



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE de TLEMCCEN

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et
de l'Univers**

Département de Biologie

Laboratoire

« Antibiotiques antifongiques : physicochimie, synthèse et activité biologique »

MEMOIRE

Présenté par

Benkou Merieme

Rahal Soumia

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en sciences biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Évaluation de l'effet de quelques composés phénols sur la
levure *Candida albicans***

Soutenu le 19 /10/2020, devant le jury composé de :

Président	M ^{elle} BENARIBA Nabila	MCA	Université Tlemcen
Encadreur	M ^{me} SARI Lamia	Professeur	Université Tlemcen
Examineur	M ^{me} Benmansour Meriem	MCB	Université Tlemcen

Année universitaire 2019/2020

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné courage, patience et force durant toutes ces années d'étude.

*Notre encadreur Madame **Sari Lamia** Professeur, à la faculté de des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaid -Tlemcen, pour avoir accepté de nous encadré, et qui a proposé le thème de ce mémoire, et pour ses conseils qui ont amélioré la réalisation de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent à Mme **BENARIBA Nabila** maître de conférences classe « A » au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Nous adressons nos sincères gratitudees à Mme **Benmansour Meriem**, Maître de conférences B au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de commenter et discuter ce modeste travail.*

*À tous les étudiants de master 2 biochimie appliquée.
À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

«La connaissance s'acquiert par l'expérience, tout le reste n'est que de l'information».

Albert Einstein

Mathématicien, Physicien, Scientifique (1879-1955)

Dédicaces

En premier lieu et avant tout, je prie Dieu de m'avoir donné la volonté et le courage d'achever mes études.

*Je dédie ce mémoire
Aux êtres les plus chers : Mes parents,*

(Abdelhafid et Malika) qui m'ont soutenus et encouragés durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une longue et heureuse vie, que Dieu les protège et me donne la force pour que je puisse leurs rendre un petit peu de leurs bien faits malgré que je ne peux jamais arriver à faire ça.

A mon cher mari Djedoui Mohammed El Amine

*A mon cher frère (Yacine) et mes soeurs (Fatima zohra et Soumia)
pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.*

A Soumia, chère amie avant d'être binôme

A mes chère(s) copin(e)s

En fin, à tous ceux que j'aime, et qui m'aiment

Merieme

Dédicaces

Je dédie ce Modeste travail

*A ma chers maman (Ikram) qui ma soutenue et encouragé durant
ces années d'études*

*A mes très chers frères (Abdelhak) et sa petite famille,
(Abdelhakim et Mohamed), Puisse Dieu vous donne santé,
bonheur, courage, et surtout réussite*

A ma grand-mère

*A toute ma famille, mes proches, et ma chère cousine (Djamila)
qui me donnent l'envie d'aller en avant.*

*A mon meilleur ami (Imen) en témoignage de l'amitié sincère qui
nous a liées et des bons moments passés ensemble*

*A tous mes chères amies pour leurs aides et support dans les
moments difficiles*

*A toutes personnes qui occupe une place dans mon cœur
Sans oublier mon binôme (Merieme) pour son soutien moral, sa
patience et sa compréhension tout au long de ce travaille.*

En fin, à vous chers lecteurs

Soumia

العنوان: تقييم تأثير بعض مركبات الفينول على خميرة المبيضات البيضاء

ملخص:

تمثل العدوى الفطرية حاليًا مشكلة صحية عامة حقيقية. بالنظر إلى أن خميرة *Candida albicans* تكتسب مقاومة لمضادات الفطريات المتاحة، فإن البحث عن جزيئات نشطة جديدة أمر ضروري. للمساهمة في البحث عن بدائل علاجية، فقد اهتمنا بدراسة النشاط المضاد للفطريات، في المختبر، لمركبي بوليفينول وهما حمض الغاليك وحمض التانيك ضد خميرة المبيضات البيضاء.

الكلمات الرئيسية:

المبيضات البيض، البوليفينول، مضادات الفطريات، حمض الغاليك، حمض التانيك.

Le titre : Evaluation de l'effet de quelques composés phénols sur la levure *candida albicans*

Résumé :

Les infections fongiques représentent actuellement un véritable problème de santé publique. Vu que la levure *Candida albicans* acquiert des résistances aux antifongiques disponibles, la recherche de nouvelles molécules actives est donc une nécessité. Pour contribuer à l'effort de recherche d'alternative thérapeutiques, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antifongique, *in vitro*, de deux composés polyphénol qui sont l'acide gallique et l'acide tannique envers la levure de *Candida albicans*

Mots clés :

Candida albicans, polyphénol, antifongiques, acide gallique, acide tannique.

The title: Evaluation of phenols compounds effect on the yeast *candida albicans*

Summary

Fungal infections currently represent a real public health problem. Given that the yeast *Candida albicans* acquires resistance to available antifungals, the search for new active molecules is therefore a necessity. To contribute to the search for therapeutic alternatives, we were interested in the study of the antifungal activity, *in vitro*, of two polyphenol compounds which are gallic acid and tannic acid against the yeast of *Candida albicans*.

Keywords:

Candida albicans, polyphenol, antifungals, gallic acid, tannic acid.

Sommaire

Première partie : Synthèse bibliographique

1- Résistance de <i>Candida albicans</i> aux antifongiques.....	02
2- Les polyphénols.....	08
3- Classification des polyphénols.....	09
3.1. Acides phénoliques.....	11
3.2. Les tanins.....	11
3.3. Les flavonoïdes.....	12
3.4. Les stilbènes.....	13
3.5. Les lignanes.....	13
3.6. Lignines polymères.....	14
4- Les propriétés antimicrobiennes des produits phénoliques.....	14

Deuxième partie : Matériels et Méthodes

1- Matériel biologique	16
2- Préparation de l'inoculum.....	16
3- Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI).....	16
3.1. Préparation de la solution mère du composé polyphénol à tester.....	16
3.2. Préparation de la microplaque.....	17

Troisième partie : Résultats et Discussion

1- Détermination de la concentration minimale (CMI) inhibitrice de l'acide tannique.....	19
2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'acide gallique.....	20

Quatrième partie : Conclusion23

Cinquième partie : Références bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Les principales classes des composés phénoliques.....10

Tableau n°2 : Activités biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme.....15

Liste des Figures

Figure n°1 : Morphologie de <i>Candida albicans</i>	02
Figure n°2 : Action mécanique des polyènes sur l'ergostérol provoquant la formation de pores au niveau de la membrane cellulaire de la levure.....	02
Figure n°3 : Inhibition de la synthèse de l'ergostérol par les dérivées azolés.....	03
Figure n°4 : Destruction de la paroi fongique par inhibition de l'enzyme β -1,3-glucane synthétase, causée par l'action des échinocandines.....	04
Figure n°5 : Forme toxique de la 5-fluorocytosine, responsable de l'inhibition de la synthèse de l'ADN de la cellule fongique	05
Figure n°6 : Mécanismes de résistances aux antifongiques.....	06
Figure n°7 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	09
Figure n°8 : Structures de quelques acides phénols.....	11
Figure n°9 : Structure de l'acide tannique.....	12
Figure n°10 : Squelette de base des flavonoïdes	12
Figure n°11 : Structure de base de stilbène.....	13
Figure n°12 : Structure générale des lignanes.....	13
Figure n°13 : Schéma de préparation des dilutions du composé polyphénol à tester.....	17
Figure n°14 : Plaque 96 puits pour la détermination des paramètres CMI et CMB...	17
Figure n°15 : Microplaque à 96 puits après incubation de 48h à 37°C.....	20

Liste des abréviations

C.albicans : *Candida albicans*

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ATCC: American Type Culture Collection

5-FC: La 5-fluorocytosine

RPMI: Roswell Park Memorial Institute Medium

CMI: Concentration minimale inhibitrice

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

synthèse bibliographique

Candida albicans est un pathogène nosocomiale opportuniste qui ne cesse de provoquer des problèmes de santé grave dans les structures de soins (**Marot et coll., 1993**). Cette levure est responsable d'infections qui par leurs gravités et leurs fréquences constantes se situent au premier rang des infections fongiques malgré le développement de nouveaux moyens thérapeutiques, en particulier chez des patients immunodéprimés [(**Anofel, 2007**), (**Bodey et coll., 2002**), (**Diekema, 2007**), (**Pfaller et Diekema, 2007**) (**Samaranayake et coll., 2002**)].

Candida albicans possède des mécanismes d'adaptation complexes lui permettant de survivre dans diverses conditions environnementales et de causer une grande variété d'infection : superficielles (candidoses muco-cutanées) ou profondes (candidoses systémiques, souvent mortelles). Les candidoses systémiques sont le plus souvent des infections nosocomiales, et sont préoccupantes du fait de leur morbi-mortalité importante. La levure colonise, par voie endogène ou exogène, un ou plusieurs organes internes voire l'ensemble de l'organisme avec comme sites de dissémination les reins, le cœur, les poumons, le foie, les yeux, le système nerveux et la peau (**Chabasse et coll., 2006**). La transition saprophyte-pathogène s'opère à la suite d'une baisse des défenses immunitaires de l'hôte (locales ou générales), permettant la multiplication des levures [(**Segal, 2005**) ; (**Sarazin, 2010**)].

Candida albicans est une levure qui se trouve dans les cavités naturelles de l'homme (buccale, intestinale ou vaginale) où il vit de façon normale et exclusive chez 15 à 30% des sujets sains (**Salerno et coll., 2011**). Ainsi, on le rencontre couramment dans le tube digestif où il peut apparaître dans les 24 heures suivant la naissance. C'est un saprophyte exclusif des muqueuses (**Bouchet et coll., 1989**).

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, aérobie, diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes. Cette levure peut mesurer de 3 à 15µm (**Kabha et coll., 1995**) (**figre1**).

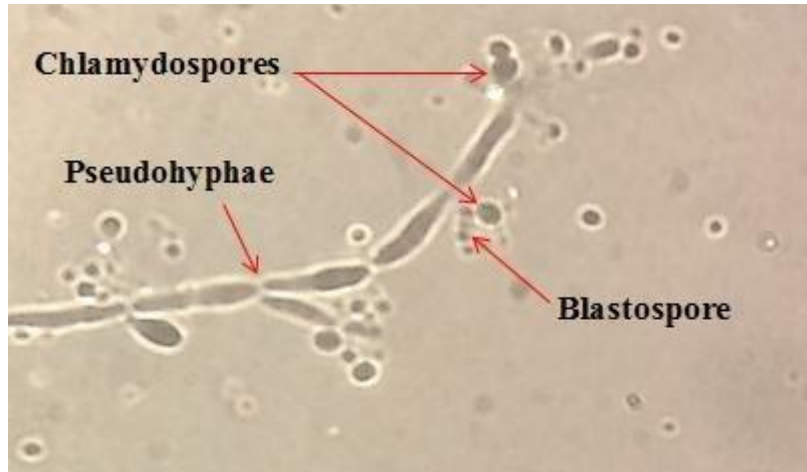


Figure 1: Morphologie de *Candida albicans* (Ali R. Hameed et coll., 2018)

1. Résistance de *Candida albicans* aux antifongiques :

Il existe quatre principales familles de molécules antifongiques : les polyènes, les dérivés azolés, les échinocandines et les pyrimidines.

- Les polyènes :

Ce sont des molécules qui ont la capacité de se fixer aux stérols membranaires des champignons, ils sont principalement représentés par l'amphotéricine B et ses dérivés lipidiques. La fixation de cette molécule macrocyclique à l'ergostérol modifie la perméabilité de la membrane, cela conduit à une fuite extracellulaire des électrolytes et à un effet fongicide (Anderson et coll., 2014) (figure2).

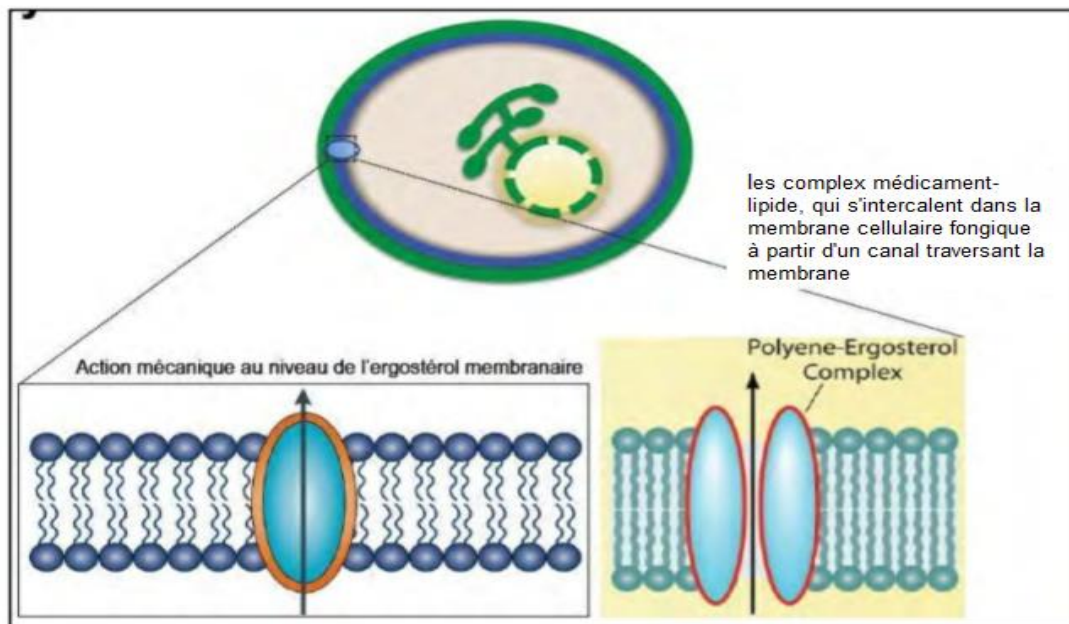


Figure 2 : Action mécanique des polyènes sur l'ergostérol provoquant la formation de pores au niveau de la membrane cellulaire de la levure (Cowen, 2008)

- Les dérivés azolés :

Parmi les azolés, on distingue ceux qui sont utilisés uniquement par voie locale (bifonazole, éconazole, isoconazole), ceux uniquement par voie orale (itraconazole) et ceux utilisés des deux manières (miconazole, fluconazole). Ils bloquent la synthèse de l'ergostérol, le principal stérol de la membrane cellulaire fongique, en inhibant la lanostérol 14- α -déméthylase qui catalyse la diméthylation du lanostérol qui est critique pour la biosynthèse de l'ergostérol (Sorgo et coll., 2011) (figure3).

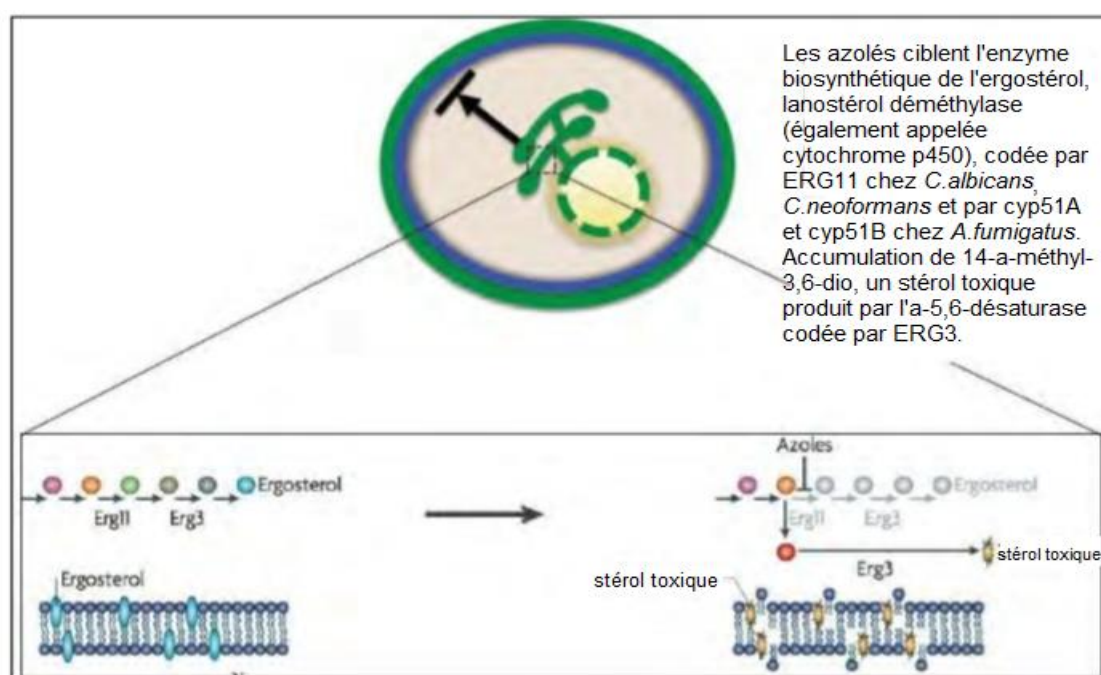


Figure 3: Inhibition de la synthèse de l'ergostérol par les dérivées azolés (Cowen, 2008)

- Les échinocandines :

Les échinocandines ont un effet inhibiteur dans la synthèse de la paroi fongique en inhibant la sous unité catalytique de la 1,3 β -D-glucane-synthase impliquées dans la synthèse de β D-glucane qui est un composant de la paroi du champignon. La modification de cette paroi entraîne à son tour des changements fatals à l'intérieur de la cellule (Odds, 2003) (figure4).

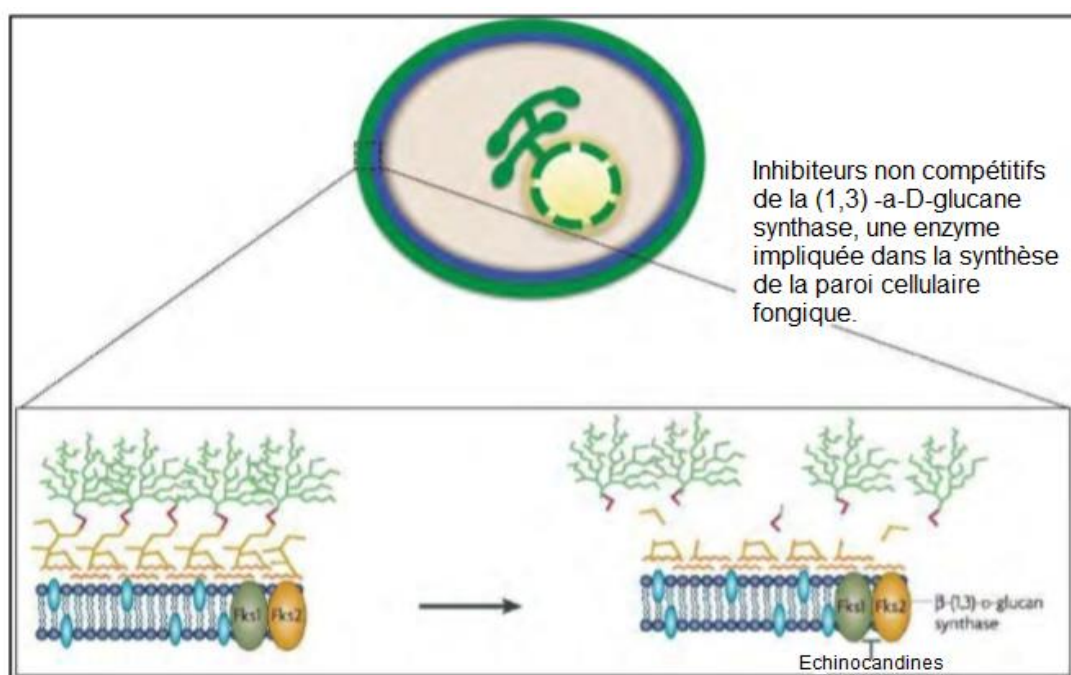


Figure 4: Destruction de la paroi fongique par inhibition de l'enzyme β -1,3-glucane synthétase, causée par l'action des échinocandines (Cowen, 2008).

- La 5-fluorocytosine: (dérivé pyrimidique) :

Ce sont des molécules qui perturbent le métabolisme de l'ADN de la cellule du pathogène. Leur pénétration aboutit à l'arrêt de la synthèse des protéines en inhibant la synthèse des acides nucléiques (AND, ARN) par formation d'antimétabolites toxiques, ce qui entraîne fatalement la mort de la levure [(Sanglard et coll, 2002) ; (Paluszynskiet coll., 2006)] (figure5).

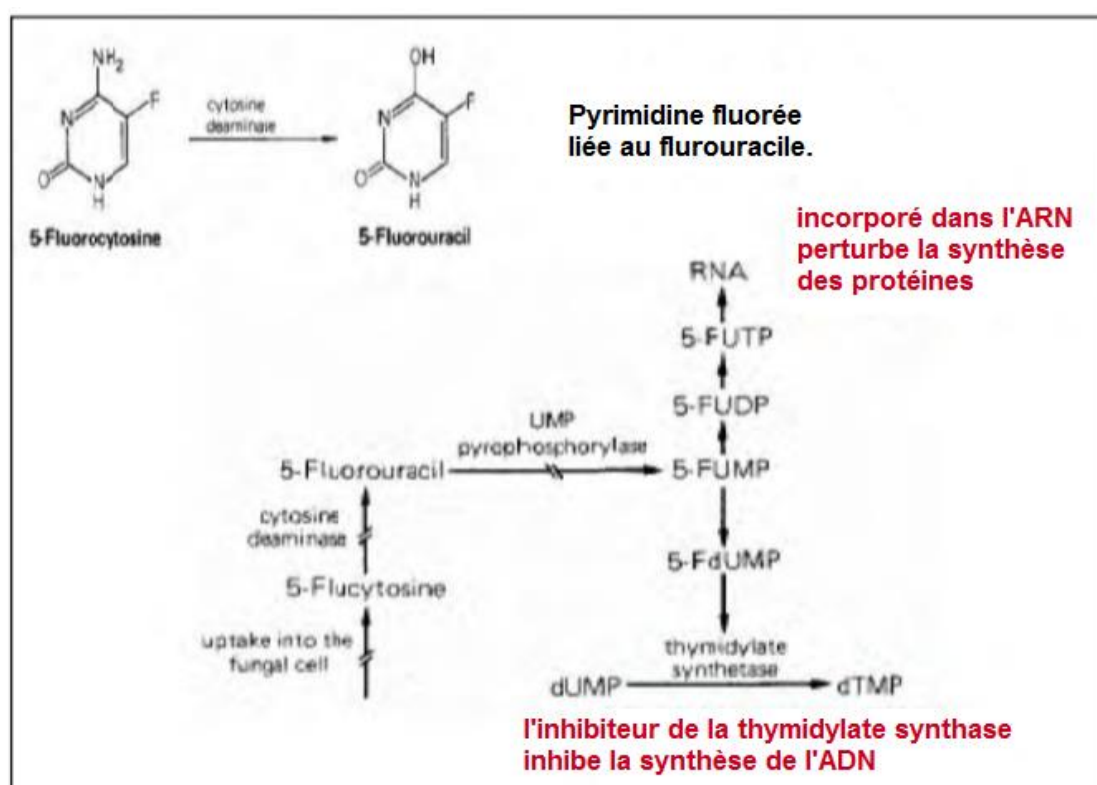


Figure 5 : Forme toxique de la 5-fluorocytosine, responsable de l'inhibition de la synthèse de l'ADN de la cellule fongique (Dannoui, 2007)

Cette résistance peut résulter (**figure 6**) :

- d'un défaut de transport ou de pénétration de l'antifongique à l'intérieur de la cellule fongique (**El Kirat, 2010**).
- d'un défaut de transformation de l'antifongique en forme active toxique (**El Kirat, 2010**).
- d'un changement de la cible cellulaire de l'antifongique (**El Kirat, 2010**).
- d'une absence de la cible et de son remplacement par le recrutement ou le détournement d'un autre métabolite (**El Kirat, 2010**).
- d'une surproduction de la cible cellulaire de l'antifongique qui est due à certaines mutations ponctuelles (**Mallory, 2012**).
- d'un efflux actif de l'antifongique. Les principales familles de transporteurs qui sont impliquées dans ce type de résistance sont les transporteurs de type MF (Major Facilitator), codé par le gène MDR1 chez *C. albicans* et les transporteurs de type ABC (ATP-Binding Casette), codé par le gène CDR1 et CDR2 chez *C. albicans*. (**Coste et coll., 2007**).
- d'un détoxification (**El Kirat, 2010**).

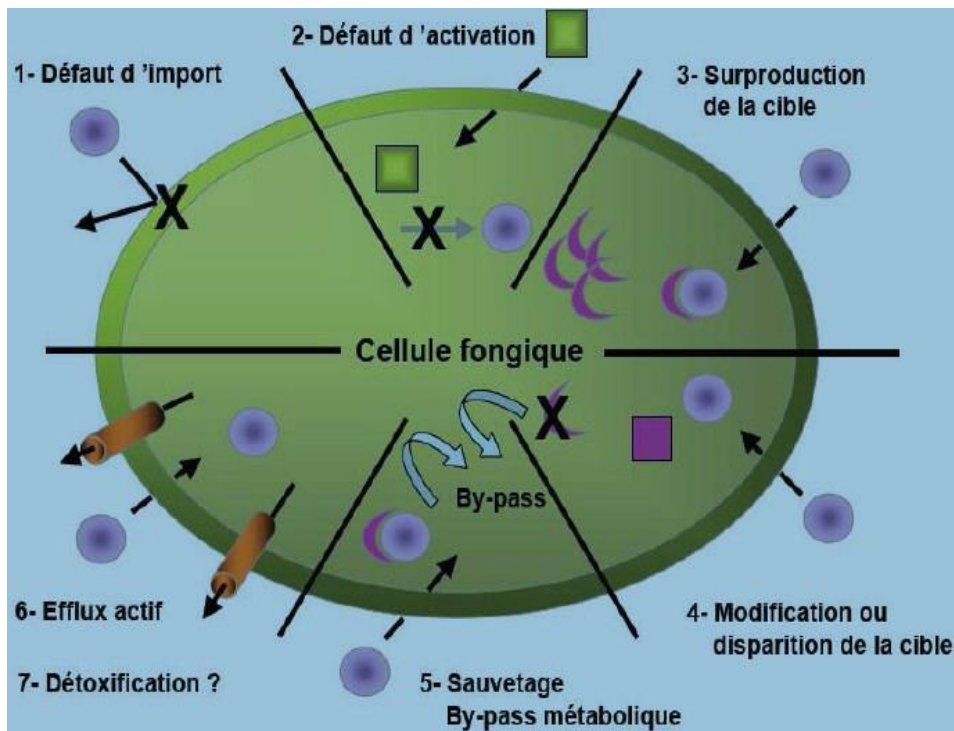


Figure 6 : Mécanismes de résistances aux antifongiques (El Kirat, 2010).

En raison de l'acquisition de cette résistance aux antifongiques par *Candida albicans*, différents travaux se sont orientés vers la recherche des effets antifongiques des plantes. Citons les études de :

- **Chebaibi et coll., (2016)** dont les résultats ont montré que les huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* (menthe à feuilles rondes), *Majorana hortensis* (marjolaine), *Pelargonium graveolens* (géranium rosat), *Salvia officinalis* (sauge), *Lavandula stoechas* (lavande stéchade), *Lavandula angustifolia* (lavande vraie), *Myrtus communis* (myrte), ont une action antifongique intéressante envers *C. albicans*.
- **Yilmaz et coll., (2013)** qui observent une sensibilité de *C. albicans* à l'huile essentielle de *Laurus Nobilis* (laurier noble).
- **Giordani et coll., (2008)** sur l'*Artemisia herba-alba* Asso (l'armoise blanche) qui semble également avoir une activité contre *Candida albicans*.
- Et celle de **Yadegarinia et coll., (2006)** qui met en évidence l'effet anti-*Candida albicans* de l'huile essentielle de *Mentha Piperita* L. (Menthe Poivrée).

Or toutes ces plantes citées ci-dessus ont dans leur composition chimique des molécules de nature polyphénols. En effet, la menthe poivrée est composée essentiellement de flavonoïdes (lutéolme, menthosides), tocophérols, azulènes, l'acide rosmarinique, des terpènes, des caroténoïdes, des tanins et des huiles essentielles (**Iserin P., 2001**) (**Charles, D., 2013**). De même, le laurier noble qui contient des flavonoïdes polaires (dérivées glycosylées de quercétine, catéchine et de kaempferol), et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol) (**Fiorini et coll., 1998**) (**Kivçak et coll., 2002**) alcaloïdes d'isoquinoline, sesquiterpènes lactones (**Simié et coll., 2003**) (**Kivçak et coll., 2002**), en plus **Demo et coll., 1998**, **Gomez et coll., 2004** ont montré la richesse des feuilles de la plante en vitamine E

L'armoise blanche est riche essentiellement en flavonoïdes : flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols), flavonoïdes méthylés et flavonoïdes glycosides tels que quercétine-3 glucoside et flavones C-glucosides (**Saleh et coll., 1987**) (**Saleh et coll., 2005**)

Il semblerait que les molécules de nature polyphénols ont un pouvoir antifongique. C'est pourquoi nous sommes intéressés dans cette étude à l'évaluation de l'effet de quelques composés polyphénols sur la croissance de *Candida albicans*.

2. Les polyphénols

Les phénols sont des produits de métabolites secondaires retrouvés dans le règne végétal et qui sont regroupés en 8000 composés (**Celhay, 2013**). Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques, portant une ou plusieurs fonctions hydroxyle (**Zouid, 2011**), libres ou engagés dans une fonction ester, éther ou hétéroside (**Krief, 2003**) qui peuvent être méthylés, acylés ou glycosylés (**Khater, 2011**).

Les phénols naturels sont retrouvés dans plusieurs plantes et aliments notamment les fruits, les légumes qui sont considérées comme étant une source importante de l'alimentation riche en polyphénols, le thé, les céréales surtout les céréales pigmentées tels que le riz noire, rouge et pourpre, les microalgues, les fleurs comestibles et sauvages ainsi que les plantes médicinales. [(**Alldritt et coll., 2019**), (**Deng et coll., 2013**) (**Li et coll., 2013**)]

Les composés phénoliques sont synthétisés par deux voies de biosynthèse :

- La voie de l'acide shikimique qui fournit un chemin alternatif aux molécules aromatiques, en particulier les acides aminés aromatiques comme : la tyrosine, la phénylalanine et le tryptophane. L'érythrose-4-phosphate avec le phosphoénolpyruvate, forment le shikimate (**Dewick, 2009**).

- La voie de l'acétate/ malonate. La β -oxydation et la glycolyse forment l'acétylCoA en donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétylCoA (**Boubekri, 2014**).

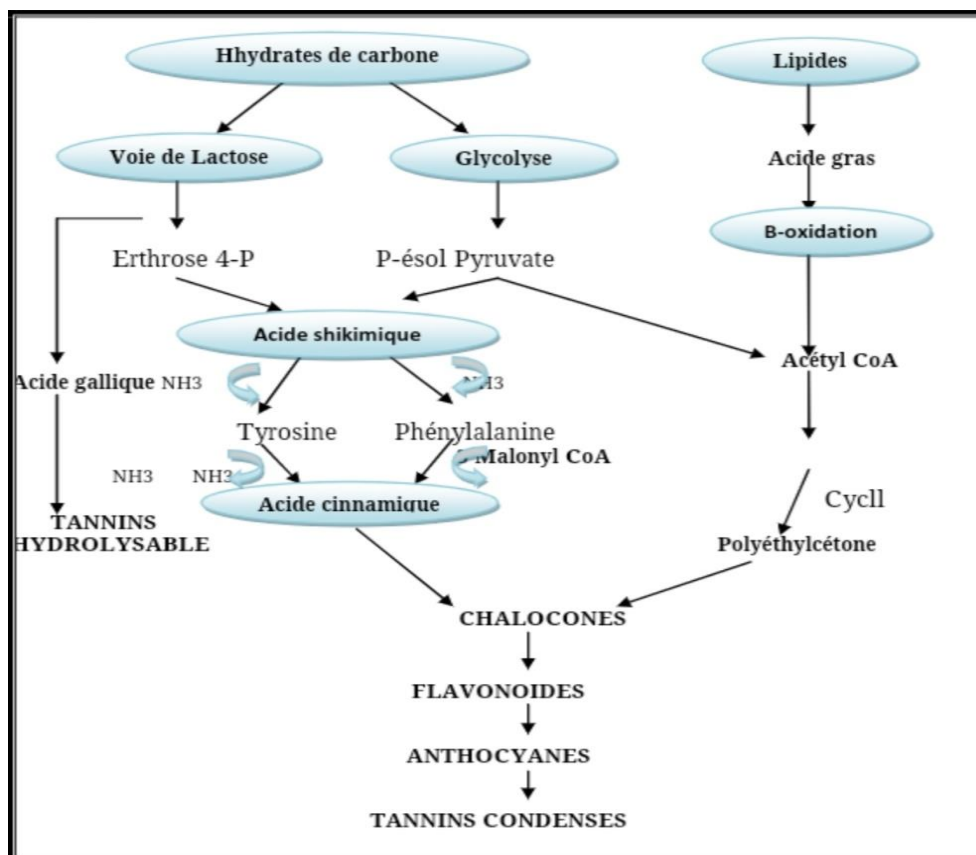


Figure 7 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Akroum, 2011).

3. Classification des polyphénols

Les polyphénols sont classés en groupes selon le nombre des noyaux phénoliques et les éléments structurels qui relient ces cycles. Ils peuvent être divisés en différentes classes (tableau1) qui sont phénols simples (C₆ : hydroquinone), acides phénoliques (C₆-C₄ : acide p-hydroxybenzoïque), coumarines (C₃-C₆: acide p-coumarique), naphthoquinones (C₆-C₄ : juglone), stilbénoides (C₆-C₂-C₆ : trans- resvératrol), flavonoïdes (C₆- C₃-C₆ : kaempférol), isoflavonoïdes (daïdzéine), et les anthocyanes (delphinidol). Les formes polymérisées sont les lignanes et les tanins condensés (Garcia-Salas et coll., 2010).


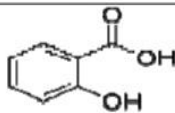
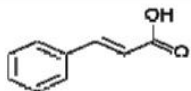
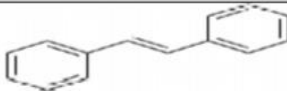
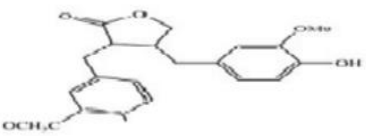
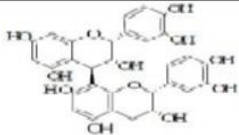
Sont présent partout dans les racines, les tiges, bois, les feuilles, les fleurs et les fruits des plantes vasculaires (Nkhili, 2009). La majorité de composés polyphénoliques se trouve dans les fruits, les noix et les légumes alimentaires (Alldritt, I. et coll., 2019).

Au niveau tissulaire de la plante, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle, on indique par exemple les flavonoïdes et les anthocyanes qui sont présent dans l'épiderme.

Au niveau cellulaire, ils sont trouvés dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi.

Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes. (**Boubekri, 2014**)

Tableau 1: Les principales classes des composés phénoliques (Halmi, 2015)

Squelette carbonée	classe	Structures de base
C6	Phénol simple	
C6-C1	Acide hydroxybenzoïque	
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques comarines	
C6-C2-C6	Stilbènes	
(C6-C3)2	Lignanes	
(C6-C3-C6) n	Tanins condensés	

3.1. Acides phénoliques

Ils sont retrouvés dans certaines plantes agricoles et médicinales. Ce sont des dérivés de l'acide hydroxybenzoïque tels que l'acide gallique ou l'acide cinnamique comme l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide férulique. Ces acides phénoliques sont considérées comme des substances photochimiques avec des effets antioxydants, de chélation, et anti-inflammatoires, leurs toxicité est faible et sont considérés généralement comme non toxiques. (Zouaoui, 2012)

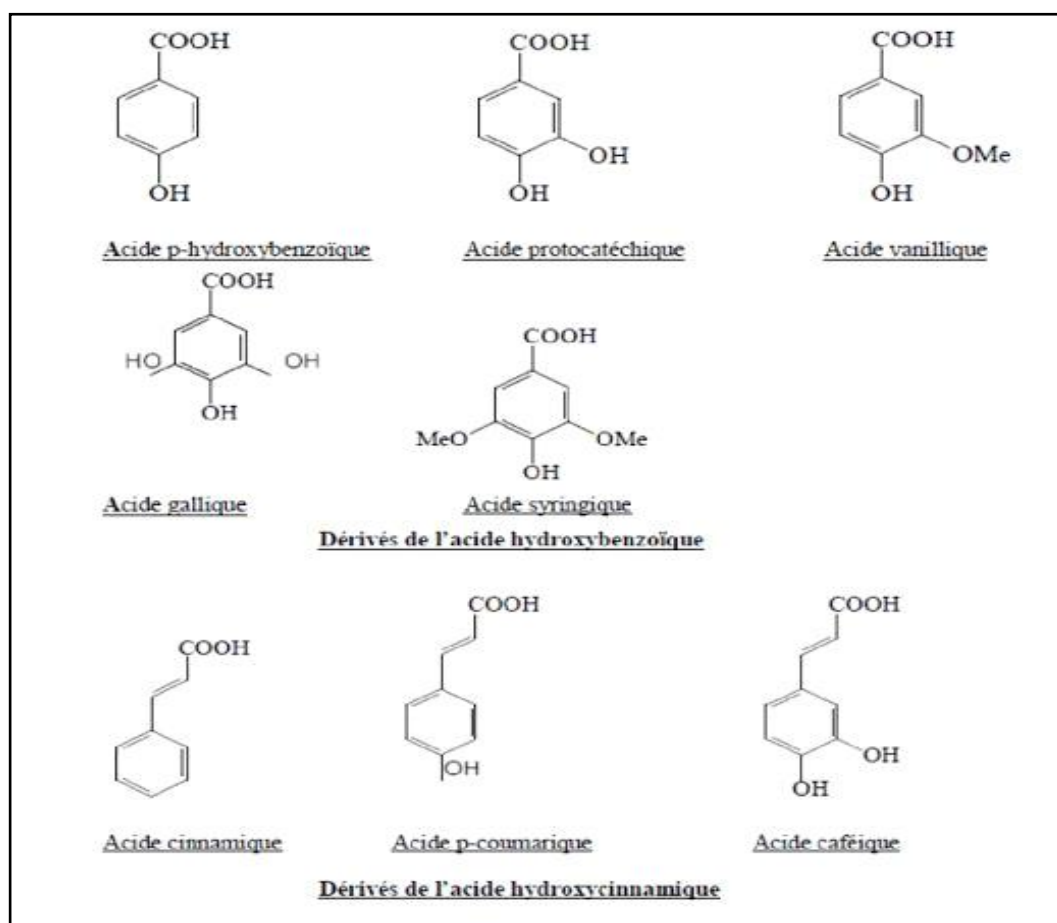


Figure 8 : Structures de quelques acides phénols (Gonzalez et coll., 1997)

3.2. Les tanins

Les tanins représentent un groupe hétérogène à haut poids moléculaire (Wkhili, 2009). Ils constituent un groupe complexe de polymères d'origine naturelle (Bennick, 2002).

Les tanins sont habituellement subdivisés en deux groupes différents par leurs structure et par leurs origine ; les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Ballasundramm et coll., 2006)

Comme exemple de tanins, l'acide tannique (Acidumtannicum) présent dans les noix de galle, l'écorce et d'autres parties des plantes. Il possède un goût astringent similaire à l'acide gallique (**Barcelo et coll., 2014**).

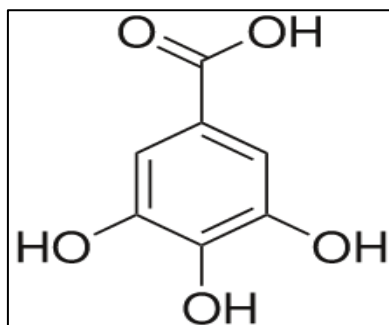


Figure 9: Structure de l'acide tannique (**Manach et coll., 2004**).

3.3. Les flavonoïdes

Ils constituent le plus grand groupe des substances phénoliques des plantes. (**Ballasundram et coll., 2006**). Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits (**Stevanovic et coll., 2009**) et parfois des feuilles surtout en automne (**Tansova et Ribarova, 2009**).

Ils ont en commun une structure chimique de base qui possède un squelette carboné constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés habituellement entre eux par une chaîne sous la forme d'un hétérocycle (C). Les substitutions des cycles (A) et (B) peuvent inclure la glycosylation, l'oxygénation, l'alkylation et de sulfatation (**Ballasundram et coll., 2006**).

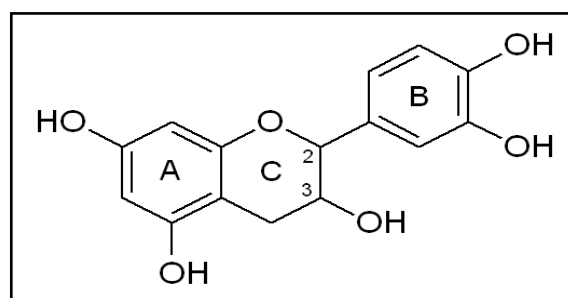


Figure 10 : Squelette de base des flavonoïdes (**Chebil, 2006**)

Les principales classes de flavonoïdes sont : flavanols, flavane-3;4 diols, flavones, et flavonones. (Scalbert et Williamson, 2000)

3.4. Les stilbènes

Les stilbènes ne se présentent qu'en petites quantités dans l'alimentation humaine. (Manach et coll., 2004)

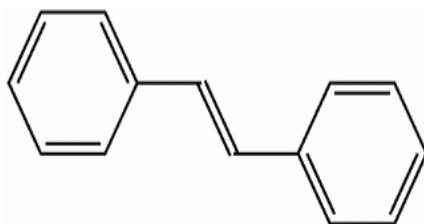


Figure 11 : Structure de base de stilbène

3.5. Les lignanes

Les graines de lin sont une source alimentaire importante de lignanes, bien que ces composés se retrouvent également en quantité moindre dans les légumineuses et dans les légumes. (Zouaoui, 2012)

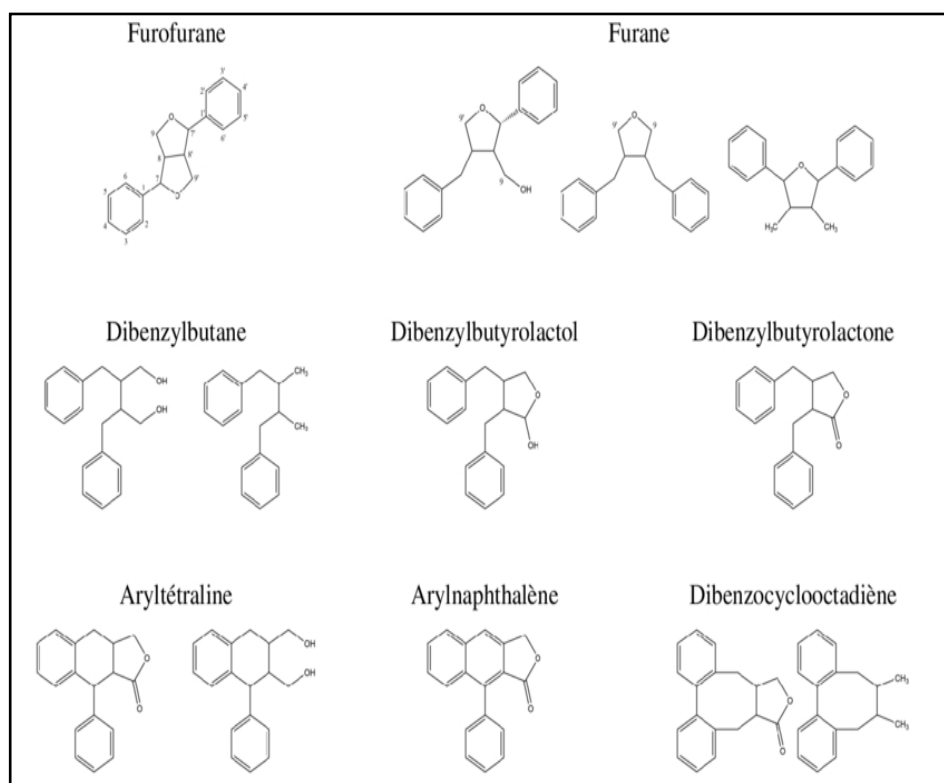


Figure 12: Structure générale des lignanes (Suzuki et coll., 2007)

3.6. Lignines polymères

Les lignines à partir du latin « lignum » signifie le bois, ce sont des polymères composés naturels à partir de trois principaux précurseurs ; alcools p-coumarylique, coniférikque et sinapylique. (Bunzel et coll., 2004).

4. Les propriétés antimicrobiennes des produits phénoliques

Il est connu que le pouvoir antioxydant est le principal rôle physiologique attribué aux polyphénols. (Navano et coll., 2008). Les composés phénoliques ont la capacité de stopper ou d'inverser le processus de cancérogénèse (Boubekri, 2014). Ils réduisent la coagulation du sang, inhibe l'agrégation plaquettaire, limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome (Muanda, 2010). Les produits polyphénoliques ont des effets préventifs contre les maladies cardiovasculaires et le vieillissement [(Kwok et coll., 2015), (Tresserra-Rimbau et coll., 2014)]. Ils diminuent également les risques d'obésité et de diabète [(Greenberg, 2015), (Wang et coll., 2016)], et améliorent la capacité de cognition du cerveau humain. (Liu et coll., 2017).

En plus des propriétés antioxydantes, antiallergiques, anti-inflammatoires, et anticancéreuses des polyphénols, ils ont des propriétés antimicrobiennes [(Daglia, 2012), (Younes, 2015)].

Il a été rapporté que la supplémentation en polyphénols altère les microorganismes intestinaux en favorisant la santé humaine (Cardona et coll., 2013).

Selon Halimi (2015), il est désormais possible de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles thérapies dans de nombreuses maladies infectieuses à base de certains composés phénoliques comme : les tanins, les flavanols et les flavan3-ols.

Les flavonoïdes peuvent bloquer la synthèse des acides nucléiques d'*Escherichia-coli*, ces composés ont une activité bactéricide en perturbant les métabolismes énergétiques (Jones et coll., 1994).

Il a été montré également que la plupart des composés phénoliques ont une activité antifongique très puissante. Selon Orturno (2005) les polyméthoxy-flavones de *Citrus sinensis* (l'oranger-orange douce-) ont une action fongicide sur *Penicillium digitatum*, de même les flavonoïdes de *Conyza aegyptica* (la vergerette de Canada)

ont une action fongistatique sur *Candida*, *Microsporium canis*, *M.gypseum* qui sont des agents de mycoses humaines et animales (Batawita, 2002).

Tableau 2: Activités biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme

Polyphénols	Activité	Auteur
Acides phénoliques	Antiulcéreuses	(Koné, 2009)
Lignanes	Antibactériennes Antifongiques Antiallergique	(Richard, 2012)
Les flavonoïdes	Antioxydant, Anti inflammatoires anticacéreuse, Anti-obésité, Antiallergique, Anti-ulcère Anti-prolifération, Antimutagènes anti-atherosclerosis	(Mazué, 2011) (Nkhili, 2009) (Khan, 2010)
coumarines	Anticancérigènes, Analgésiques	(Koné, 2009)

Partant de toutes ces données, nous avons voulu évaluer l'activité de quelques composés de structure polyphénol (l'acide gallique et l'acide tannique) sur la croissance de *Candida albicans*.

materiel et méthodes

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche “Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques (LAPSAB), Département de biologie, Faculté des sciences, la nature et sciences et la terre et l'univers, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen).

1. Matériel biologique

Pour notre étude, nous avons utilisé une souche de référence *Candida albicans* ATCC 10231 (American Type Culture Collection). Cette souche est maintenue par repiquage successif sur gélose Sabouraud et conservée à 4°C.

2. Préparation de l'inoculum

Une colonie de levure d'une culture de 24h sur gélose Sabouraud est suspendue dans 1mL d'eau physiologique stérile (8,5%). La concentration cellulaire est ajustée à 3×10^6 cellules/mL.

Cet inoculum est ensuite dilué au 1/100 puis au 1/20 dans le milieu RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute Medium) pour avoir une concentration finale égale à $1,5 \times 10^3$ cellules/mL

3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice représente la plus faible concentration en antibiotique, antifongique ou composés actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme (Denis et coll., 2011) après un temps d'incubation de 18 à 24 heures.

Nous avons recherché la concentration minimale inhibitrice des molécules à tester selon le protocole du Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI M27 A3 (2008).

3.1. Préparation de la solution mère du composé polyphénol à tester

Nous avons utilisé deux composés polyphénol : l'acide gallique et l'acide tannique.

Pour chaque composé nous avons préparé une solution mère à $32 \mu\text{g/mL}$ dans de l'eau physiologique.

A partir de chaque solution mère nous avons préparé une série de dilution dans allant de $16 \mu\text{g/mL}$ à $0,03 \mu\text{g/mL}$ le milieu RPMI (figure 13)

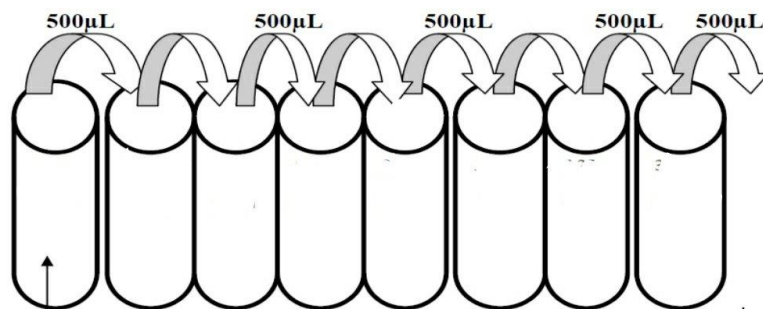


Figure 13 : Schéma de préparation des dilutions du composé polyphénol à tester

3.2. Préparation de la microplaque :

Pour chaque composé polyphénol, 100 µL de chaque dilution préparée sont placés dans un puits de la microplaque (une dilution par puits) jusqu'à la fin de la ligne, auxquels sont additionnés 100 µL de la suspension levurienne de *Candida albicans*. Le volume final de chaque puits est de 200 µL.

En parallèle, un témoin négatif et un témoin positif sont préparés.

Le témoin négatif correspond à une incubation du milieu RPMI seul (le puits contient 100 µL de milieu).

Le témoin positif consiste à incuber les levures en l'absence d'agent antifongique (le puits contient 100 µL de culture de levure).

Les microplaques sont scellées et placées dans une étuve à 37°C pendant 48 heures.

Les CMI sont déterminées à l'œil nu.

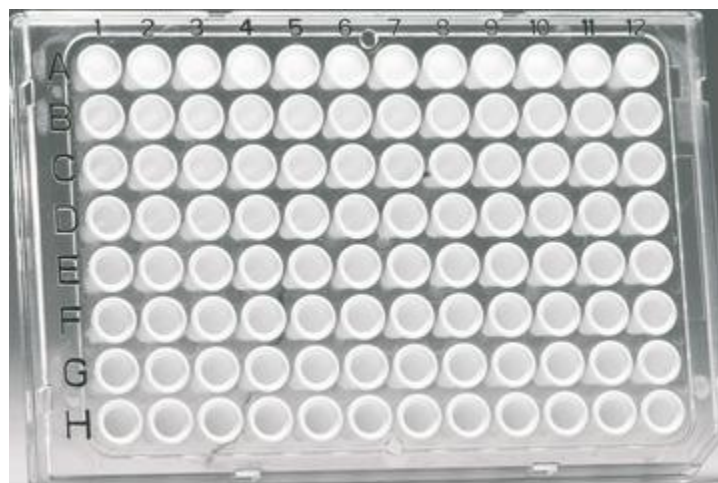


Figure 14 : Plaque 96 puits pour la détermination des paramètres CMI et CMB.

L'acide gallique se présente sous la forme cristallisée, d'un blanc jaunâtre pour une masse molaire de 170,12 g / mol, avec un point de fusion de 250°C et une solubilité dans l'eau de 1,1% à 20 ° C (**Verma et coll., 2013**).

L'acide tannique est un dérivé de l'acide gallique. C'est un composé jaune à marron clair fortement soluble dans l'eau. C'est un acide faible avec un pka autour de 10, à une masse molaire de 1701,19g/mol, avec un point de fusion de 210°C .

Résultats et discussion

Pour notre étude nous avons testé deux molécules de nature polyphénol : l'acide gallique et l'acide tannique.

Cependant en raison des conditions sanitaires particulières liées à la pandémie du Covid-19, nous n'avons pu réaliser qu'un seul essai pour chaque polyphénol testé.

Les premiers résultats sont présentés dans cette partie.

1. Détermination de la concentration minimale (CMI) inhibitrice de l'acide tannique

Après préparation de la microplaque contenant de l'acide tannique à des concentrations allant de 0,03µg/ml à 16µg/ml, et une incubation à 37°C pendant 48 heures, nous avons déterminé la CMI à l'œil nu.

Nous remarquons une croissance dans le puits témoin positif contenant uniquement la suspension levurienne, et aucune croissance dans le puits témoin négatif contenant uniquement le milieu de culture RPMI. Ce résultat confirme que la microplaque n'a pas été contaminée.

Nous remarquons également une croissance dans les autres puits de la microplaque contenant les concentrations en acide tannique de 0,03µg/ml à 16µg/ml. Il semblerait que jusqu'à 16µg/ml l'acide tannique n'a aucun effet sur la croissance de *Candida albicans*.

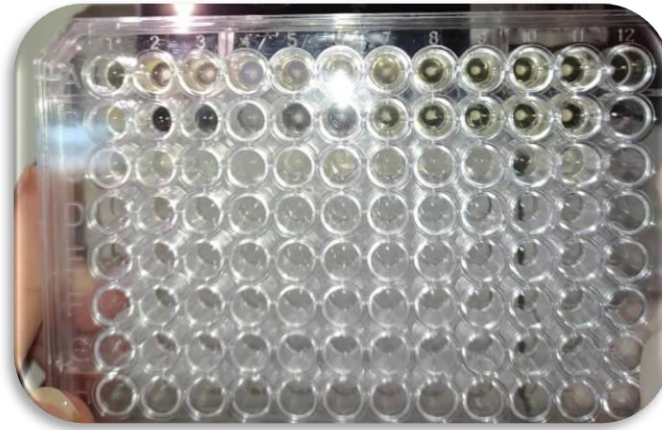


Figure 15 : Microplaque à 96 puits après incubation de 48h à 37°C

2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'acide gallique

Après préparation de la microplaque contenant de l'acide gallique à des concentrations allant de 0,03µg/ml à 16µg/ml, et une incubation à 37°C pendant 48 heures, nous avons déterminé la CMI à l'œil nu.

Nous remarquons une croissance dans le puits témoin positif contenant uniquement la suspension levurienne, et aucune croissance dans le puits témoin négatif contenant uniquement le milieu de culture RPMI. Ce résultat confirme que la microplaque n'a pas été contaminée.

Nous remarquons également une croissance dans les autres puits de la microplaque contenant les concentrations en acide gallique de 0,03µg/ml à 16µg/ml. Il semblerait que jusqu'à 16µg/mL l'acide gallique n'a aucun effet sur la croissance de *Candida albicans*.

L'acide tannique est réputé dans l'inhibition des microorganismes aérobies, parce qu'il possède une grande affinité pour les ions métalliques et que les microorganismes aérobie ont besoin de ces ions pour accomplir les fonctions telles que la réduction des ribonucléotides précurseurs dans la synthèse de l'ADN. Les propriétés antimicrobiennes de l'acide tannique sont liées à la liaison ester entre l'acide gallique et le glucose (résulte l'acide tannique), car l'acide gallique à lui seul ne pourrait pas inhiber la croissance microbienne **(Hisanori A. et coll., 2001)**.

Une étude est faite pour évaluer l'activité antimicrobienne et antifongique de l'extrait hydroéthanolique des écorces de *Maytenus undata* qui contient dans leur composition l'acide tannique a montré que *C.albicans* est inhibé à 16µg/mL de l'extrait de la plante **(Kimenyi, P.et coll., 2009)**.

Une autre recherche réalisée par **Belarbi, 2017** afin de d'étudier l'activité antifongique des extraits de la plante d'*Ammis visnaga* et de molécules bioactives notamment l'acide tannique à montré que ce dernier a une activité intéressante sur *C. albicans* à 300mg/mL par la méthode des puis. Par contre, par la méthode des disques, l'acide tannique présente une faible activité envers *C. albicans* avec un diamètre d'inhibition de 6mm à 200µg/mL.

L'acide gallique est un composé phénolique botanique naturel impliqué dans différents processus **(Barcelo et coll., 2014)** ; **(Perazzoli et coll., 2017)**

L'acide gallique est considéré comme un inhibiteur par excellence des champignons, des bactéries, et de certains virus **(Silva et coll., 2017)**, de plus il a des propriétés antimicrobiennes contre de nombreuses souches bactériennes par son action bactéricide **(Barcelo et coll., 2014)**.

Plusieurs travaux ont montré l'efficacité de l'acide gallique comme étant un agent antimicrobien contre divers pathogène chimiques et alimentaires **(Agarwal et coll., 2006 ; Borges et coll., 2013 ; Barcelo et coll., 2014)**

Les travaux de **Borges et coll., (2013)** ont montré une activité antimicrobienne de l'acide gallique contre divers bactéries pathogène notamment *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* aux valeurs de CMI de 1500µg/mL, 500µg/mL, 1750µg/mL, et 2000µg/mL, provoquant des changements irréversible dans les propriétés de la membrane, charge intra et extracellulaire, perméabilité et propriétés physicochimiques.

De même, d'autres travaux de **Vandel et coll., 2015**, ont évalué l'action antimicrobienne de nombreuses substances naturelles y compris l'acide gallique qui proviennent des plantes (*Chimaphila umbellata*, *Betula papyrifera*, *Rhus typhina* et *Fraxinus pennsylvanica*) contre des bactéries pathogènes en utilisant la technique de dosage sur microplaque. Les résultats montrent que l'acide gallique a une activité antimicrobienne contre *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

En outre, ces auteurs ont remarqué que l'acide gallique de l'extrait de la plante *Rhus typhina* particulièrement n'était pas efficace contre les souches bactériennes testées à une concentration initiale de 1000µg/mL. Par contre, lorsque la concentration a été augmentée à 10000µg/mL, l'acide gallique a montré une action antimicrobienne.

Une recherche réalisée par **Benyahia (2017)** sur l'évaluation antimicrobienne de l'acide tannique et gallique par deux méthodes par la détermination des CMI a montré que :

- les souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* sont les plus sensibles à l'acide tannique avec des zones d'inhibition qui varient entre 16 et 18mm, de même à l'acide gallique avec un diamètre d'inhibition de 15 à 24mm.

- Pour les souches de *E. coli*, *P. aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, elles ont montré une résistance avec des zones d'inhibition qui varient entre 5 et 12mm pour l'acide gallique et de 10 et 12mm pour l'acide tannique.

- Les bacilles thermophiles et mésophiles ont également montré une sensibilité vis-à-vis de l'acide tannique et l'acide gallique avec des diamètres d'inhibition de 15 et 20mm.

- D'après la détermination des CMI, les résultats ont montré que l'acide tannique est plus actif sur les souches à Gram négatif avec une CMI ≤ 10 mg/mL (la même pour toutes les souches).

- Concernant l'acide gallique, il présente des résultats intéressants qui diffèrent en fonction des souches testées.

Conclusion

C'est dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules actives envers la levure *Candida albicans*, que notre étude s'inscrit. Nous avons voulu évaluer l'activité antifongique de l'acide gallique et de l'acide tannique vis-à-vis de la levure *Candida albicans*. Il s'agit de deux composés polyphénols qui pourraient être intéressants à utiliser vu leur disponibilité de par leur présence dans la composition des extraits de plantes.

Malheureusement en raison des conditions sanitaires particulières que nous vivons cette année, nous avons à peine fait un test préliminaire pour chaque composé polyphénol et nous n'avons pas pu poursuivre notre travail expérimental vu que l'université a fermé ces portes dès le début du travail pratique.

Les premiers tests ont montré que jusqu'à 16µg/ml, l'acide tannique et l'acide gallique n'ont aucun effet sur la croissance de *Candida albicans*.

C'est pourquoi il serait souhaitable de refaire d'une part les tests réalisés afin de confirmer les résultats observés. D'autre part, d'augmenter les concentrations utilisées jusqu'à atteindre la concentration minimale inhibitrice de chacun de ces composés envers la levure.

Références bibliographiques

1. Agarwal, C., Tyagi, A., & Agarwal, R. (2006). Gallic acid causes inactivating phosphorylation of cdc25A/cdc25C-cdc2 via ATM-Chk2 activation, leading to cell cycle arrest, and induces apoptosis in human prostate carcinoma DU145 cells. *Molecular cancer therapeutics*, 5(12), 3294-3302.
2. Akroum S., 2011-Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine. 125p
3. Ali.R.Hameed., Sabah.M.Ali, Luma.T.Ahmed : La prévalence de Candida spp.parmi les enfants avec diarrhée en Baqubah-Irak : « International »Journal de Avancé Recherche in Ingénierie & Technologie,1(13), 34-43, 2018
4. Amel, M. M. Farida., Essai de Synthèse d'un Conjugué Acide Gallique –Inuline et Etude in Vitro de Leurs Activités Anti-Oxydante et Prébiotique. Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri TiziOuzou, 20 (2014).
5. Anderson, T. M., Clay, M. C., Cioffi, A. G., Diaz, K. A., Hisao, G. S., Tuttle, M. D., ... & Uno, B. E. (2014). Amphotericin forms an extramembranous and fungicidal sterol sponge. *Nature chemicalbiology*, 10(5), 400.
6. Anofel. (2007). Association française des enseignants de parasitologie et mycologie.
7. Arapitsas P., Sjöbergper J.R. et Turner Ch. (2008). Characterisation of anthocyanins in red cabbage using high-resolution liquid chromatography coupled with photodiode array detection and electrospray ionization linear ion trap mass spectrometry. *Food Chemistry*, 109 (8): 219-226.
8. Belarbi, I. (2017). Etude de l'activité antifongique des extraits des plantes de la plante d'ammis visnaga. Université Abou-BekreBelkaid Tlemcen.
9. Balasundram, N., Sundram, K., &Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
10. Bennick, A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13(2), 184-196.
11. Benyahia, Y. Activité antimicrobienne des composés phénoliques: Application à l'inhibition de biofilm des bacilles thermophiles d'origine laitière (Doctoral dissertation).
12. Bodey, G. P., Mardani, M., Hanna, H. A., Boktour, M., Abbas, J., Girgawy, E., ...&Raad, I. I. (2002). The epidemiology of Candida glabrata and Candida albicansfungemia in immunocompromised patients with cancer. *The American journal of medicine*, 112(5), 380-385.

13. Boubekri, C., 2014. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Université Mohamed Khider Biskr.
14. Bouchra, C., A. Mohamed, I.H. Mina, and M. Hmamouchi, Antifungal activity of essential oils from several medicinal plants against four postharvest citrus pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 2003. 42(3): p. 251-256.
15. Bunzel, M., Ralph, J., Lu, F., Hatfield, R. D., & Steinhart, H. (2004). Lignins and ferulate– coniferyl alcohol cross-coupling products in cereal grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(21), 6496-6502.
16. Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(8), 1415-1422.
17. Celhay, C., 2013. Fractionnement de coproduits de pin maritime (*Pinus pinaster*) et de peuplier (*Populus tremula*) pour l'obtention d'extraits polyphénoliques à activité antioxydante : Procédé d'extraction aqueuse en extracteur bi-vis et étude des conditions subcritiques.
18. Chabasse D., Robert R., Marot A., Pihet M. *Candida* pathogènes. Paris, Lavoisier, Editions TEC et DOC, 2006.
19. Charles, D., Peppermint, in *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. 2013, Springer New York. p. 469-475.
20. Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., & Ed-Dra, A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14(6), 355-362.
21. Chebil, L., Humeau, C., Falcimaigne, A., Engasser, J. M., & Ghoul, M. (2006). Enzymatic acylation of flavonoids. *Process Biochemistry*, 41(11), 2237-2251.
22. Coste, A., Selmecki, A., Forche, A., Diogo, D., Bougnoux, M. E., d'Enfert, C., ... & Sanglard, D. (2007). Genotypic evolution of azole resistance mechanisms in sequential *Candida albicans* isolates. *Eukaryotic cell*, 6(10), 1889-1904.
23. Cowen L.E. (2008). The evolution of fungal drug resistance: modulating the trajectory from genotype to phenotype. *Nat. Rev. Microbiol.* 6: 1–12.
24. Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181.
25. Dannaoui E. (2007). Principaux antifongiques systémiques Mécanismes d'action et de résistance, spectre, indications, Congrès DIU, Stratégies Thérapeutiques en Maladies Infectieuses, 31 mai 2007.

26. Demo, A., C. Petrakis, P. Kefalas, and D. Boskou, Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. *Food Research International*, 1998. 31(5): p. 351-354.
27. Denis, F; E. Bingen, C.Martin, M.C. Ploy and R.Quentin, 2011. *Bactériologie Médicale*. 2nd Edn; Elsevier Masson, Paris, ISBN: 9782294725944, Pages: 640.
28. Dewick, P.M., 2009. The shikimate pathway: aromatic amino acids and phenylpropanoids.
29. El Kirat, K., Morandat, S., & Dufrière, Y. F. (2010). Nanoscale analysis of supported lipid bilayers using atomic force microscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes*, 1798(4), 750-765.
30. Fiorini, C., B. David, I. Fourasté, and J. Vercauteren, Acylated kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves. *Phytochemistry*, 1998. 47(5): p. 821-824.
31. Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.
32. Garnier, F. (2003). Antifongiques: Classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance Antibiotiques, 5(1), 39-48.
33. Giordani, R., Y. Hadeif, and J. Kaloustian, Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 2008. 79(3): p. 199-203.
34. Gómez-Coronado, D.J.M., E. Ibañez, F.J. Rupérez, and C. Barbas, Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. *Journal of Chromatography A*, 2004. 1054(1-2): p. 227-233.
35. Gonzalez-Romero, M.A., Villaescusa-Castillo, L., Diaz-Lanza, A.M. (2000). Sesquiterpenelactones from *Inulamontana* L. *Z Naturforsch C*, 55(9-10): 697-700.
36. Halmi, S., 2015. Etude botanique et phytochimique: Approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia Ficus indica*. Université des Freres Mentouri de Constantine, p. 186.
37. Hisanori Akiyama, Kazuyasu Fujii, Osamu Yamasaki, Takashi Oono and Keiji Iwatsuki, (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus* : *Journal of Antimicrobial chemotherapy*.
38. Hulin, A., Deguillaume, A., M., Bretagne, S., Bezie, Y., (2005). Bon usage des antifongiques dans le traitement des candidoses et aspergilloses invasives. *Journal de pharmacie clinique*, 24 (3), 125-138.

39. Iserin, P., Encyclopédie des plantes médicinales, in Encyclopédie des plantes médicinales, L. Londres, Editor. 2001. p. 116, 225-226.
40. Jean, La Myrtille (*Vaccinium Myrtillus*) : Botanique, Chimie Et Intérêts Thérapeutiques, Université Henri Poincaré - Nancy 1, (2010).
41. Jonathan M. Barcelo, Mildiamond Guieb, Anderson Ventura, Aryza Nacino, Herminia Pinasen, , Trishia Yodong, Bianca Lou Estrada, DANIEL Valdez, Thresha Binwag.(2014). Antibacterial, Prooxidative And Genotoxic Activities Of Gallic Acid And Its Copper And Iron Complexes Against *Escherichia Coli*. *Asia Pacific Journal Of Multidisciplinary Research*, 2(6), 2350-7756.
42. Jones, P. G., & Inouye, M. (1994). The cold-shock response—a hot topic. *Molecular microbiology*, 11(5), 811-818.
43. KabhaKisra, LiatNissimov, Abed Athman, Yona Keisari, Haralambos Parolis, Khan, M.K., 2010. Polyphénols d'agrumes (flavanones): extraction de glycosides de la peau d'orange, synthèse de métabolites chez l'homme (glucuronides) et étude physico-chimique de leur interaction avec le sérum albumine. Université d'Avignon.
44. Kačaniová, M., N. Vukovič, E. Horská, I. šalamon, A. Bobková, L. Hleba, M. Mellen, A. Vatňák, J. Petrová, and M. Bobko, Antibacterial activity against *Clostridium* genus and antiradical activity of the essential oils from different origin. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2014. 49(7): p. 505-512.
45. Khater, F., 2011. Identification et validation fonctionnelle de nouveaux gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des composés phénoliques. Montpellier, SupAgro.
46. Kimenyi, P., Kabakura, M. G., & Bajyana, S. E. (2009). Etude in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait hydroéthanolique des écorces de *Maytenus undata*. *Rwanda Journal*, 17, 5-15.
47. Kivçak, B. and T. Mert, Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts. *Fitoterapia*, 2002. 73(3): p. 242-243
48. Koné, D., 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydante. Metz.
49. Krief, S., 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. *Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS*.

50. L'acide gallique 19 21 22 www.Chinaadditives.Fr/Gallicacid.Htm Acide gallique - chinaadditives.fr
51. Liu, F., Ma, C., McClements, D. J., & Gao, Y. (2017). A comparative study of covalent and non-covalent interactions between zein and polyphenols in ethanol-water solution. *Food Hydrocolloids*, 63, 625-634.
52. Mallory and craven (2012), *Candida albicans Dap1 p promotes Ergosterol synthesis via the P450 Protein Erg11/Cyp51 p , Regulating Susceptibility to Azole Antifungal Drugs , Morphogenesis and Damage Resistance .Pharmacologia 3 (7) : 179-189.*
53. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
54. Marot-Leblond, A., Robert, R., Aubry, J., Ezcurra, P., & Senet, J. M. (1993). Identification and immunochemical characterization of a germ tube specific antigen of *Candida albicans*. *FEMS Immunology&MedicalMicrobiology*, 7(2), 175-186.
55. Mazué, F., 2011. Effets des polyphénols de vin rouge sur la prolifération cellulaire et sur le métabolisme du resvératrol. Dijon. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd Edition, 137-186.
56. Mighri, H., H. Hajlaoui, A. Akrou, H. Najjaa, and M. Neffati, Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 2010. 13(3): p. 380-386.
57. Mimica-Dukic, N., B. Bozin, M. Sokovic, B. Mihajlovic, and M. Matavulj, Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Medica*, 2003. 69(5): p. 413-419.
58. Muanda. F.N., 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, 55- 86.
59. Navarro, J. L., Tárrega, A., Sentandreu, M. A., & Sentandreu, E. (2014). Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from persimmon. *Food chemistry*, 157, 283-289.
60. Niimi, Masakazu, Firth, Norman A., et Cannon, Richard D, (2010). Antifungal drug resistance of oral fungi. *Odontology* vol. 98, no 1, p. 15-25.
61. Nkhili, E.-z., 2009. Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat, Montpellier 2009.

62. Odds, F. C. (2003). "Antifungal agents: their diversity and increasing sophistication." *Mycologist* 17(02): 51-55.
63. Paluszynski, J. P., Klassen, R., Rohe, M., & Meinhardt, F. (2006). Various cytosine/adenine permease homologues are involved in the toxicity of 5-fluorocytosine in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 23(9), 707-715.
64. Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Edition Elsevier-Masson, Paris. Page 142.
65. Perazzoli, M. R. A., Perondi, C. K., Baratto, C. M., Winter, E., Creczynski-Pasa, T. B., & Locatelli, C. (2017). Gallic Acid and Dodecyl Gallate Prevents Carbon Tetrachloride-Induced Acute and Chronic Hepatotoxicity by Enhancing Hepatic Antioxidant Status and Increasing p53 Expression. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 40(4), 425-434.
66. Pfaller, M. A., & Diekema, D. J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical microbiology reviews*, 20(1), 133-163.
67. Richard, A., 2012. Synthèse bibliographique de la phytothérapie et de l'aromathérapie appliquées à la dermatologie.
68. Rodríguez Vaquero M.J., Alberto M.R. et Manca de Nadra M.C. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18 (8): 93–101.
69. Salah, S.M. and A.K. Jäger, Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005. 97(1): p. 145-149.
70. Saleh, M.A., M.H. Belal, and G. El-Baroty, Fungicidal Activity of *Artemisia herba alba* Asso (Asteraceae). *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2006. 41(3):p. 237-244.
71. Saleh, N.A.M., S.I. El-Negoumy, and M.M. Abou-zaid, Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. Monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*, 1987. 26(11): p. 3059- 3064.
72. Salerno, C., Pascale, M., Contaldo, M., Esposito, V., Busciolano, M., Milillo, L., ...& Serpico, R. (2011). Candida-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 16(2), e139-43.
73. Sanglard, D., & Odds, F. C. (2002). Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *The Lancet infectious diseases*, 2(2), 73-85.
74. Sarazin A. (2010) Les glycannes pariétaux de levures et leur implication dans l'induction et la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte. Docteur de l'université Lille 2.
75. Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S.

- 76.** Simić, M., T. Kundaković, and N. Kovačević, Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*, 2003. 74(6): p. p613-616.
- 77.** Sorgo, A. G., Heilmann, C. J., Dekker, H. L., Bekker, M., Brul, S., de Koster, C. G., & Klis, F. M. (2011). Effects of fluconazole on the secretome, the wall proteome, and wall integrity of the clinical fungus *Candida albicans*. *Eukaryotic cell*, 10(8), 1071-1081.
- 78.** Stevanovic, T., Diouf, P. N., & Garcia-Perez, M. E. (2009). Bioactive polyphenols from healthy diets and forest biomass. *Current Nutrition & Food Science*, 5(4), 264-295.
- 79.** Testing of *Candida* spp. using EUCAST EDef 7.1 and CLSI M27-A3 standard 2008
- 80.** The Prevalence of *Candida* spp. Among Children with Diarrhea in Baqubah-Iraq - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Figure-5-C-albicans-Cultured-on-CMA-at-35C-40X_fig4_327261041.
- 81.** Tresserra-Rimbau, A., Rimm, E. B., Medina-Remón, A., Martínez-González, M. A., De la Torre, R., Corella, D., ... & Fiol, M. (2014). Inverse association between habitual polyphenol intake and incidence of cardiovascular events in the PREDIMED study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 24(6), 639-647.
- 82.** Vandal, J., Léo, G., Garry Ferroni, G., & Abou-Zaid, M. (2015). Activité antimicrobienne de produits naturels originaires du Nord de l'Ontario. Malek, F., Boudjemaa, B. M., Aouar-Métri, A., & Kihal, M. (2013). Identification and genetic diversity of *Bacillus cereus* strains isolated from a pasteurized milk processing line in Algeria. *Dairy Science & Technology*, 93(1), 73-82.
- 83.** Verma, S., Singh, A., & Mishra, A. (2013). Gallic acid: molecular rival of cancer. *Environmental toxicology and pharmacology*, 35(3), 473-485.
- 84.** Viguie-Vallanet, C. (2001). Traitements antifongiques en dermatologie- Encyclopédie Médico-Chirurgicale Dermatologie, 98-906-A-10, 1-16.
- 85.** Wang, Y., Zhu, J., Meng, X., Liu, S., Mu, J., & Ning, C. (2016). Comparison of polyphenol, anthocyanin and antioxidant capacity in four varieties of *Lonicera caerulea* berry extracts. *Food chemistry*, 197, 522-529.
- 86.** Yadegarinia, D., L. Gachkar, M.B. Rezaei, M. Taghizadeh, S.A. Astaneh, and I. Rasooli, Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 2006. 67(12): p. 1249-1255.
- 87.** Yilmaz, E.S., M. Timur, and B. Aslim, Antimicrobial, Antioxidant Activity of the Essential Oil of Bay Laurel from Hatay, Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2013. 16(1): p. 108-116.

88. Younes, K., 2015. Contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales de la région ouest d'Algérie. Université Abou-BekreBelkaid Tlemcen.

89. Zouid, I., 2011. Etude de l'évolution et de l'extractibilité des composés phénoliques du raisin en milieu hydroalcoolique pendant la maturation: lien avec les propriétés mécaniques de la baie. Angers, p. 285.