</b>	<b>Actif</b>	<b>Actif</b>

**Actif : QMI = 10µg : présence d'une zone d'inhibition**

**Inactif : QMI >10µg : absence d'une zone d'inhibition**

### I.1.2 Résultat de la dilution en milieu liquide

Les résultats de l'évaluation des activités anti-*Candida* des 4 dérivés imidazopyridinyl-cyclohexénones (**Composés 1-4**) et du Fluconazole vis-à-vis des trois espèces de *Candida* ont été rassemblés dans le **tableau IV**. L'activité de chaque dérivé est donnée par sa CMI exprimée en  $\mu\text{g/ml}$ . Seul le **composé 2** n'a pas été évalué sur la souche de *Candida tropicalis* car n'ayant aucune activité antifongique à  $10 \mu\text{g}$  (**Cf. tableau III**).

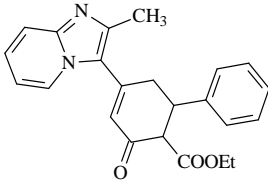
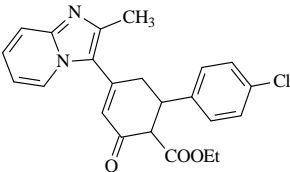
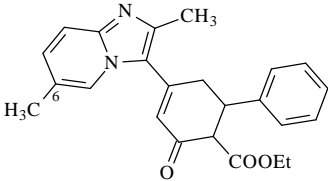
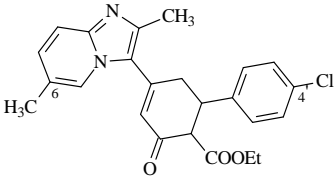
Les résultats obtenus font ressortir que:

1. Les quatre hybrides de cyclohexénones ont présenté une activité sur au moins l'une des trois espèces de *Candida* avec des CMI allant de  $0,3125$  à  $2,5 \mu\text{g/ml}$ . Parmi ces dérivés:
  1. Le **composé 1** a présenté une activité sur les trois espèces de *Candida* avec des CMI respectives de  $2,5 \mu\text{g/ml}$  sur *Candida albicans* et *Candida glabrata* et de  $0,625 \mu\text{g/ml}$  sur *Candida tropicalis*.
  2. Le **composé 2** a quant à lui été actif seulement sur *Candida albicans* et *Candida glabrata* avec une CMI de  $2,5 \mu\text{g/ml}$ .
  3. Le **composé 3** a montré une activité sur les trois espèces de *Candida* avec des CMI de  $2,5 \mu\text{g/ml}$  sur *Candida albicans* et *Candida glabrata* et de  $0,3125 \mu\text{g/ml}$  sur *Candida tropicalis*.
  4. Le **composé 4** a induit une activité sur les trois espèces de *Candida* avec des CMI respectives de  $1,25 \mu\text{g/ml}$  sur *Candida albicans*,  $2,5 \mu\text{g/ml}$  sur *Candida glabrata* et  $0,625 \mu\text{g/ml}$  sur *Candida tropicalis*.

5. Le Fluconazole a présenté la même efficacité sur les trois espèces de *Candida* avec une CMI de 2,5 µg/ml.

<b>Composés</b>	<b>Structures</b>	<b>Activités anticandidosiques (CMI µg/ml)</b>
-----------------	-------------------	--

**Tableau IV :** Activités antifongiques *in vitro* des hybrides de cyclohexénone à support imidazopyridine vis-à-vis de *Candida*

		<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>
<b>1</b>		<b>2,5</b>	<b>0,625</b>	<b>2,5</b>
<b>2</b>		<b>2,5</b>	<b>&gt; 10</b>	<b>2,5</b>
<b>3</b>		<b>2,5</b>	<b>0,3125</b>	<b>2,5</b>
<b>4</b>		<b>1,25</b>	<b>0,625</b>	<b>2,5</b>
<b>Fluconazole</b>		<b>2,5</b>	<b>2,5</b>	<b>2,5</b>

## II.2. Discussion

Après l'évaluation des activités antifongiques de nos dérivés cyclohexénones à support imidazopyridine vis-à-vis des trois espèces de *Candida*, à savoir *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et *Candida glabrata*, nous discuterons des

résultats expérimentaux obtenus. Une telle discussion de type relations structure-activité a pour objectif de déterminer les éléments structuraux qui concourent à l'apparition voire à l'exaltation des activités antifongiques attendues.

La méthode pharmacochimique de conceptualisation de nouveaux candidat-médicaments par suite d'une réunification appropriée de plusieurs entités pharmacophores permet d'établir que :

1. La juxtaposition d'une imidazopyridine à une cyclohexénone conduit effectivement à une nouvelle molécule hybride (**composé 1**) qui a montré la même efficacité (CMI = 2,5 µg/ml) en terme d'activité anticandidosique sur *Candida albicans* et *Candida glabrata* que le Fluconazole (médicament anticandidosique de référence, CMI = 2,5 µg/ml). Par contre sur *Candida tropicalis*, le **composé 1** s'est montré 4 fois plus efficace (CMI = 0,625 µg/ml) que le Fluconazole.
2. Le choix de juxtaposer une imidazopyridine à une cyclohexénone s'avère donc judicieux pour l'induction d'activités antifongiques.

Le concept pharmacochimique d'élaboration de nouvelles biomolécules potentielles par juxtaposition de pharmacophores, demeure par conséquent, une méthode pertinente pour l'élaboration de candidat-médicaments.

Au vu de cette efficacité antifongique vis-à-vis de souches de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et *Candida glabrata* induite par le **composé 1**, il a paru

intéressant d'entreprendre d'autres modulations chimiques autour de ce dernier dans la perspective d'améliorer ses activités et ce, quelque que soit la souche de *Candida*. A cette fin, nous avons entrepris autour du **composé 1**, 3 types de modulations chimiques à savoir :

1. La modulation de l'homocycle benzénique par introduction d'atome d'halogène de type Chlore en position 4'.
2. La modulation de l'hétérocycle imidazopyridine par introduction de groupement alkyle de petite taille de type méthyle en position 6.
3. La double modulation de l'homocycle benzénique par introduction d'un atome de Chlore en position para et de l'hétérocycle imidazopyridine par introduction de groupement de type méthyle en position 6.

Les principales variations entreprises pour déterminer les éléments structuraux indispensables à l'apparition, au maintien voire à l'exaltation des activités antifongiques attendues, permettent de comparer l'efficacité antifongique des différentes molécules sur chacune des souches.

### II.2.1. Efficacité comparée des modulations sur *Candida glabrata*

1. La modulation de l'homocycle benzénique du **composé 1** par introduction d'atome d'halogène de type Chlore en position para conduit au **composé**



**2** qui a montré la même efficacité anticandidosique (CMI = 2,5µg/ml) que le **composé 1** sur la souche de *Candida glabrata*.

2. La modulation de l'hétérocycle imidazopyridine du composé 1 par introduction d'un groupement méthyle en position 6 a conduit au **composé 3** qui, à l'instar du **composé 2** induit le maintien de l'activité anticandidosique. En effet, le **composé 3** réalise une performance anti-*glabrata* de 2,5 µg/ml superposable à celle du **composé 1**.
3. Lorsque l'on introduit un atome de Chlore en position 4' du **composé 3**, le **composé 4** obtenu ne provoque aucune variation de la performance antifongique. En effet, ce dernier a présenté une efficacité similaire à celle de son homologue non chloré (**composé 3**) sur *Candida glabrata* avec une CMI = 2,5µg/ml. Cette double modulation du **composé 1** avec d'une part l'introduction d'atome d'halogène de type Chlore en position 4' sur son homocycle benzénique, et d'autre part l'introduction de groupement méthyle en position 6 de l'imidazopyridine, n'a induit aucune variation de l'efficacité anti-*glabrata* (CMI = 2,5µg/ml).

En résumé, à l'instar du **composé 1**, les **composés 2, 3 et 4** ont induit des activités superposables à celle du Fluconazole (CMI = 2,5µg/ml) vis-à-vis de *Candida glabrata*.

## II.2.2. Efficacité comparée des modulations sur *Candida tropicalis*

4. Le **composé 2** obtenu après modulation de l'homocycle benzénique du **composé 1** par introduction d'un atome de Chlore en sa position 4' provoque une annihilation des activités anticandidosiques (CMI > 10 µg) vis-à-vis de *Candida tropicalis*. En effet, le **composé 1** avec une CMI de 0,625 µg/ml, s'est avéré beaucoup plus efficace que son analogue chloré (**composé 2**) sur la même souche.
  
5. le **composé 3** issu de la modulation de l'imidazopyridine du **composé 1** par introduction d'un groupement méthyle en sa position 6 a permis d'obtenir la meilleure activité vis-à-vis de *Candida tropicalis*. En effet, ce dernier avec une CMI égale à 0,3125 µg/ml, s'est montré deux fois plus performant sur *Candida tropicalis* que ses analogues chlorés (**composé 4**) et non méthylés en position 6 (**composé 1**) qui tous les deux possèdent une CMI de 0,625 µg/ml. Autrement dit, le **composé 4** obtenu par introduction d'un atome de chlore en position 4' du **composé 3**, a vu son activité anti-*tropicalis* réduite par rapport à son précurseur.

Ainsi le **composé 3** et le **composé 4** présentent à l'instar du **composé 1** des activités anti-*tropicalis* supérieures à celle du Fluconazole. En effet, le composé 3 (CMI = 0,3125 µg/mg) et le composé 4 (CMI = 0,625 µg/ml) se sont respectivement révélés 8 fois, et 4 fois plus performants que le Fluconazole sur ce germe.

### II.2.3. Efficacité comparée des modulations sur *Candida albicans*

6. L'introduction d'atome d'halogène de type Chlore en position 4' du **composé 1** ne provoque aucune variation de l'efficacité anticandidosique sur *Candida albicans*. En effet, avec une CMI de 2,5µg/ml, le **composé 2** obtenu possède la même activité anti- *albicans* que le **composé 1**.
  
7. A l'instar du **composé 2**, le **composé 3** obtenu par la modulation de l'imidazopyridine du **composé 1** suite à l'introduction d'un méthyle en sa position 6, entraîne le maintien de l'activité anticandidosique sur *Candida albicans* (CMI = 2,5 µg/ml).
  
8. L'introduction d'un atome de chlore en position 4' du **composé 3** a par contre induit une amélioration de l'efficacité anti-*albicans*. Le **composé 4** issu de cette modulation a effectivement réalisé une performance anticandidosique vis-à-vis de *Candida albicans* de 1,25 µg/ml, soit une efficacité 2 fois supérieure à celle de son analogue non chloré et non méthylé (**composé 1**) qui lui, possède une CMI égale à 2,5µg/ml.

Au final, sur *Candida albicans* le **composé 2** et le **composé 3** avec des CMI respectives égales à 2,5µg/ml, se sont avérés aussi efficaces que le **composé 1** et le Fluconazole. En revanche, le **composé 4** avec une CMI de 1,25 µg/ml a été 2 fois plus performant que le Fluconazole.

L'interprétation des résultats permet d'établir que la juxtaposition d'une imidazopyridine à une cyclohexénone conduit à des imidazopyridinyl-cyclohexénones (**Composés: 1-4**) doués d'activités anticandidosiques. L'apparition de ces activités antifongiques n'est pas étonnante puisqu'elle corrobore les propriétés anti-infectieuses intrinsèques du groupement cyclohexénone et de l'hétéroaryle de type imidazopyridine. En effet, les cyclohexénones et leurs dérivés sont largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique en raison de leur large spectre d'activités thérapeutiques [76, 77]. Des cyclohexénones de synthèses ont été évalués *in-vitro* pour leur activité antibactérienne et antifongique sur différentes souches de micro-organismes. Celles-ci ont montré d'excellentes activités antimicrobiennes et antifongiques vis-à-vis des souches étudiées [78, 79]. Aussi, ces composés sont utilisés le plus souvent en agriculture et en médecine vétérinaire en tant que fongicides [80].

En ce qui concerne l'hétérocycle imidazopyridine, il s'agit avant tout d'un diazahétéroaryle résultant de l'accolement de la pyridine et de l'imidazole. Cet hétérocycle pourrait posséder des propriétés anti-infectieuses en particulier antifongiques à l'instar de l'imidazole, support hétéroaryle d'un grand nombre de médicaments de la classe chimique des azolés antifongiques [81, 28, 61].

En résumé, les modulations entreprises sur le **composé 1** pour améliorer les activités montrent que :

La meilleure performance sur *Candida albicans* est réalisée par le **composé 4** méthylé sur l'imidazopyridine et chloré en 4' sur l'homocycle benzénique.

9. Sur *Candida tropicalis*, le **composé 3** issu de la méthylation en position 6 de l'imidazopyridine, s'est révélé le plus efficace.

10. En revanche, sur *Candida glabrata* tous les composés ont présentés la même efficacité anticandidosique.
11. Au final, sur les trois espèces de *Candida* (*Candida albicans* ; *Candida tropicalis* ; *Candida glabrata*), les meilleurs profils antimycosiques sont obtenus avec les **composés 3 et 4**.

## **CONCLUSION - PERSPECTIVES**

Ce travail de thèse nous a permis de tester les activités antifongiques de nouveaux candidat-médicaments afin de contribuer à la recherche pharmacochimique dans la lutte contre les maladies fongiques. L'évaluation des activités antifongiques des imidazopyridinyl-cyclohexénones vis-à-vis de trois espèces de *Candida* chimio sensibles au Fluconazole a montré que la meilleure performance sur *Candida albicans* est réalisée par le **composé 4** (CMI= 1,25 µg/ml). Sur *Candida tropicalis*, le **composé 3** s'est révélé être le plus efficace avec une CMI de 0,3125 µg/ml. Sur *Candida glabrata*, les **4 composés** ont présenté la même efficacité anticandidosique (CMI = 2,5 µg/ml). Au final sur les trois espèces de *Candida* (*Candida albicans* ; *Candida tropicalis* ; *Candida glabrata*), le **composé 4** et le **composé 3** avec des CMI variant entre 0,3125 et 2,5 µg/ml ont présenté les meilleurs profils antimycosiques. Par ailleurs, la modulation du **composé 1** par introduction d'atome de chlore en position 4' de l'homocycle benzénique, a conduit selon les souches de *Candida* soit au maintien soit à la perte de l'efficacité anti-*Candida*.

L'introduction d'un groupement méthyle en position 6 de l'imidazopyridine du **composé 1** et la double modulation de ce composé, avec d'une part l'introduction d'atome de chlore en position 4' de l'homocycle benzénique et d'autre part l'introduction d'un groupement méthyle en position 6 de l'imidazopyridine, entraînent le maintien voire l'amélioration de la performance anticandidosique.

Ces résultats nous permettent de valider le profil chimique imidazopyridinyl cyclohexénone comme nouveau pharmacophore antimycosique potentiel.

Au vu de ces observations, deux types de perspectives se dégagent de ces travaux de recherche à savoir : des perspectives au plan pharmacochimique et au plan biologique.

1. Au plan pharmacochimique, il s'agira pour nous :
  1. de remplacer le groupement méthyle en position 6 par divers modulateurs d'activités biologiques;
  2. d'introduire divers modulateurs d'activité sur l'homocycle benzénique des imidazopyridinyl-cyclohexénones;
  1. de voir l'impact de la position du modulateur d'activité sur l'homocycle benzénique des imidazopyridinyl-cyclohexénones.
2. Au plan biologique, nous envisagerons :
  3. d'étendre l'évaluation à d'autres germes pathogènes tels que les bactéries, les parasites et les virus;
  4. d'évaluer la tolérance des chefs de file retenus.

D'un point de vue fondamental, il serait aussi intéressant d'élucider le mode d'action de ces nouveaux dérivés cyclohexénones à support imidazopyridine sur le genre *Candida*.

Les molécules testées dans ce travail de thèse constituent des fondements solides, sous réserve des études de toxicologie et de pharmacologie pour la mise au point d'une nouvelle classe chimique d'antifongiques de synthèse totale.



**REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

**1- Yapar N.** Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis, *Therapeutics and Clinical Risk Management*; 2014, 10 : 95–105.

**2- Institut Pasteur, fiches info candidoses.** [www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/candidoses](http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/candidoses), Consulté le 15 Janvier 2015.

**3- Konan KR.** Epidémiologie des mycoses profondes et génitales à l'unité de mycologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire de 1990 à 2009. *Thèse d'Etat de Docteur en Pharmacie*, Côte d'Ivoire; 2013, N°1501 : 96p.

**4- Institut Pasteur, unité de Biologie et pathogénicité fongique.** [www.pasteur.fr/fr/recherche/mycologie/unites-et-groupes/biologie-et-pathogénicité-fongiques](http://www.pasteur.fr/fr/recherche/mycologie/unites-et-groupes/biologie-et-pathogénicité-fongiques) (Consulté le 21 Janvier 2015)

**5- Barton M, O'Brien K, Robinson JL, Davies DH, Simpson K, Asztalos E, Langley JM, Le Saux N et al.** Invasive candidiasis in low birth weight preterm infants: risk factors, clinical course and outcome in a prospective multicenter study of cases and their matched controls. *BMC Infectious Disease*; 2014 : 14-327.

**6- Montagna MT, Caggiano G, Lovero G, De Giglio O, Coretti C, Cuna T et al.** Epidemiology of invasive fungal infections in the intensive care unit: results of a multicenter Italian survey (AURORA Project). *Infection*; 2013, 41(3) : 645–653.

**7- Bassetti M, Merelli M, Righi E, Diaz-Martin A, Rosello EM, Luzzati R, et al.** Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility, and outcome of candidemia across five sites in Italy and Spain; *Journal of Clinical Microbiology*; 2013, 51(12) : 4167–4172.

**8- Jordan I, Hernandez L, Balaguer M, López-Castilla JD, Casanueva L et al on behalf of the ERICAP study group.** *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis* invasive infections in the PICU: clinical features, prognosis and mortality. *Revista Española de Quimioterapia*; 2014, 27(1) : 56-62.

**9- Cheng S, Cornelius J, Douglas J, Nguyen H, Hartman J et al.** Intra-Abdominal Candidiasis Is Characterized by Persistence within the Peritoneal Cavity and Abscesses. *Infection and immunity*; 2014, 82(7) : 3015–3022.

**10- Lortholary O, Dromer F, Coignard B, Che D et al.** Mycoses invasives en France métropolitaine, PMSI 2001-2010 : incidence, létalité et tendances Dounia. *BEH-Bulletin-epidemiologique-hebdomadaire 12-13*; 2013 : 117-128

**11- Scodavolpe S, Quaranta S, Lacarelle B, Solas C.** Antifongiques triazolés : intérêt et modalités du suivi thérapeutique pharmacologique et perspectives d'optimisation des traitements. *Annales de Biologie Clinique*; 2014, 72(4) : 391-404.

**12- Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK Jr, Calandra TF et al.** Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Treatment guidelines for candidiasis, *Clinical Infectious Diseases*; 2009, 48(5) : 503–535.

**13- Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bill J et al.** Guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clinical Microbiology and Infection*; 2012, 7 : 10–15.

**14- Ullmann AJ, Akova M, Herbrecht R, Viscoli C, Arendrup C, Arikan-Akdagli S, Bassetti M et al for the ESCMID Fungal Infection Study Group (EFISG).** Guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: adults with haematological malignancies and after haematopoietic stem cell transplantation (HCT). *Clinical Microbiology and Infection*; 2012, 7 : 53-67.

**15- Hope WW, Castagnola E, Groll AH, Roilides E, Akova M et al for the ESCMID Fungal Infection Study Group (EFISG).** Guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: prevention and management of invasive infections in neonates and children caused by *Candida spp.* *Clinical Microbiology and Infection*; 2012, 7 : 38-52.

**16- Lortholary O, Petrikos G, Akova M, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bassetti M. et al for the ESCMID Fungal Infection Study Group**

(EFISG). Guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: patients with HIV infection or AIDS. *Clinical Microbiology and Infection*; 2012, 7 : 68-77.

**17- Benjamin DK, Hudak ML, Duara S, Randolph DA, Bidegain M, Mundakel GT et al.** Effect of fluconazole prophylaxis on candidiasis and mortality in premature infants: a randomized clinical trial. *JAMA*; 2014, 311(17) : 1742-1749.

**18- AL-ameri NO, Hmood AL-Sa'adi A, Habeeb RA.** Detection of ERG11-2 gene in *Candida spp.* with resistant to some antifungal agents by Real Time PCR. *Journal of Natural Sciences Research*; 2014, 4(5) : 77-84.

**19- Dannaoui E.** Antifungal resistance in *Candida*: detection and mechanisms. *Revue Francophone des Laboratoires*; 2013, (450) : 71–77.

**20- Farmakiotis D, Tarrand JJ, Kontoyiannis DP.** Application of the combined CLSI/EUCAST breakpoints for azole and echinocandin susceptibilities of *Candida* isolates in a tertiary cancer center: the emerging threat of multidrug resistance. In: *Book of Abstracts of the 12th ASM Conference on Candida and Candidiasis Oral presentation*; New Orleans, LA; 2014, 26–30. S8; 5 : 60.

**21- Carvalho O, Okay TS, Melhem MS, Walderez M, Del Negro GM.** The new mutation L321F in *Candida albicans* ERG11 gene may be associated with fluconazole resistance. *Revista Iberoamericana de Micología*; 2013, 30(3) : 209-212. ok

**22- Miyazaki T.** A single amino acid mutation in IPI1 confers multi-antifungal resistance without affecting virulence in *Candida glabrata*. In: *Book of Abstracts of the 12th ASM Conference on Candida and Candidiasis*, Invited oral presentation; *New Orleans, LA*. 26–30; 2014, S 10C, 73.

**23- Forastiero A, Mesa AC, Alastruey A, Alcazar L, Bernal L et al.** *Candida tropicalis* antifungal cross-resistance is related to different azole target (Erg11p) modifications. *Antimicrobial Agents and Chemotherap*; . 2013, 57(10) : 4769-4781.ok

**24- Tan J, Zhang J, Chen W, Sun Y, Wan Z et al.** The A395T Mutation in ERG11 Gene Confers Fluconazole Resistance in *Candida tropicalis* Causing Candidemia. *Mycopathologia*; 2014, 179(3-4) : 213-218

**25- Ballet Y.** Profil antifongique de nouvelles chalcones à vecteur imidazopyridine vis-à-vis de *Candida albicans*. *Thèse d'Etat de Docteur en Pharmacie, Cote d'Ivoire*; 2013, N°1564 : 75p.

**26- Yoboue S.** Activités antifongiques de cinq hybrides de chalcone à support imidazopyridine vis-à-vis de *Candida albicans*, de *Candida tropicalis* et de *Candida glabrata*. *Thèse d'Etat de Docteur en Pharmacie, Cote d'Ivoire*; 2015, N°1717 : 69p.

**27- Develoux M, Bretagne S.** Candidoses et levures diverses. *EMC-Maladies Infectieuses*; 2005, 2 : 119–139.

**28- Bryskier A,** Antibiotiques : agent antibactériens et antifongiques. Edition ellipses Paris; 1999 : 1216p

**29- Pfaller MA., Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Colombo A.** Geographic and temporal trends in isolation and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis*: A global assessment from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program 2001 to 2005. *Journal of Clinical Microbiology*; 2008, 46(3) : 842–849.

**30- Talarmin JP, Bouteille D, Tattevin P, Dargère S, Weinbreck P, Ansart SJ.** Epidemiology of candidemia: A one-year prospective observational study in the west of France. *Médecine et maladies infectieuses*; 2009, 39(12) : 877-885.

**31- Warnock DW.** Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. *Japanese Journal of Medical Mycology*; 2007, 48(1) : 1-12.

**32- Ingroff EA.** Mechanisms of resistance to antifungal agents: Yeasts and filamentous fungi. *Revista Iberoamericana de Micología*; 2008, 25(2) : 101-106.

**33- Smagill S, Shields C, Sears CL, Choti M, Merz WG.** 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.

**34- Djohan V, Angora KE, Vanga-Bosson AH, Konaté A, Kassi FK, Yavo W, Kiki Barro PC et al.** Sensibilité *in vitro* des souches de *Candida albicans* d'origine vaginale aux antifongiques à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Journal de Mycologie Médicale*; 2012, 22(2) : 129-133.

**35- Sanglard D, Odds FC.** Résistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *The Lancet Infectious Diseases*; 2002, 2(2) : 73-85.

**36- Falagas ME, Apostolou KE, Pappas VD.** Attributable mortality of candidemia: a systematic review of matched cohort and case-control studies.. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*; 2006, 25(7): 419-425.

**37- Clevand AA, Harrison LH, Farley MM, Lockhart SR, Hollick R et al.** Declining Incidence of Candidemia and the Shifting Epidemiology of *Candida* Resistance in Two US Metropolitan Areas, 2008–2013: Results from Population-Based Surveillance. *PLoS One*; 2015, 10(3) : e0120452.



**38- Lockhart SR, Iqbal N, Cleveland AA, Farley MM, Harrison LH et al.** Species identification and antifungal susceptibility testing of *Candida* bloodstream isolates from population-based surveillance studies in two US cities from 2008 to 2011. *Journal of Clinical Microbiology*; 2012, 50(11) : 3435–3442.

**39- Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Cortes J, Zurita J et al.** Latin American Invasive Mycosis Network. Epidemiology of candidemia in Latin America: a laboratory-based survey. *Plos One*; 2013, 8(3) : e 59373.

**40- Guo F, Yang Y, Kang Y, Zang B, Cui W et al. China-SCAN Team.** Invasive candidiasis in intensive care units in China: a multicentre prospective observational study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2013, 68(7) : 1660–1668. doi: 10.1093/jac/dkt083

**41- Nagao M.** A multicentre analysis of epidemiology of the nosocomial bloodstream infections in Japanese university hospitals. *Clinical Microbiology and Infection*; 2013, 19(9) : 852–858

**42- Oeser C, Lamagni T, Heath PT, Sharland M, Ladhani S.** The epidemiology of neonatal and pediatric candidemia in England and Wales, 2000–2009. *The Pediatric Infectious Disease Journal*; 2013, 32(1) : 23–26.

**43- Menan H, Messou E, Adoubryn K, Yavo W, Kiki-Barro P, Vanga H et al.** Recherche de *Candida dubliniensis* chez des patients VIH+ à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Journal de Mycologie Médical*; 2008, 18(4) : 228-233.

**44- Tia H, Akoua Koffi C, Adou Brin KD, Boka C, Monemop, Edo V**

Etiologies parasitaires et fongiques des vulvo-vaginites au laboratoire jean baptiste mockey du CHU de treichville, abidjan. 7<sup>ème</sup> Congrès de la Société Africaine de Parasitologie Décembre 2014 ; Session 7 : Champignons, parasites et interventions (1) ; résumé communication orale 41.

**45- N'diaye JL, Sow D, Tchami H, Tine RCK, Sylla K, N'diaye M, et al.**

Candidoses vulvovaginales et oropharyngées en milieu hospitalier au senegal : aspects epidemiologiques, cliniques et paracliniques de 2012 à 2014. 7<sup>ème</sup> Congrès de la Société Africaine de Parasitologie, Décembre 2014 ; Session 7 : Champignons, parasites et interventions (1) ; résumé communication orale 38.

**46- Zida A, Diop M, Diallo I, Drabo J, Guiguemde TR.** Candidoses oropharyngées chez les patients du centre national de reference vih/sida a ouagadougou. 7<sup>ème</sup> Congrès de la Société Africaine de Parasitologie Décembre 2014 ; Session 7 : Champignons, parasites et interventions (1) ; résumé communication orale 39

- 47- Nzenze-Afene-Andeme S, Benmostef A, Chevalier A, Bouyou-akotet M, Bailly E et al.** *Candida Africana* : un agent fongique commun des vaginites candidosiques a libreville. 7<sup>ème</sup> Congrès de la Société Africaine de Parasitologie Décembre 2014 ; Session 7 : Champignons, parasites et interventions (1) ; résumé communication orale 36.
- 48- Pappas PG.** Invasive candidiasis. *Infectious Disease Clinics of North America*; 2006, 20(3) : 485–506.
- 49- Lagane C.** Rôle de l'il-13 et des ligands de ppar- $\gamma$  dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida albicans*, implication de ppar- $\gamma$ , *Thèse de doctorat université de Toulouse* ; 2007 : 51p
- 50- Hester RA, Kennedy SB.** *Candida* Infection as a Risk Factor for HIV Transmission. *Journal of Women's Health*; 2003, 12(5) : 487-494.
- 51- Jindal N, Gill P, Aggarwal A.** An epidemiological study of vulvovaginal candidiasis in women of childbearing age. *Indian Journal of Medical Microbiology*; 2007, 25(2) : 175-176.
- 52- Irimes C.** Caractérisation génétique, phénotypique et formation de biofilm des souches de *Candida albicans* répondant ou non au farnésol. *Thèse de doctorat Montréal*; 2010 : 132p.

**53- Allatin NF**, Etude de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques des souches de *Candida Albicans* isolées des prélèvements vaginaux a Abidjan à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. *Thèse d'Etat de Docteur en Pharmacie, Côte d'Ivoire*; 2013, N°1509 : 118 p.

**54- Cornu A.** Etude des gènes de la famille *IFF* dans les interactions de *Candida albicans* avec l'hôte. *Thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie moléculaire AgroParisTech*; 2010 : 115p

**55- Vandeputte P.** Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida glabrata*. *Thèse de doctorat Angers*; 2008, 930 : 168p

**56-** Morphologie of *Candida glabrata* (BCRC 22789). [www.bcrc.firdi.org.tw](http://www.bcrc.firdi.org.tw) (Consulté le **25 Juillet 2015**).

**57- Chabasse D, Guigen, Cl, Contet N,** *Mycologie médicale*. Paris : MASSON; 1999, 324p

**58- Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams D, Azeredo J.** *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*. Biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiology Reviews*; 2012, 36(2) : 288–305.

**59- Da Costa KR, Christina J, Lavrador MA, Baruffi MD.** Virulence attributes and genetic variability of oral *Candida albicans* and *Candida tropicalis* isolates. *Mycoses*; 2012, 55(3) : e97–e105.

**60-** [pa-ucl.com/wwwdocs/micro/microbiology](http://pa-ucl.com/wwwdocs/micro/microbiology) (Consulté le 01 Août 2015)

**61- Maertens J.A.** History of the development of azolés derivatives. *Clinical Microbiology and Infection*; 2004, 10 : 1-10.

**62- Woolley DW.** Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines. *The Journal of Biological Chemistry*; 1944, 152 : 225-232.

**63- Posteraro B, Torelli R, De Carolis E, Posteraro P, Sanguinetti M.** Antifungal Susceptibility Testing: Current Role from the Clinical Laboratory Perspective *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*; 2014, 6(1) : e20140300.

**64- Kanafani ZA et Perfect JR.** Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents mechanisms and clinical impact. *Clinical Infectious Diseases*; 2008, 46 : 120-128.

**65- Piens MA, Monbrison F, Picot S.** Etude de la sensibilité des levures aux antifongiques en pratique médicale. *La lettre de l'infectiologie*; 2003, 18(6) : 222-226.

**66- Anderson JB**, Evolution of antifungal-drug resistance: mechanisms and pathogen fitness. *Nature Reviews Microbiology*; 2005, 3(7) : 547-556.

**67- Andargachew M, Afework K, Belay A, Beyene M, Aschalew G et al.** Frequent detection of 'azole' resistant *Candida* species among late presenting AIDS patients in northwest Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*; 2013, 13:82.

**68- Lortholary O, Pagano L et Agrawal S.** Risque infectieux fongique en hématologie : Quels sont les nouveaux enjeux? *31ème congrès annuel de la Société française d'hématologie* 2014.

**69- Pfaller M A.** Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *The American journal of medicine*; 2012, 125(1) : S3-S13.

**70- Magill S, Shields C, Sears CL, Choti M et Merz WG.** Resistance croisée aux dérivés 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.

**71- Vandeputte P, Ferrari S et Coste AT.** Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. *International journal of microbiology*; 2012 : 2012(713687) : 1-26.

**72- Lin MY, Carmeli Y, Zumsteg J.** Prior antimicrobial therapy and risk for hospital-acquired *Candida glabrata* and *Candida krusei* fungemia: a case-control study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 2005, 49(11) : 4555-4560.

**73- Malani A, Hmoud J, Chiu L, Carver PL, Bielaczyc A, Kauffman C.** *Candida glabrata* fungemia: experience in a tertiary care center. *Clinical Infectious Diseases*; 2005, 41(7) : 975-981.

**74- Rahalison L, Hamburger MO, Monod M, Frenk E et Hostettmann K.** A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry Analysis* 1991; 2(5) : 199-203.

**75- Rahalison L, Hamburger M, Monod M, Frenk E et Hostettmann K.** Antifungal tests in phytochemical investigations comparison of bioautographic methods using phytopathogenic and human pathogenic fungi, *Planta Medica*; 1994, 60(1) : 41-44.

**76- Rajesh RG.** Studies on Some Heterocyclic Entities of Medicinal, *Interest thesis PhD, Saurashtra University*; 2011: 102-116.

**77- Faizan NM, Abdullah MI, Badshahc A, Mahmoodd Asif, Ranae UA, Ud-Din Khane S.** Synthesis, structure–activity relationship and molecular

docking of cyclohexenone based analogous as potent non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors. *Journal of Molecular Structure*; 2014, 1086 : 8–16.

**78- Vyas DH, Tala SD, Akbari JD, Dhaduk MF, Joshi HS.** Synthésis, antimicrobial and antitubercular activity of some cyclohexenone and indazole derivates. *Indian Journal of Chemistry*; 2009, 48 : 1405-1410.

**79- Monga V, Goyal K, Steindel M, Malhotra M, Rajani DP et Rajani SD,** Synthesis and evaluation of new chalcones, derived pyrazoline and cyclohexenone derivatives as potent antimicrobial, antitubercular and antileishmanial agents. *Medicinal Chemistry Research*; 2014, 23(4) : 2019-2032.

**80- Li JY, Strobe GA.** Jesterone and hydroxy-jesterone antioomycete cyclohexenone epoxides from the endophytic fungus *Pestalotiopsis jesteri*. *Phytochemistry*; 2001, 57(2) : 261-265.

**81- Scribner A, Dennis R, Lee S, Ouvry G, Perrey D et al.** Synthesis and biological activity of imidazopyridine anticoccidial agents: Part II. *European Journal of Medicinal Chemistry*; 2008, 43(6) : 1123-1151.



## RESUME

**Justification** : Les candidoses sont des infections fongiques cosmopolites causées par des levures ubiquitaires appartenant au genre *Candida*. Ces levures peuvent provoquer des infections superficielles et des infections viscérales graves à l'origine de milliers de décès par an. Malheureusement, la mauvaise utilisation des antifongiques a contribué à la prolifération de souches résistantes à l'origine de leur inefficacité thérapeutique. L'objectif de ce travail était d'évaluer les activités antifongiques de quatre imidazopyridinyl-cyclohexénones vis-à-vis de trois espèces de *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. glabrata*), afin d'identifier un chef de file antifongique potentiel puis entreprendre son développement pharmacochimique.

**Matériel et méthode** : Les dérivés imidazopyridinyl-cyclohexénones fournis par le Département de Chimie Thérapeutique de l'UFR SPB d'Abidjan, ont été préalablement édifiés par synthèse chimique totale et caractérisés par les méthodes spectroscopiques habituelles. Un screening antifongique de ces dérivés sur les trois espèces de *Candida* a été réalisé par la technique de bioautographie afin d'établir leur statut antifongique. Par la suite les activités anticandidosiques des dérivés de cyclohexénone retenus ont été évaluées et exprimées en Concentration Minimales Inhibitrice (CMI) suivant la technique de dilution en microplaque.

**Résultats** : L'efficacité des dérivés imidazopyridinyl-cyclohexénones sur chaque espèce de *Candida* est donnée par sa CMI exprimée en  $\mu\text{g/ml}$  et comparée à celle du Fluconazole. Les résultats montrent que nos quatre dérivés sont doués d'activité anticandidosique avec des CMI variant de 0,312 à 2,5  $\mu\text{g/ml}$ . Sur *Candida albicans*, le **composé 4** s'est révélé le plus efficace. Par ailleurs, la meilleure performance sur *Candida tropicalis* est obtenue avec le **composé 3**. Sur *Candida glabrata* par contre, les quatre (04) composés ont présenté la même efficacité anticandidosique. En définitive, les meilleurs profils anticandidosiques sont obtenus avec les **composés 3** et **4** avec des CMI variant de 0,312 à 2,5  $\mu\text{g/ml}$ .

**Conclusion** : Notre approche pharmacochimique a permis de valider l'enchaînement arylpropénone sous sa forme cyclique de cyclohexénone et porté par l'hétérocycle imidazopyridine comme nouveau pharmacophore antifongique. Ces résultats nous offrent des voies de recherches en vue de la constitution d'une nouvelle classe d'antifongiques de synthèse totale.

**Mots Clés** : Antifongique. Imidazopyridine. Cyclohexénones. *Candida albicans*. *Candida tropicalis*. *Candida glabrata*.