

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Parasitologie

**Thème : Contribution à l'étude des effets antifongiques de deux solvants
(DMSO et Tween 80) sur *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et
*Aspergillus niger***

Présenté par :

Bougoula Amar Yasser

Layada Rezk allah

Laraicia Horia

Devant le jury composé de :

Président (e) : Dr. Zidi S

(M.C.B)

Université de Guelma

Examineur : Dr. Djebir S

(M.C.B)

Université de Guelma

Encadreur : Dr. Ksouri S

(M.C.A)

Université de Guelma

juin 2021

Remerciements

Nous remercions dieu tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements à notre encadreur, Dr Ksouri Samir pour la totale confiance qu'elle nous a accordée, pour sa grande disponibilité, ses précieux conseils ainsi que sa sympathie et sa gentillesse. Nous le remercions pour sa rigueur scientifique et de nous avoir responsabilisées tout au long de notre travail.

Dr. Zidi.S, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury .Veuillez accepté l'expression de notre sincère reconnaissance.

Dr. Djebir S, de nous avoir fait l'honneur d'être examinatrice et de participer au jury de ce mémoire. Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudees pour le temps précieux que vous consacrer pour juger ce travail.

Nos profondes et sincères remerciements pour tous les enseignants de département « Biologie » spécialement : Mme Ayad, Mme Souiki , pour leurs conseils et encouragements durant notre parcours universitaire.

Enfin, nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel technique des laboratoires.

Dédicaces

Avant tout, je remercie DIEU le tout puissant avoir donné le courage, la volonté, et la force pour l'élaboration de ce travail.

Je dédie ce modeste travail

A ceux qui m'ont donnée la vie, la lumière de mes yeux mes très chers parents, mon père et ma mère, qui ont consacré leur noble existence à bâtir la mienne. De ma vie je ne saurai assez leur exprimer mon affection, ma reconnaissance et mon amour.

A mes frères Zicou et iheb qui a été toujours la à mes cotés, qui m'a aidé en toute étape de ma vie.

A ma chère Asma, qui a toujours été à mes côtés et pour leur soutien moral tout au long de ce travail.

A mes amies celles de toujours : G-Issam, Rizko, Chipa, Oussama NOUR EDDIN, FAKHRI et A-Ammar on en a vécu des aventures ensemble.

Aux personnes qui m'ont toujours encouragée et croyez en moi,

A tous mes amis, et à toute personne qui j'aime et qui m'aime.

A mdm ghrib NOURA Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

YASSER

Dédicaces

*Avant tout, je remercie DIEU le tout puissant avoir donné le courage, la
volonté, et la force pour l'élaboration de ce travail.*

Je dédie ce modeste travail à

*A mes parents ·Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour
Dont ils ne cessent de me combler· Que dieu leur procure bonne santé et
longue vie·*

A mes frères BADER AMINE RAOUF et MA SOEUR DZAIR

*A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet
ma vie M·majda·*

*sans oublié toute ma famille, et mes amis, Amar ,CHIPPA, BARIZA,
G·ISSAM,Oussama ,A·AMMAR,NOUR EDDIN, FAKHRI*

*A mdm ghrib NOURA Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin
pour que ce projet soit possible, je vous dis merci·*

Rizko

Dédicace

*Je remercie tout d'abord le bon dieu qui m'a donné la force de surmonter
tout les obstacles, la patience pour passer tout les moments difficiles et la
volonté pour accomplir ce travail Du profond de mon cœur,*

je dédie ce modeste travail Aux être les plus chers à moi

*A celle, qui m'a toujours accompagné de ses prières, ma source de
tendresse, aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour pour elle... A*

maman chérie A, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir

*A toutes mes copines Surtout Rahma et imen pour les bons souvenirs qu'on
a passé ensemble*

*Aux personnes qui m'ont toujours encouragé et croyez en moi, A mes
collègues.*

Amani

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
I. Matériel et méthodes	7
I.1 Matériel.....	7
I.2 Matériel fongique.....	8
I.3 Méthode.....	8
I.3.1 Préparation de la suspension fongique:.....	8
I.3.2 Préparation de différentes concentrations des deux solvants testés.....	8
I.3.3 Méthode d'évaluation de pouvoir antifongique des solvants par microdullution dans un bouillon.....	8
II Résultats.....	10
II.1 Effet de DMSO et Tween 80 sur <i>Candida albicans</i>	10
II.1.1 Effet antifongique de DMSO sur <i>Candida albicans</i>	10
II.1.2 Effet antifongique de Tween 80 sur <i>Candida Albicans</i>	12
II.1.3 Etude comparative des effets de Tween 80 et DMSO sur <i>Candida Albicans</i>	14
II.2 Effet antifongique de Tween 80 et DMSO sur <i>Aspergillus niger</i>	15
II.2.1 Effet antifongique de DMSO sur <i>Aspergillus niger</i>	15
II.2.2 Effet antifongique de Tween 80 sur <i>Aspergillus niger</i>	16
II.2.3 Etude comparative des effets de Tween 80 et DMSO sur <i>Aspergillus niger</i>	17
II.3 Effet antifongique de Tween 80 et DMSO sur <i>Aspergillus fumigatus</i>	18
II.3.1 Effet antifongique de DMSO sur <i>Aspergillus fimugatus</i>	18
II.3.2 Effet antifongique de Tween sur 80 <i>Aspergillus fimugatus</i>	20
II.3.3 Etude comparative des effets de Tween 80 et DMSO sur <i>Aspergillus fumigatus</i>	22
II.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) des deux solvants testés sur les trois souches fongiques.....	23
III. Discussion.....	24
IV. Conclusion.....	28
Référence	29
Annexes.....	34

ملخص

Abstract

Résumé

Liste des figures

Titre	Page
Figure 1 : Représentation schématique de la méthode expérimentale adoptée	9
Figure 2 : Représentation graphique des taux d'inhibition de germination corrigé des spores de <i>Candida albicans</i> de différentes concentrations de DMSO	11
Figure 3 : Représentation graphique des taux d'inhibition de germination corrigé des spores de <i>Candida albicans</i> de différentes concentrations de Tween 80	13
Figure 4 : Représentation graphique des taux d'inhibition de germination corrigé des spores de <i>Candida albicans</i> de différentes concentrations des deux solvants	14
Figure 5 : Représentation graphique de nombre de germée des spores d'<i>Aspergillus niger</i> de différentes concentrations de DMSO	15
Figure 6 : Représentation graphique de nombre des spores germées d'<i>Aspergillus niger</i> de différentes concentrations de Tween 80	17
Figure 7 : Représentation graphique de nombre des spores germées d'<i>Aspergillus niger</i> de différentes concentrations de DMSO et de Tween 80	18
Figure 8 : Représentation graphique de nombre des spores germées d'<i>Aspergillus fumigatus</i> de différentes concentrations de DMSO	19
Figure 9 : Représentation graphique de nombre des spores germées d'<i>Aspergillus fumigatus</i> de différentes concentrations de Tween 80	21
Figure 10 : Représentation graphique de nombre des spores germées d'<i>Aspergillus fumigatus</i> de différentes concentrations de DMSO et de Tween 80	22

Liste des tableaux

Titre	Page
Tableau 1 : Matériel multi-usage et usage unique.	7
Tableau 2 : Effet antifongique de DMSO sur <i>Candida albicans</i>	10
Tableau 3 : Effet antifongique de Tween 80 sur <i>Candida albicans</i> .	12
Tableau 4 : Effet de DMSO sur <i>Aspergillus niger</i> .	15
Tableau 5 : L'effet de tween 80 sur l' <i>Aspergillus niger</i> .	16
Tableau 6 : Effet antifongique de DMSO sur <i>Aspergillus fumigatus</i> .	19
Tableau 7 : Effet antifongique de Tween 80 sur <i>Aspergillus fumigatus</i> .	20
Tableau 8: Détermination de la CMI /CMF des deux solvants.	23

Liste des abréviations

DMSO: Diméthylsulfoxyde

CMF : Concentration Minimale Fongicide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

ND: Non déterminer

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

MCI : Mielleux de culture inoculée

INTRODUCTION

Introduction

Les champignons sont des organismes fascinants qui jouent un rôle clé pour soutenir la vie sur terre. Les champignons sont les deuxièmes organismes eucaryotes les plus diversifiés sur terre, à côté seulement des insectes. Les champignons et les bactéries sont les principaux décomposeurs de matières organiques mortes et sont donc essentiels au recyclage des nutriments sur terre. Ils sont également d'une importance capitale pour la société humaine, de nombreux groupes de champignons causent des maladies graves chez les plantes et les animaux, mais aussi les humains. La brûlure de la pomme de terre au milieu du XIXe siècle a causé une famine et une dévastation à grande échelle en Irlande (Raghukumar.S, 2017), environ 135000 espèces de champignons ont été décrites, mais la diversité réelle du groupe est susceptible d'être de plusieurs millions d'espèces (Hibbett, et *al.*, 2016).

Les champignons sont des micro-organismes eucaryotes avec une nutrition osmohétérotrophe. Ils obtiennent leur nourriture en absorbant des substances organiques dissoutes à travers leur surface cellulaire. Osmohétérotrophie est apparu comme une évolution convergente dans de nombreux groupes d'eucaryotes (Raghukumar S, 2017).

Dans le règne des champignons, il y a des espèces pathogènes très fréquent, parmi lesquelles, trois sont considérés comme des redoutables espèces fongiques ; *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger* (Dufresne Philippe, 2018).

Candida albicans est un organisme commensal inoffensif. Cependant, c'est un pathogène opportuniste pour certains immunologiquement faibles. Elle est responsable d'infections douloureuses des muqueuses telles que la vaginite chez les femmes et le muguet bucco-pharyngien chez les patients atteints du SIDA (Joon et Sudbery, 2011).

Elle est responsable aussi des infections disséminées par voie hématogène avec une mortalité importante (un taux avoisinant les 40 % dans certains cas) (Clarissa et Johnson, 2015).

Il existe diverses caractéristiques fascinantes des *Candida albicans*, le cycle vital et la biologie qui ont fait de l'agent pathogène l'objet de recherches approfondies, y compris sa capacité de se développer sous forme de levure unicellulaire, pseudo filament et filament (Clarissa et Johnson, 2015).

Quand au genre *Aspergillus* comme *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger*; ce sont des champignons saprophytes omniprésents qui jouent un rôle important dans le recyclage mondial du carbone et de l'azote. Bien que leur niche écologique principale soit le sol ou la végétation, les aspergilles produisent des petites conidies hydrophobes qui se dispersent facilement dans l'air et peuvent survivre à un large éventail de conditions environnementales. Il sporule abondamment, chaque tête de conidie produisant des milliers des spores. Les spores libérées dans l'atmosphère ont un diamètre suffisamment petit (2 à 3 µm pour *Aspergillus fumigatus* et 3 à 5 µm pour *Aspergillus niger*) pour atteindre les alvéoles pulmonaires. Les *Aspergillus* n'ont pas de mécanisme pour libérer ses conidies dans l'air ; la dissémination repose simplement sur des perturbations de l'environnement et de forts courants d'air. Une fois que les conidies sont dans l'air, leur petite taille les rend flottantes, ce qui les maintient en suspension dans l'air à la fois à l'intérieur et à l'extérieur. Des études environnementales indiquent que tous les humains inhalent au moins plusieurs centaines d'*Aspergillus fumigatus* conidie par jour (Latgé, 1999).

Un des plusieurs différenciations entre les deux espèces c'est la couleur ; *aspergillus fumigatus* prendre une couleur Blanc puis vert, vert-gris puis vert foncé à gris-noirâtre. Mais pour *Aspergillus niger* prendre une couleur Blanc puis jaune puis granuleux et noirâtre. Une autre distinction c'est que *Aspergillus fumigatus* très résistant à haute température, qui peut pousser jusqu' à 50°C au contraire d'*Aspergillus Niger*. Pour la plupart des patients, la maladie causée par les *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger* survient principalement dans les poumons, bien que la dissémination de n'importe quel organe se produise chez les plus gravement prédisposés. En général, les *Aspergillus*, a un impact énorme sur La santé public (Latgé, 1999).

Plusieurs espèces d'*Aspergillus* sont utilisées pour leur richesse enzymatique dans la production industrielle d'aliments et de produits pharmaceutiques. Par exemple, *Aspergillus niger* est utilisé dans l'industrie pour la production d'acide citrique, d'amylases, de pectinases, de phytases et protéases. (Dagenais, et al., 2009).

Aspergillus fumigatus cause l'aspergillose ou aspergillose pulmonaire chronique ; elle survient encore aujourd'hui dans 10 à 15 % des patients atteints de maladies pulmonaires cavitaires. L'aspergillose pulmonaire invasive qu'est devenue l'une des principales causes de décès, principalement chez les patients en immunodépression. L'incidence moyenne de l'aspergillose pulmonaire invasive est estimée à 5 à 25% chez les

patients atteints de leucémie aiguë et l'Aspergillose broncho pulmonaire allergique qui survient approximativement chez 1 à 2% des patients asthmatiques (15% des patients asthmatiques sensibilisés à *A. fumigatus*) et 7 à 35% des patients atteints de mucoviscidose, cette dernière maladie est aussi causée par *Aspergillus niger* d'après (Hoshino et al., 1999).

Ces deux espèces de moisissures sont responsables aussi des maladies chez les animaux et même les végétaux comme l'aspergillose naso-sinusale canine chez les chiens par *Aspergillus fumigatus* (Gautherot, 2012) et comme la pourriture noire des oignons et de l'ail, Chancre de la vigne du raisin de table qui ont été causés par *Aspergillus Niger* (Lanette, 2014).

La lutte contre ces maladies fongiques est basée sur l'utilisation d'un arsenal thérapeutique qui a été composé de plusieurs antifongiques comme celles de : la fluconazole, la caspofungine, la micafungine, pour *Candida albicans* ou l'itraconazole, posaconazole, désoxycholate (AmB-D) caspofungin, Anidulafungin pour les aspergilloses, mais dans ces dernières années, un problème de résistance a été développé contre les champignons pathogènes (Whaley, et al., 2017), alors que des études approfondies visant à élucider les mécanismes moléculaires de la résistance à l'azolé de haut niveau chez *Candida albicans* ont révélé le rôle de la mutation du gène de biosynthèse de l'ergostérol (Lelièvre et al., 2013).

Ce problème de résistance contre les médicaments antifongiques conventionnels ont poussé les chercheurs à développer d'autres alternatives de substances chimiques, par des substances bio actives tel que l'extrait de plante; L'extrait de plante est un terme générique pour les dérivés de produits naturels avec des composants chimiques qui n'ont pas été complètement élucidés, et avant d'effectuer des recherches sur la purification des composants de l'extrait, il est important de cribler les extraits pour leur activité antifongique, Des nombreux types d'extraits ont été rapportés comme présentant une activité antifongique dans la littérature : extraits dérivés du *Curcuma zedoaria*, *Psidium guajava*, *Plectranthus amboinicus*, *Aristolochia cymbifera*, *Plectranthus barbatus*, *Lippia alba*, *Hydrocotyle bonariensis*, *Hydrocotyle bonariensis*, *Justicia pectoralis var. stenophylla*, *Herreria salsaparilha*, *Mentha X piperita*, *Eleutherine bulbosa*, *Baccharis trimera*, *Calamintha adscendens*, *Albizia inundata*, *Bauhinia forficata*, *Cymbopogon citratus*, *Plectranthon*, *Pyrrhus. citratus* et *Plectranthus grandis* ont tous démontré une activité contre *Candida sp*, par exemple ; la seconde alternative est celle des huiles

essentielles qui sont des mélanges d'éléments volatils contenus dans diverses parties de plantes (fleurs, feuilles, écorces, fruits et rhizomes). Dans la plupart des cas, ces huiles sont obtenues par distillation à la vapeur ou par pressage du péricarpe des agrumes. Les huiles essentielles sont principalement composées de mono- et sesquiterpènes et de phénylpropanoïdes, qui lui confèrent ses caractéristiques organoleptiques, sont liées aux différentes fonctions nécessaires à la survie de la plante et jouent un rôle clé dans la défense de la plante contre les micro-organismes, une autre substance alternative est apportée ; la propolis, qui est le nom générique d'un mélange complexe de substances résineuses recueillies sur les plantes par les abeilles. Elle est utilisée dans la ruche pour recouvrir les parois internes, protéger l'entrée contre les intrus et empêcher le développement des champignons et des bactéries. (Howard et *al.*, 2011)

La composition chimique de la propolis est fortement influencée par le type d'abeille, la végétation et la saison de l'année. Malgré les différences de composition de la propolis, des études menées à différents moments et dans différentes régions ont démontré son activité antifongique, dans une étude où ils ont comparé les activités de la propolis et du fluconazole contre *Candida sp* isolées de la bouche de patients séropositifs a montré que l'extrait de propolis était capable d'inhiber la levure avec une CMI inférieure à celle du fluconazole (Howard et *al.*, 2011), une autre substance qui a été testée par des chercheurs, les alcaloïdes. Ces substances d'origine végétale constituent un groupe diversifié et présentent un large spectre d'activité, qui contiennent un ou plusieurs atomes d'azote (généralement dans un cycle hétérocyclique) et présentent généralement une activité pharmacologique importante (Howard et *al.*, 2011).

Dans la majorité des protocoles expérimentaux sur les substances bio actives, l'utilisation des solvants est apparait très important et nécessaire. Le solvant assure plusieurs fonctions au cours d'une réaction chimique. Il solvate les (s) réactants (s) et les réactifs afin qu'ils se dissolvent. Cela facilite les collisions entre les (s) réactants (s) et les réactifs qui doivent se produire afin de transformer les (s) réactants (s) en produit (s), le solvant fournit également un moyen de contrôler la température, soit pour augmenter l'énergie des particules en collision afin qu'elles réagissent plus rapidement, soit pour absorber la chaleur générée pendant une réaction exothermique, le choix d'un solvant approprié est guidé par la théorie et l'expérience, en général un bon solvant doit répondre aux critères suivants : il doit être inerte dans les conditions de la réaction, il doit dissoudre

les réactants et les réactifs, il doit avoir un point d'ébullition approprié, il doit être facilement éliminé à la fin de la réaction, le deuxième critère est la règle du " tout ce qui est similaire attire tout ce qui est similaire ", les réactifs non polaires se dissolvent dans les solvants non polaires. Les réactifs polaires se dissolvent dans les solvants polaires. Pour notre propos, il existe trois mesures de la polarité d'un solvant : le moment dipolaire, la constante diélectrique, la miscibilité avec l'eau. Les molécules ayant un grand moment dipolaire et un constant diélectrique élevé sont considérées comme polaires. Celles qui ont un faible moment dipolaire et une petite constante diélectrique sont considérées comme non polaires. D'un point de vue opérationnel, les solvants qui sont miscibles avec l'eau sont polaires, tandis que ceux qui ne le sont pas sont non polaires (l'huile et l'eau ne se mélangent pas), dernièrement les Solvants non polaires sont des composés qui ont une faible constante diélectrique et ne sont pas miscibles avec l'eau. Les exemples incluent le benzène (C₆H₆), le tétrachlorure de carbone (CCl₄) et l'éther d'éthyls (CH₃CH₂OCH₂CH₃). (Janzon, et al., 2014)

Il y a principalement beaucoup de solvants que les chercheurs utilisent dans leurs études antifongiques. Les plus connus sont le DMSO, le tween, l'éthanol, le cyclohexane, le méthanol, l'éther de pétrole, le propanol, le chloroforme (Bhatt, et al., 2010), (Inouye, Shigeharu, et al., 2001).

Dans la présente étude, nous avons constaté que l'étude de l'effet antifongique probable des solvants en soi et même la façon dont le solvant affecte les résultats sont peu nombreux dans la bibliographie et méritant d'être étudiée car il n'y a pas de guide précis sur la concentration exacte du solvant qui commence à affecter le champignon en soi et non les bio substances comme la propolis et les huiles essentielles.

Dans notre étude, notre choix a porté sur le tween 80 et le DMSO pour leur disponibilité et parce qu'ils sont les solvants les plus communs dans le monde surtout dans les bio essais antifongiques. Par définition, le sulfoxyde de diméthyle (DMSO) est connu depuis plus d'un siècle, mais ce n'est que récemment qu'il a été fabriqué à l'échelle industrielle. Il prend de plus en plus d'importance comme solvant polyvalent et comme intermédiaire dans les processus synthétiques. Ses propriétés de solvant ont été démontrées pour un certain nombre de gaz, de liquides, de certains sels et une variété de polymères. Le DMSO est un liquide organique incolore, hydrosoluble, hygroscopique et légèrement alcalin qui bout à 189 °C. Il n'a qu'une légère odeur et n'est pas toxique. L'eau et le DMSO

sont miscibles en toutes les proportions, et comme beaucoup d'autres systèmes solvant-eau, les propriétés physiques des mélanges ne sont pas liées linéairement à celles de chaque constituant (LeBel, et Goring, 1962).

Le Tween 80 Autrement connus sous le nom de polysorbate, est généralement utilisé comme tensioactif pour disperser les particules hydrophobes dans les solutions aqueuses, ainsi que comme détergents non ioniques pour l'extraction sélective des protéines et l'isolement des noyaux des cellules de mammifères. Les tweens sont un condensé d'ester d'acide gras de sorbitol et d'oxyde d'éthylène. Ils sont solubles ou dispersables dans l'eau mais diffèrent largement en termes de solubilité dans l'huile et les produits organiques. Il a un poids moléculaire de 1,31 kDa et fonctionne bien comme stabilisateur et émulsifiant, principalement dans les cosmétiques, les produits pharmaceutiques et les produits alimentaires. (Anonyme dans info.gbiosciences.com, Jan 14, 2020 2 : 30 : 00 PM. URL)

Les objectifs de notre étude est la réalisation d'une étude préliminaire sur les effets de Tween 80 et de DMSO qui affecte la croissance fongique de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger*, en déterminant les concentrations qui inhibent la croissance fongique. Puis en deuxième partie, nous essayerons de rechercher le pouvoir fongicide probable de ces deux solvants vis-à-vis ces trois redoutables espèces de champignons, très investigués par la communauté scientifique.

Etude Pratique

I. Matériel et méthodes

I.1 Matériel

Le tableau 1, regroupe tous les matériels, produits et réactifs qui ont été utilisés dans le présent travail.

Tableau 1 : Matériel multi-usage et usage unique.

Multi-usage	Usage unique	
	Matériel	Produit
<ul style="list-style-type: none"> • Bain marie • Agitateur magnétique • Vortex • Hotte • Etuve à (35°C/28°C) • Autoclave • Four pasteur • Micro pipette 100 µL - 1000 µL • Bec bunsen • Microscope optique • Pince • pH mètre • Flacon 180 ml • Becher • Balance professionnelle • Réfrigérateur • Poire • Spatule 	<ul style="list-style-type: none"> • Pipette pasteur • Seringue stériles • Boite pétri de 90 mm • Microplaque stériles a 96 puits forme U • Tube conique en plastique stériles à 14 ml • Embouts • Para-film • Lame de Mallassiez • Lames et lamelles 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau physiologique stériles • Poudre bouillon de Sabouraud • Gentamycine : (gentamixine 40mg) • poudre sabouraud chloramphénicol • Tween 80 • Diméthylesulfoxyde (DMSO) • Glutaraldéhyde 25%

I.2 Matériel fongique

Au cours de cette étude, notre choix a été porté sur une espèce de levure ; *Candida albicans* qui est une souche de référence ATCC sous le numéro 10231. La deuxième souche fongique qui a été testée dans le présent travail est une moisissure ou champignon filamenteux (*Aspergillus niger*), c'est une souche de référence qui a été obtenu de centre de biotechnologie de Sfax (Tunisie) sous le numéro CTM10099. La troisième souche qui été testée est *Aspergillus fumigatus*, c'est une souche clinique isolée d'un cas d'aspergillose aviaire.

I.3 Méthode

Pour évaluer cet effet antifongique du tween 80 et du DMSO sur *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger*, nous avons utilisé la microdullution en bouillon sur les microplaques de 96 puits.

I.3.1 Préparation de la suspension fongique:

Les suspensions ont été préparées d'après les consignes décrites par CLSI M27-A et M38-A. Pour les deux espèces de moisissures qui ont servis pour notre étude, la suspension sporale a été préparée à partir d'une culture âgée de 7 jours dans le bouillon de Sabouraud Gentamicine 0.1g/l (Milieu de culture inoculé ou MCI). Idem pour *Candida albicans*, mais avec une culture jeune de 24h. Avec la cellule de mallassiez, nous avons préparé une suspension sporale de 10^5 pour les moisissures et 10^7 pour la levure.

I.3.2 Préparation de différentes concentrations des deux solvants testés

Avec le MCI, nous avons préparés différentes concentrations de Tween 80 et DMSO de 1/2/3/4/5/6/7/8/9 et 10%.

I.3.3 Méthode d'évaluation de pouvoir antifongique des solvants par microdullution dans un bouillon

Les concentrations des solvants déjà préparé dans le MCI sont distribuées dans les puits de 1 à 10. Un volume de 200 μ l de la concentration 1% (de premier ou de deuxième solvant) est ajouté dans le puits N°1 puis les autres concentrations des solvants jusqu'à la concentration 10% (dans le puits N°10). Dans le puits N° 11, 200 μ l de MCI sans solvant est ajouté. Le puits N°12 est réservé pour le milieu de culture non inoculé et sans solvant pour vérifier la qualité de bouillons de Sabouraud gentamycine. Dans le présent travail, chaque souche a été testée trois fois.

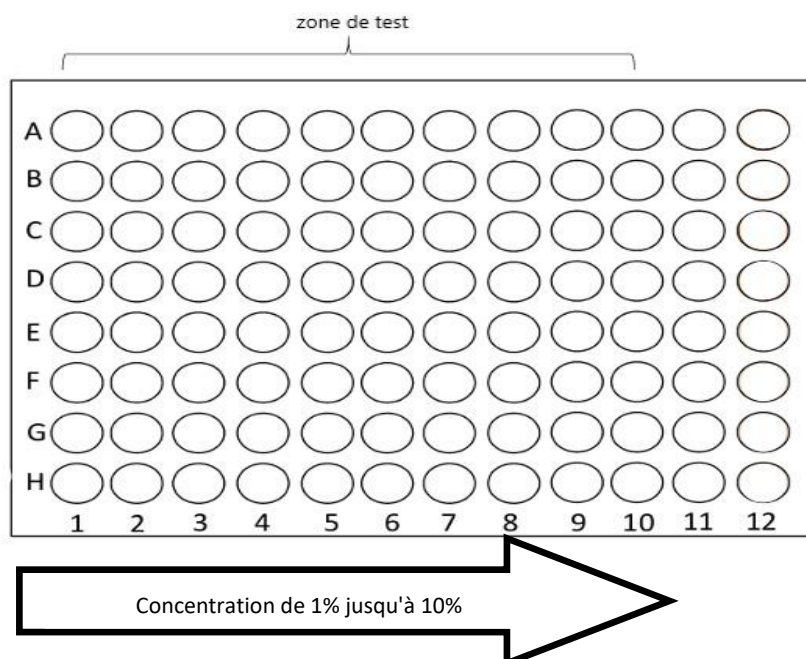


Figure 1 : Représentation schématique de la méthode expérimentale adoptée

Les microplaques ont été incubées à la température de 35°C. La lecture est assurée après 16 h d'incubation pour *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* et 3 h d'incubation pour *Candida albicans*. Juste après l'écoulement de la durée d'incubation, 50 µl de glutaraldéhyde à 25% est ajouté dans chaque puits. L'observation macroscopique de chaque puits puis un examen microscopique à l'objectif 40X afin de compter les spores fongiques germées des spores non germées sur trois champs microscopiques. Cette lecture nous a permis de calculer le taux de germination et le taux d'inhibition de la germination.

Avant l'adjonction de glutaraldéhyde à 25%, une goutte de chaque puits qui ne représente pas une croissance estensemencée dans des boîtes contenant la gélose de Sabouraud chloramphénicol 0.5g/l, afin de vérifier la viabilité de champignons testés. Cette étape nous a permis de vérifier si les solvants testés dans la présente étude sont uniquement fongistatiques à certaines concentrations ou ils sont fongicides à d'autres concentrations.

Cela nous a assuré la détermination de la dose minimale inhibitrice à 100% (CMI) et la dose minimale fongicide à 100% (CMF).

II. Résultats

II.1 Effet de DMSO et Tween 80 sur *Candida albicans*

II.1.1 Effet antifongique de DMSO sur *Candida albicans*

Après le comptage des spores germées et des spores non germées dans trois champs microscopiques, nous avons calculé le taux des spores germées (%) et non germées (%), ainsi le taux de germination corrigé (%) et le taux d'inhibition de germination corrigé (%) par rapport le control négatif (sans solvant). Tous les résultats de l'effet de différentes concentrations de DMSO sur *Candida albicans* par la méthode de microdilution sont récapitulés dans le tableau 2 et la figure 2

Tableau 2 : Effet antifongique de DMSO sur *Candida albicans*.

Paramètres	Concentration de DMSO										Contrôle négatif (%)
	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%	
Nombre des spores germées	64 ±9	53 ±8	57 ±6	58 ±17	41 ±2	38 ±3	27 ±2	19 ±5	20 ±1	11 ±2	120 ±12
Nombre des spores non germées	110 ±17	103 ±10	133 ±14	162 ±39	131 ±8	132 ±13	133 ±9	135 ±24	157 ±3	134 ±10	215 ±35
Taux des spores germées (%)	37,3 ±1,68	33,7 ±3,06	30,04 ±2,50	25,95 ±1,75	23,83 ±1,36	22,5 ±1,27	16,6 ±0,65	12,63 ±1,93	11,41 ±0,79	7,7 ±0,53	40,2 ±1,15
Taux spores non germées (%)	62,7 ±1,68	66,3 ±3,06	69,96 ±2,50	74,05 ±1,75	76,17% ±1,36	77,5 ±1,27	83,4 ±0,65	87,37 ±1,93	88,59 ±0,79	92,3 ±0,53	59,8 ±1,15
Taux de germination corrigé (%)	92,79 ±2,07	84,04 ±5,39	74,7 ±4,16	64,4 ±2,55	59,3 ±2,37	50,9 ±8,61	41,18 ±2,77	31,56 ±5,51	28,4 ±2,27	19,16 ±1,56	100
Taux d'inhibition de germination corrigé (%)	7,21 ±2,07	15,96 ±5,39	25,30 ±4,16	35,6 ±2,55	40,70 ±2,37	49,1 ±8,61	58,82 ±2,77	68,44 ±5,51	71,6 ±2,27	80,84 ±1,56	0

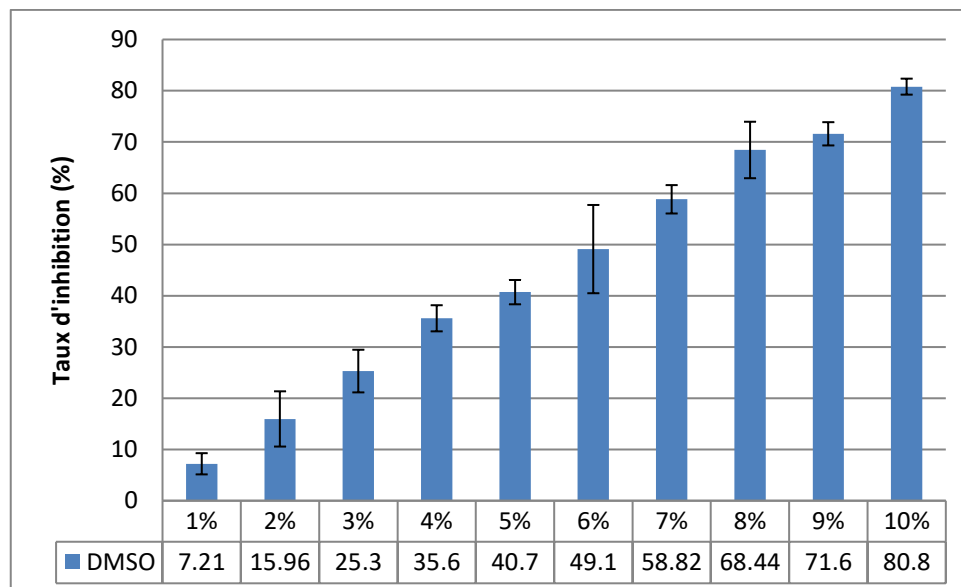


Figure 2 : Représentation graphique des taux d'inhibition de germination corrigé des spores de *Candida albicans* de différentes concentrations de DMSO

A la lumière de ces résultats, nous avons constaté que :

- Même avec la concentration la plus faible de DMSO (1%), il paraît que ce solvant commence à inhiber la germination des spores même avec des doses minimales par rapport au contrôle négatif.
- Le taux d'inhibition de germination corrigé est proportionnel avec l'augmentation des concentrations de DMSO.
- Même avec la concentration de DMSO la plus importante (10%), ce solvant n'arrive pas à inhiber totalement la germination des spores de *Candida albicans* (80.84%) (figure 1).

II.1.2 Effet antifongique de Tween 80 sur *Candida Albicans*

Dans le tableau 3 et la figure 2, tous les résultats de l'effet de Tween 80 avec les différentes concentrations sur *Candida Albicans* sont résumés.

Tableau 3 : Effet antifongique de Tween 80 sur *Candida albicans*.

Paramètres	Concentration de Tween 80										Contrôle négatif (%)
	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%	
Nombre des spores germées	70 ±35	94 ±4	102 ±22	89 ±9	80 ±21	95 ±21	79 ±17	86 ±16	57 ±20	69 ±20	130 ±3
Nombre des spores non germées	102 ±39	151 ±22	169 ±8	157 ±11	151 ±31	194 ±15	172 ±44	191 ±21	134 ±30	174 ±28	178 ±42
Taux de Blastospores germée (%)	40% ±3,65	38,5 ±2,51	37,23 ±4,28	35,86 ±3,46	34,86 ±3,90	32,86 ±3,19	31,42 ±2,5	30,73 ±2,55	29,4 ±2,85	27,93 ±3,35	40,7 ±3,81
Taux Blastospores non germée (%)	60% ±3,65	61,5 ±2,51	62,77 ±4,28	64,14 ±3,46	65,14 ±3,90	67,14 ±3,19	68,58 ±2,5	69,27 ±2,55	70,6 ±2,85	72,07 ±3,35	59,25 ±3,81
Taux de germination Corrigé ¹ (%)	98,2% ±1,5	94,77 ±4,6	90,97 ±2,33	88,06 ±0,25	84,82 ±1,68	80,7 ±2,1	76,9 ±1,6	75,6 ±1,61	72,9 ±3,85	68,87 ±5,52	100
Taux d'inhibition de germination corrigé ¹ (%)	1,73 ±1,5	5,23 ±4,6	9,03 ±2,33	11,94 ±0,25	15,18 ±1,68	19,3 ±2,1	23,1 ±1,6	24,4 ±1,61	27,1 ±3,85	31,13 ±5,52	0

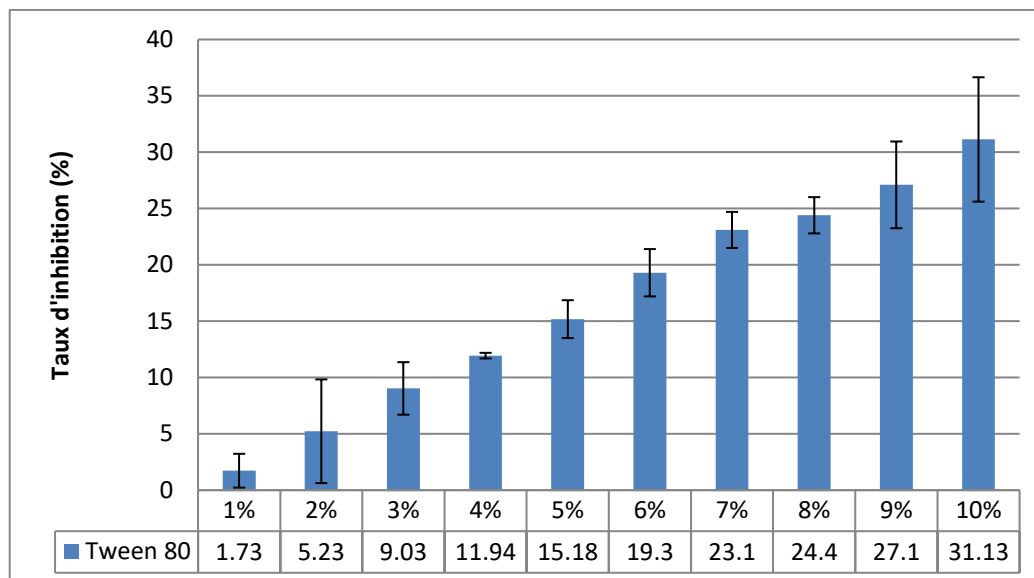


Figure 3 : Représentation graphique des taux d'inhibition de germination corrigé des spores de *Candida albicans* de différentes concentrations de Tween 80

Sur la base de ces résultats, nous avons remarqué les points suivants :

- La dose la plus faible de Tween 80 (1%), est inhibitrice de la germination des spores de *Candida albicans* mais avec des taux très faible (1.73%).
- Les taux de germination qui ont été enregistré dans cet essai sur *Candida albicans* sont disproportionnels avec les différentes concentrations de ce solvant.
- Même qu'avec la concentration la plus importante qui a été adopté dans cette étude, nous avons enregistré un taux faible d'inhibition de germination des spores de cette espèce de levure (presque un tiers des spores non germées) (figure 2).

II.1.3 Etude comparative des effets de Tween 80 et DMSO sur *Candida Albicans*.

Pour mieux étudier et comparé les effets des solvants qui ont été testés dans le présent travail, nous mettons tous les résultats d'inhibition de germination corrigé (%) des deux solvants dans la figure 4.

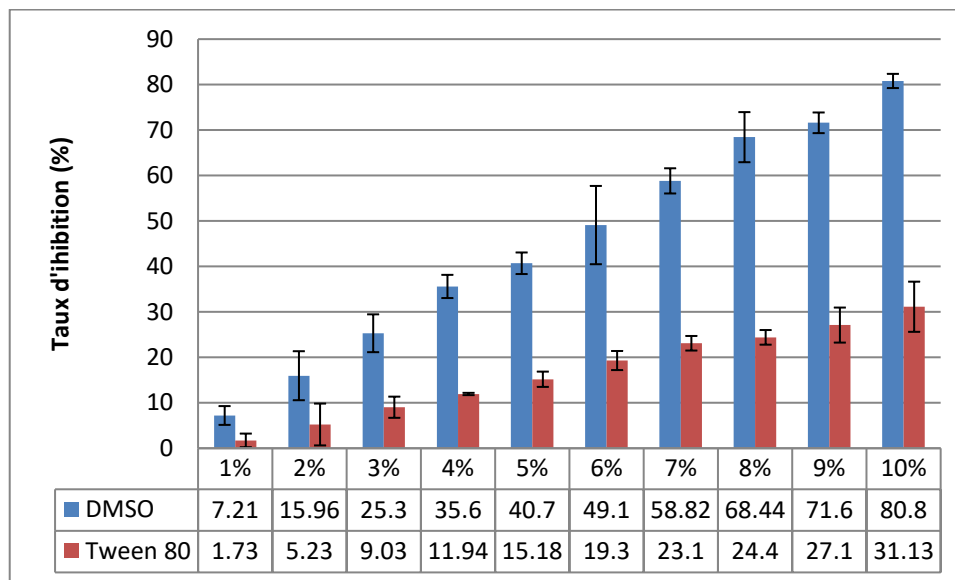


Figure 4 : Représentation graphique des taux d'inhibition de germination corrigé des spores de *Candida albicans* de différentes concentrations des deux solvants.

Ces résultats nous ont permis de constater :












- Les deux solvants commencent à inhibé la germination des spores de *Candida albicans* même avec la concentration la plus faible.
- Les deux solvants n'arrivent pas à inhibé la germination à 100% des spores de cette levure même avec la concentration la plus importante (10%).
- L'effet antifongique qui a été enregistré avec le Tween 80 est apparait très faible par rapport de ce qui a enregistré avec le DMSO (plus de trois quarts des spores de *Candida albicans* est non germées).

II.2 Effet antifongique de Tween 80 et DMSO sur *Aspergillus niger*

II.2.1 Effet antifongique de DMSO sur *Aspergillus niger*

Les résultats de l'effet des différentes concentrations de DMSO sur la germination des spores d'*Aspergillus niger* sont consignés sur le tableau 4 et la figure 4.

Tableau 4 : Effet de DMSO sur *Aspergillus niger*.

Paramètres	Concentration de DMSO										Contrôle négatif (%)
	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%	
Nombre de spores germées	117 ±21	102 ±23	115 ±19	91 ±22	64 ±20	46 ±12	35 ±5	0	0	0	123 ±20
Taux de germination (%)	95.12	82.92	93.49	73.98	52.03	37.39	28.4	0	0	0	100
Nombre de spores non germées	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
la taille des disques mycéliens											

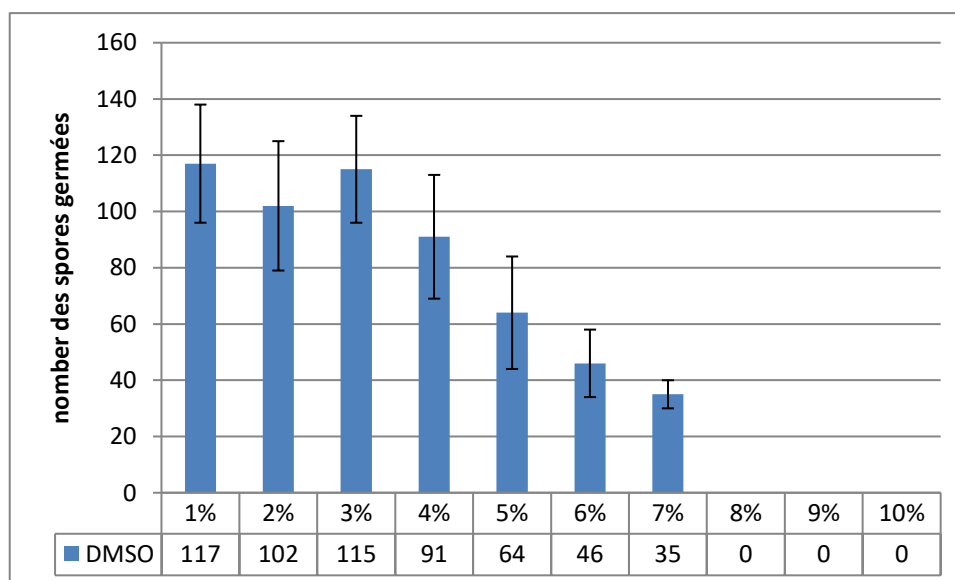


Figure 5 : Représentation graphique de nombre de germée des spores d'*Aspergillus niger* de différentes concentrations de DMSO





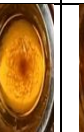
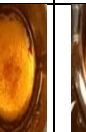
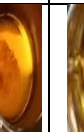

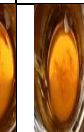


Les résultats mentionnés dans le tableau 4 et la figure 4, nous ont permis de tirer quelques observations comme :

- La germination des spores d'*Aspergillus niger* est observée à partir de la concentration la plus faible de DMSO qui a été adopté pour ce travail (1%) jusqu'à la concentration 7%.
- La détection des spores de cette moisissure sous la forme non germée, n'a été enregistrée avec aucunes concentrations, qui ont été choisi dans cette étude de 1 à 10%.
- À partir de la concentration 8% jusqu'à la concentration 10% de DMSO, nous avons enregistré une inhibition à 100% de la germination des spores d'*Aspergillus niger*.
- Le nombre de germination des spores est disproportionnel avec l'augmentation dans les concentrations de DMSO (figure 4).

II.2.2 Effet antifongique de Tween 80 sur *Aspergillus niger*

Les données de l'effet antifongique de Tween 80 sur *Aspergillus niger* avec des doses croissantes de 1 à 10% sont récapitulées dans le tableau 5 et la figure 5.

Tableau 5 : Effet de tween 80 sur l'*Aspergillus niger*.

Paramètres	Concentrations de Tween 80										Contrôle négatif (%)
	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%	
Nombre des spores germées	180 ±31	173 ±33	172 ±33	156 ±30	162 ±34	137 ±30	140 ±37	132 ±35	137 ±56	129 ±46	191 ±30
Taux de germination (%)	94.24	90.57	90.05	81.67	84.81	71.72	73.29	69.10	71.72	67.5	100
Nombre des spores non germées	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
la taille des disques mycéliens											

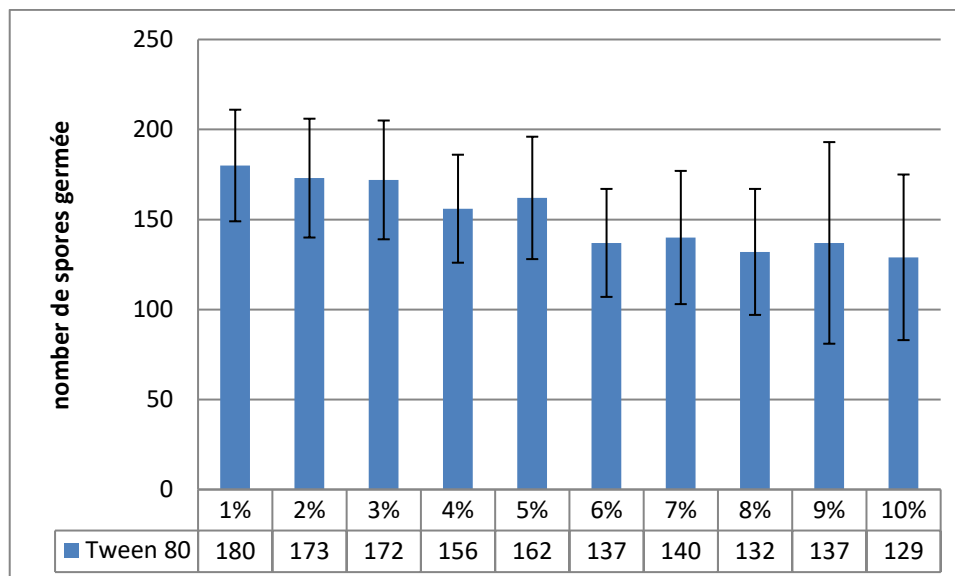


Figure 6 : Représentation graphique de nombre des spores germées d'*Aspergillus niger* de différentes concentrations de Tween 80

En appuyant sur ces résultats, plusieurs remarques ont été tirées :

- La germination des spores d'*Aspergillus niger* est observée pour toutes les concentrations de Tween 80 de la plus faible (1%) jusqu'à la plus importante (10%).
- Idem pour ce solvant, la détection des spores non germées d'*Aspergillus niger* n'a été enregistrée avec aucunes concentrations (de 1 à 10%).
- Le nombre des spores germées qui a été enregistré avec chaque concentration de Tween 80 est disproportionnel avec les doses de 1 à 10%.
- une remarque attirante a été relevé, est la taille des disques mycéliens qui ont été observé macroscopiquement sont décroissantes depuis la dose 1% jusqu'à 10%.

II.2.3 Etude comparative des effets de Tween 80 et DMSO sur *Aspergillus niger*

Afin de comparer les effets des deux solvants testés sur cette espèce de moisissure, nous avons collecté le nombre des spores germées d'*Aspergillus niger* en fonction des doses dans la figure 6.

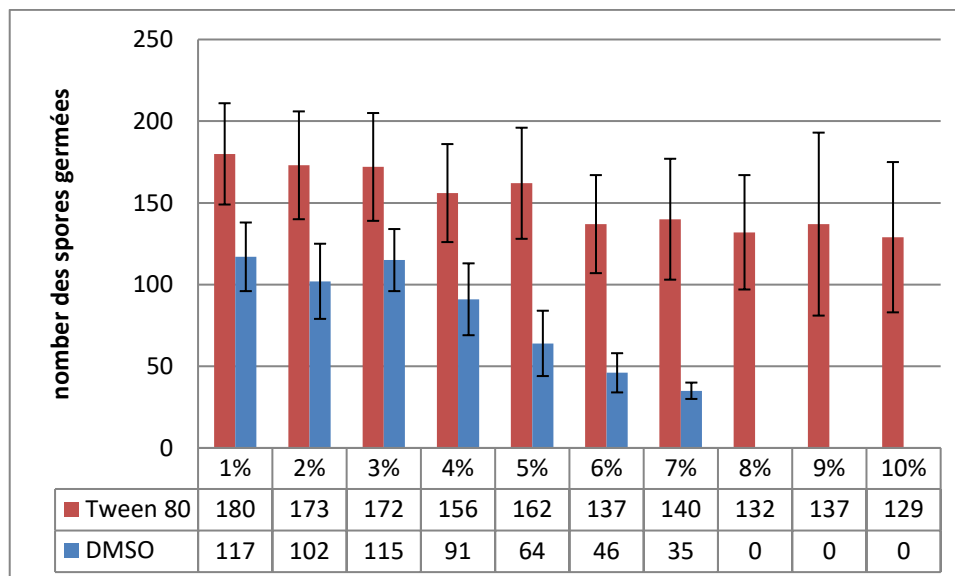


Figure 7 : Représentation graphique de nombre des spores germées d'*Aspergillus niger* de différentes concentrations de DMSO et de Tween 80

Ces résultats montrent les points suivants :












- aucune inhibition de la germination des spores à 100%, n'a été enregistrée pour le Tween 80.
- par contre une inhibition de la germination des spores à 100% a été observé qu'à partir de la concentration 8 jusqu'à la 10%.
- en général, les résultats sur le nombre des spores germées d'*Aspergillus niger* testées par les deux solvants sont disproportionnels avec la dose des deux solvants.
- il est évident que le nombre des spores germées qui ont été observées sur cette moisissure, est très important sur le Tween 80 que le DMSO.

II.3 Effet antifongique de Tween 80 et DMSO sur *Aspergillus fumigatus*

II.3.1 Effet antifongique de DMSO sur *Aspergillus fumigatus*

Le tableau 6 et la figure 7 regroupe tous les résultats qui ont été trouvés lors de la réalisation des bios tests sur l'effet de différentes concentrations de DMSO sur la germination des spores d'*Aspergillus fumigatus*.

Tableau 6 : Effet antifongique de DMSO sur *Aspergillus fumigatus*.

Paramètres	Concentration de DMSO										Contrôle négatif (%)
	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%	
Nombre des spores germées	140	133	135	120	103	94	0	0	0	0	142
Taux de germination (%)	98.59	93.66	95.07	84.50	72.53	66.19	0	0	0	0	100
Nombre des spores non germées	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
la taille des disques mycéliens											

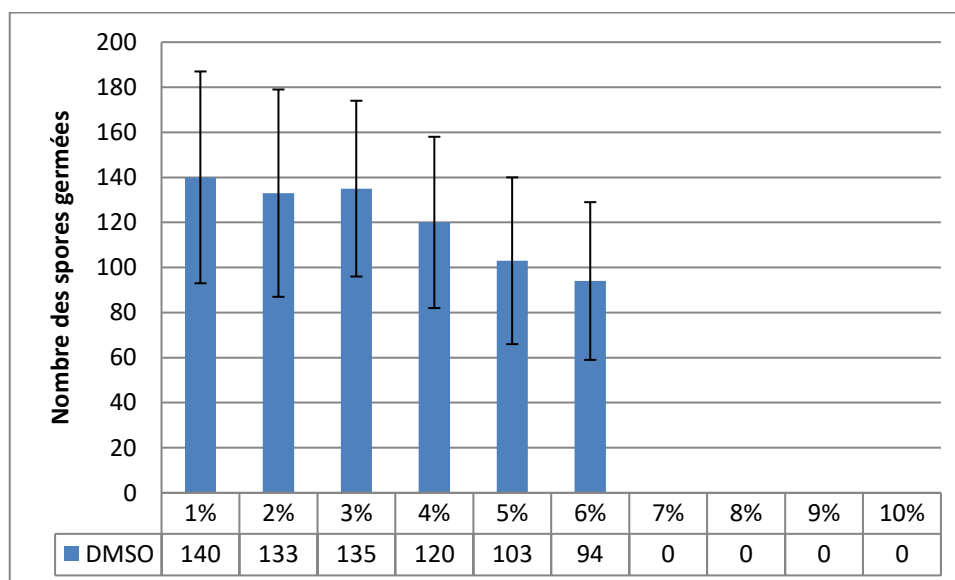


Figure 8 : Représentation graphique de nombre des spores germées d'*Aspergillus fumigatus* de différentes concentrations de DMSO

Il ressort de ces résultats que :






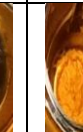





- Le nombre des spores germées d'*Aspergillus niger* qui a été trouvé dans la concentration la plus faible (1%) est très proche au nombre enregistré sur le control.
- L'observation de la forme non germées des spores d'*Aspergillus fumigatus*, n'a été détectée dans toutes les concentrations de DMSO même dans le control de ce bio essai.

- Dès la concentration 7% (jusqu'à la concentration 10% de ce solvant), une inhibition à 100% de la germination des spores d'*Aspergillus fumigatus* a été enregistrée.
- Cette germination des spores est disproportionnelle avec l'augmentation dans les concentrations de DMSO (figure 7).

II3.2 Effet antifongique de Tween sur 80 *Aspergillus fumigatus*

Les bio essais qui ont été effectués sur *Aspergillus fumigatus* pour étudier les effets antifongiques de Tween 80 des différentes concentrations nous ont permis de collecter les résultats consignés dans le tableau 7 et la figure 8.

Tableau 7 : Effet antifongique de Tween 80 sur *Aspergillus fumigatus*.

Paramètres	Concentrations de Tween 80										Contrôle négatif (%)
	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%	
Nombre des spores germées	154	153	136	136	133	126	125	111	103	84	164
Taux de germination (%)	93.90	93.29	82.92	82.92	81.09	76.82	76.21	67.68	62.80	51.21	100
Nombre des spores non germées	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
la taille des disques mycéliens											

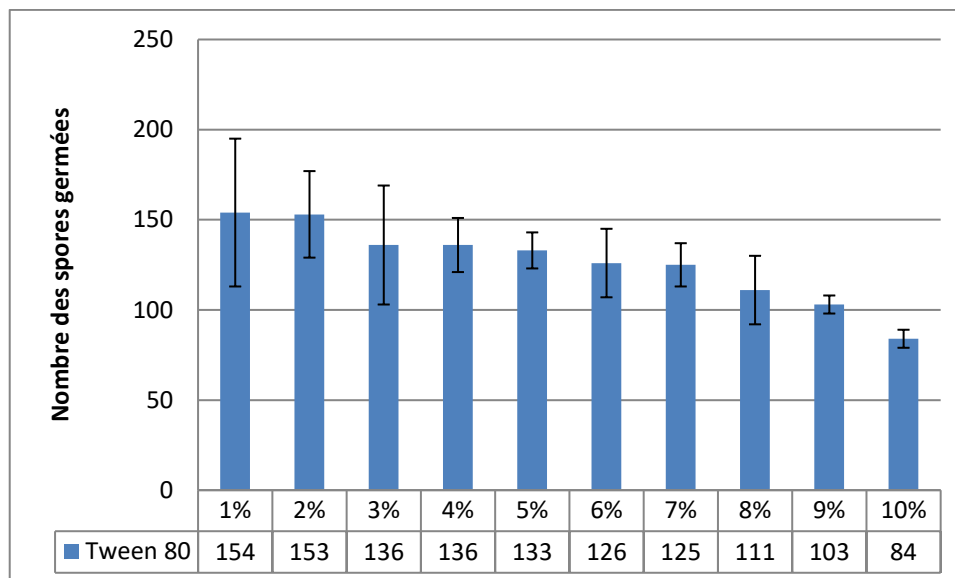


Figure 9 : Représentation graphique de nombre des spores germées d'*Aspergillus fumigatus* de différentes concentrations de Tween 80

À la lumière de ces résultats, nous pouvons soulever les observations suivantes :

- Dans toutes les concentrations de Tween 80, nous avons détectées des spores d'*Aspergillus fumigatus* germées.
- Nous avons remarqué aussi sur toutes les concentrations de Tween 80, que les spores non germées de cette espèce fongique n'ont pas enregistré (non observées sur plusieurs champs microscopiques et mêmes sur plusieurs répétitions de ces bios essais).
- Les concentrations de ce solvant sont aussi disproportionnel avec le nombre des spores fongiques germées (figure 8).
- De même, les tailles des disques mycéliens qui ont été observé macroscopiquement sont disproportionnelles avec les concentrations de 1% à 10% de Tween 80.

II.3.3 Etude comparative des effets de Tween 80 et DMSO sur *Aspergillus fumigatus*

Pour faciliter la comparaison des effets observés des deux solvants sur *Aspergillus fumigatus*, nous avons rassemblé toutes les données de nombre des spores germées de différentes concentrations dans la figure 9.

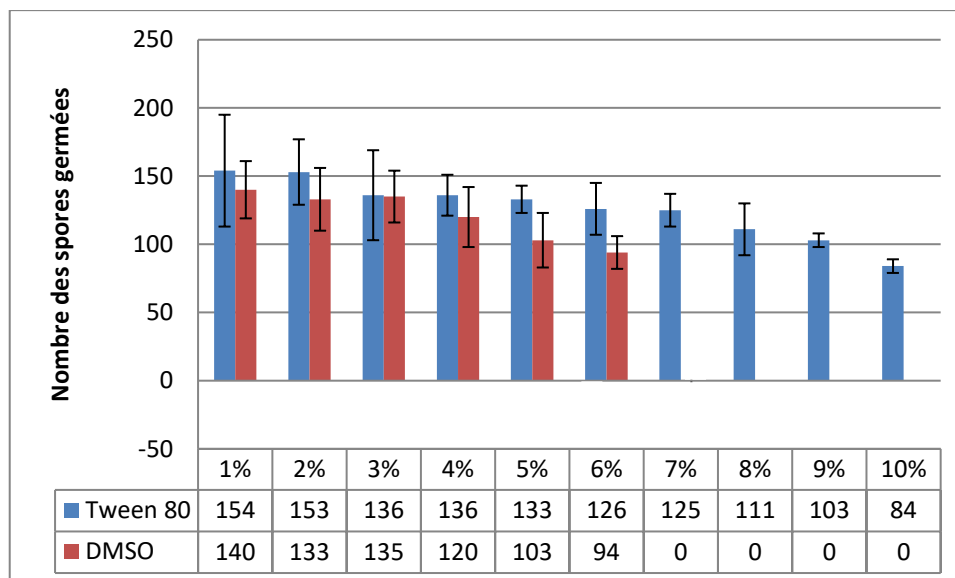


Figure 10 : Représentation graphique de nombre des spores germées d’*Aspergillus fumigatus* de différentes concentrations de DMSO et de Tween 80

Il ressort de cette étude comparative des effets des deux solvants sur *Aspergillus fumigatus*:

- L’inhibition de la germination des spores à 100%, a été enregistrée uniquement pour Le DMSO.
- Cette inhibition de la germination des spores d’*Aspergillus fumigatus* à 100% a été enregistrée que pour les doses de 7 à 10%.
- Les résultats qui ont été enregistrés sur le nombre des spores germées d’*Aspergillus niger* par les deux solvants sont aussi disproportionnels avec les concentrations préparées.
- Il est avéré aussi à partir de ces résultats que le nombre des spores germées est très important pour le Tween 80.

II.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) des deux solvants testés sur les trois souches fongiques

Dans cette partie, nous avons essayé de collecter tous les résultats sur les concentrations qui inhibent totalement la croissance fongique des trois espèces qui ont été testées dans la présente étude. Toutes les doses qui ont enregistré une inhibition de la germination des spores fongiques ont été repiquées par la suite sur milieu de sabouraud chloramphénicol 0.5g/l pour déterminer la valeur probable de CMF des trois solvants et pour chaque souche fongique testée. Toutes les données qui ont été obtenues sont résumées dans le tableau 8.

Tableau 8 : Valeurs de CMI et CMF des deux solvants des trois souches fongiques testées

Souches fongiques	DMSO		Tween 80	
	CMI (%)	CMF (%)	CMI (%)	CMF (%)
<i>Candida albicans</i>	ND	ND	ND	ND
<i>Aspergillus niger</i>	8	ND	ND	ND
<i>Aspergillus fumigatus</i>	7	ND	ND	ND

ND : non déterminé.

Au regard de ces résultats, plusieurs points qu'on peut tirer :

- Les valeurs de CMI et CMF des deux solvants de la souche *Candida albicans*, n'ont pas pu déterminer dans la présente étude.
- Il paraît que le Tween 80, n'est pas fongistatique (à 100%) et ni fongicide pour les trois souches fongiques testées.
- Le DMSO est fongistatique à partir de la concentration 8% et 7% pour les espèces de moisissure, *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* respectivement mais ne le sont pas pour *Candida albicans*.
- Le DMSO n'est pas fongicide pour les trois souches testées même avec la concentration 10%.

III. Discussion

Le but de cette étude est d'évaluer l'effet antifongique de deux solvants, le DMSO et le Tween 80 sur la croissance et la germination d'un champignon levuriforme : *Candida albicans* et sur deux champignons filamenteux : *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus*.

Les résultats de l'effet du DMSO sur *Candida albicans* montrent que la croissance de cette levure en fonction des différentes concentrations de ce solvant est disproportionnelle. Nous notons également qu'à partir de la concentration 1%, le DMSO commence à inhiber la germination des blastospores de cette levure. Pour confirmer cette observation une comparaison par un test statistique de ces valeurs expérimentales avec la valeur de contrôle négatif doit être effectuée. Même avec la concentration 10%, nous n'avons pas enregistré une inhibition de la germination à 100% (10% inhibe 80.84%). Ces résultats sont en concordance avec Muhammad (2007) dans son étude sur l'effet de DMSO sur *Candida albicans* et *Trichophyton mentagrophytes*. Cet auteur a utilisé une méthode similaire de notre méthode adoptée dans le présent travail où il n'a obtenu pas un effet inhibiteur à 100% du DMSO sur *Candida albicans* même avec sa concentration la plus importante à 10%. Par ailleurs, cet auteur a enregistré une inhibition de la germination par rapport le contrôle négatif (sans traitement) à partir de la concentration 1.25% très proche de notre concentration (1%).

Par ailleurs, Hazen (2013) a enregistré aussi dans son étude sur l'effet de DMSO sur plusieurs espèces de genre *Candida* que ce solvant a un effet inhibiteur sur la croissance de *Candida albicans* à partir de sa concentration la plus faible qui a été testée de 0.5% par rapport le contrôle négatif. Mais aussi, cet auteur a enregistré une inhibition de la germination des blastospores de *Candida glabrata* et *Candida parapsilosis* à la concentration de 0.5% par rapport le contrôle négatif (0% de DMSO).

De plus, les concentrations de DMSO qui ont été testées dans la présente étude, n'ont pas permis de déterminer les valeurs de la concentration minimale inhibitrice à 100% (CMI) et la concentration minimale fongicide à 100% (CMF) de *Candida albicans*. Muhammad (2007) a arrivé aux mêmes constatations.

A propos des résultats de l'effet du Tween 80 sur cette espèce de levure, il paraît que l'effet de ce solvant est très différent de ce qui a été enregistré avec le DMSO. Car le Tween 80 n'a presque pas un effet inhibiteur important même qu'avec la concentration la plus importante (10% n'assure qu'une inhibition de 31.13% de la germination des blastospores

contre 80.84% de DMSO). Comme dans l'effet de DMSO contre cette espèce de levure, la concentration la plus faible (1%) a commencé à inhiber la germination des blastospores avec 1.73% par rapport le contrôle négatif. En revanche, Blaize et *al.* (2009), ont trouvé que le Tween 80 à des faibles concentrations de 0.05% qui n'a aucun effet sur la croissance des cellules fongiques mais plutôt à un effet améliorateur de la croissance des blastospores par rapport le contrôle négatif. Par ailleurs, Liu et *al.* (2010) ont trouvé que le Tween 80 amélioré la croissance cellulaire de *Candida tropicalis* et l'élimination du phénol (polluant de milieu extérieur). D'après ces auteurs, ce tensioactif a eu un effet plus fort à des concentrations plus élevées de ce solvant.

Dans les testes de l'effet de DMSO et de Tween 80 sur *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* qui ont été réalisés dans la présente étude, une attirante remarque a été enregistré, c'est que les spores non germées sont absente dans tous les champs microscopiques observés. Cette remarque non expliquée, nous a empêchés de calculer le taux d'inhibition de germination de ces deux champignons. Sachant que lors de repiquage de contenu des puits de microplaques qui ne renferment pas une croissance fongique (macro et microscopique) afin d'explorer les valeurs de CMI et CMF sur le milieu de Sabouraud Chloramphénicol (0.5g/l), les champignons sont encore viables même à la concentration de 10%.

Concernant les résultats de CMI et CMF de Tween 80, toutes les concentrations qui ont été utilisées dans le présent travail, n'arrivent pas à déterminer une valeur de celles-ci.

Quant à l'étude de l'effet de DMSO sur *Aspergillus niger*, macroscopiquement, nous avons remarqués que la taille des disques mycéliens est disproportionnelle avec les concentrations de DMSO de 1% jusqu'à 7%, mais dès la concentration 8%, une inhibition de la germination a été mis en évidence jusqu'à la concentration 10%.

Dans la littérature, nous n'avons trouvé aucune étude qui a investiguée l'effet de DMSO sur cette espèce de genre *Aspergillus* à l'exception de Park *al.* (1994), qui ont décrit dans son étude que le DMSO n'a presque aucun effet sur *Aspergillus niger* à la concentration de 0.25 % et commence à avoir un effet inhibiteur de la germination des spores à la concentration de 0.5 %. En général, les résultats de ces auteurs sont très proches de les nôtres.

En générale, Carley et *al.* (1967), ont démontré que le DMSO inhibe probablement la pigmentation par l'inhibition d'un ou plusieurs systèmes enzymatiques. Ces auteurs ont prouvé que l'augmentation d'inhibition est proportionnelle avec l'augmentation des concentrations de

DMSO. Ils ont trouvé aussi que la taille de la tête conidiennes était réduite d'environ 25% avec 10 000 ppm.

Dans cette partie, les concentrations qui ont été testées sur *Aspergillus niger* nous ont permis de déterminer la valeur de la concentration minimale inhibitrice de 8%. Par contre, dans cette étude, nous n'avons pas pu déterminer la valeur de la concentration minimale fongicide à 100%. Autrement dit, il paraît que le DMSO est fongistatique à partir de la concentration 8% jusqu'à 10% mais non fongicide à ces concentrations de ce solvant.

Concernant l'effet de DMSO sur cette même espèce fongique, au contraire l'effet de Tween 80 est apparait faible sur la germination des spores d'*Aspergillus niger* par rapport le DMSO. Macroscopiquement, il est très clair que la taille des disques mycéliens est disproportionnelle avec les concentrations de Tween 80 qui ont été testées dans la présente étude. De plus, l'examen microscopique, nous a permis d'observer que le nombre de spores germées est en constante diminution à partir de la concentration 1% jusqu'à la concentration 10%. Cela signifie probablement que ce solvant a un effet inhibiteur mineur de la germination des spores d'*Aspergillus niger*. En effet, Ahmed et al. (2011), ont révélés que la sécrétion d'une protéase est fortement influencée par le changement de la concentration de Tween 80. En outre, la concentration la plus élevée dans l'étude de ces auteurs, plus de 4% de Tween 80 affecte la production d'enzyme d'*Aspergillus niger*. Dans une autre étude d'El-Batal (2001) où il a montré que l'effet du Tween 80 sur la production de phytase.

Dans la présente étude, vue que l'effet inhibiteur très faible de Tween 80 sur cette espèce de moisissure, nous n'avons pas pu enregistrer les valeurs de CMI et de CMF avec les concentrations qui ont été choisies.

Nos résultats sur l'effet de DMSO ont prouvé que ce solvant a inhibé totalement la germination d'*Aspergillus fumigatus* à partir de la concentration de 7%. Donc à partir de cette concentration, aucune forme de croissance n'a été détectée. En parallèle, nos concentrations de DMSO qui ont été testées nous ont permis d'enregistrer la valeur de CMI (7%) mais nous n'avons pas pu assurer la détermination de la valeur de CMF avec ces concentrations. Donc il est très évident de ces résultats que le DMSO est fongistatique à 7% et non fongicide à 10%.

Dans la bibliographie, aucune trace ne mentionne l'effet de DMSO sur la germination d'*Aspergillus fumigatus*. En général, Randhawa (2006), dans son étude de l'effet antifongique de DMSO sur des Dermatophytes où il a trouvé que les concentrations de 1.25% à 10% de DMSO ont affectées la croissance des Dermatophytes. Il a aussi enregistré qu'à partir de la

concentration 10% de DMSO, il n'y a pas de croissance dans toutes les espèces testées dans cette étude de Dermatophytes.

Pour l'effet de Tween 80 sur *Aspergillus fumigatus*, presque les résultats qui ont été enregistré sur l'effet de ce solvant sur *Aspergillus niger* ont été aussi enregistrés pour *Aspergillus fumigatus*. De même, aucune investigation sur l'effet de ce solvant contre cette moisissure n'a été trouvée à la recherche bibliographique.

Au regard de tous les résultats qui ont été enregistrées au cours de cette étude, nous pouvons dire que le DMSO et le Tween 80 ont un double effet sur les champignons : fonctionnel qui réside dans l'effet de ces solvants sur le métabolisme des champignons (El-Batal (2001), ou structurel où il agit sur la forme des champignons eux-mêmes pour de nombreuses raisons, par exemple l'activité lypolytique (Malcolm. 2000).

Certes, l'effet de ces solvants n'est pas limité à l'effet antifongique seulement, mais a dépassé celui d'être utilisé comme traitement antiviral contre le SARS-COV2 et d'autres infections virales (Hoang *al.*, 2020) et même comme antibactérien (Kirkwood et *al.*, 2018).

En effet, l'addition de 0,1% (v/v) de Tween 80 affecte la croissance planctonique de *S. aureus*, *L. monocytogenes*, et *P. fluorescens* de manière très différente (Nielsen et *al.*, 2016). Dans une autre étude, le DMSO a inhibé 16/17 (94,1%) isolats de *M. abscesses* (Kirkwood et *al.*, 2018).

Enfin, le Tween 80 à causer une mortalité de 4.9% des larves de *Boophilus microplus* par contre le DMSO ne pose pas ce problème (Gonçalves et *al.*, 2007).

IV. Conclusion

Ce mémoire avait pour ambition d'étudier l'effet antifongique du Tween80 et DMSO qui sont des solvants très utilisés largement dans plusieurs domaines, surtout la recherche scientifique.

Ces deux solvants ont été testés sur trois espèces fongiques les plus couramment testées par les chercheurs de la communauté scientifique (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger*).

Donc notre objectif principal est de trouver une orientation appropriée à propos des concentrations de ces deux solvants qui n'affectent et n'influent pas les applications de ces deux solvants dans les expériences des bios tests afin de recommander des concentrations exactes ainsi de savoir leurs effets sur la croissance fongique.

Les résultats enregistrés au cours de cette étude, montrent que le DMSO et le Tween 80, inhibent la germination même avec la concentration la plus faible (1%), surtout avec le DMSO. Donc il paraît utile d'utiliser dans les bios tests un contrôle négatif pour corriger statistiquement l'effet de ces solvants eux-mêmes sur les micromycètes testés et pour ne pas prêter à confusion de lier le pouvoir antifongique d'une bio substance à tester. De plus, sur la base de nos résultats, ces deux solvants ne sont pas des fongostatiques à 100% de *Candida albicans*, ni fongicide à 100% même avec la dose 10%.

L'étude de l'effet de DMSO sur les deux espèces de genre *Aspergillus*, nous a permis de prouver qu'il a une relation disproportionnée entre la germination des spores d'*Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* et l'augmentation dans les concentrations de ce solvant. De plus, Le DMSO est fongostatique à la concentration de 8% et de 7% respectivement pour *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus*, mais n'est pas fongicide même avec la dose de 10%.

Contrairement de l'effet de DMSO sur ces deux espèces de moisissures, le Tween 80 est apparemment moins inhibiteur pour *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* même avec la concentration de 10% de ce solvant.

En général, à la lumière de nos résultats sur les effets de ces solvants sur trois espèces fongiques redoutables, nous pouvons recommander le Tween 80 comme solvant dans les bios essais que d'utiliser le DMSO.

Ce sujet nécessite d'autres recherches pour confirmer et comprendre davantage les résultats que nous avons trouvés comme les spores germinales que nous n'avons pas trouvées et confirmer nos résultats. Et nous proposons aux chercheurs d'améliorer la recherche en testant d'autres solvants et testés sur d'autres espèces fongiques et d'élargir la gamme aux bactéries et aux tics.

Références Bibliographiques

Référence

- [1] Hibbett, David, Kessy Abarenkov, Urmas Kõljalg, Maarja Öpik, Benli Chai, James Cole, Qiong Wang, et al. 2016. « Sequence-Based Classification and Identification of Fungi », 21.
- [2] - Raghukumar, S. (2017). Fungi: Characteristics and Classification. Fungi in Coastal and Oceanic Marine Ecosystems, 1–15. Doi:10.1007/978-3-319-54304-8.
- [3] - Dufresne, Philippe. s. d. « Identification des champignons d'importance médicale », 64.
- [4] -Kim, Joon, et Peter Sudbery. 2011. « Candida Albicans, à Major Human Fungal Pathogène. The Journal of Microbiology 49 (2) : 171-77. <https://doi.org/10.1007/s12275-011-1064-7> .
- [5] - Nobile, Clarissa J., et Alexander D. Johnson. 2015. « Candida Albicans Biofilms and Human Disease ». Annual Review of Microbiology 69 (1): 71-92. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104330>.
- [6] - Latgé, J.-P. (1999). Aspergillus fumigatus and Aspergillosis. Clinical Microbiology Reviews, 12(2), 310–350. doi:10.1128/cmr.12.2.310
- [7]Dagenais, Taylor R. T., et Nancy P. Keller. 2009. « Pathogenesis of Aspergillus Fumigatus in Invasive Aspergillosis ». Clinical Microbiology Reviews 22 (3): 447-65. <https://doi.org/10.1128/CMR.00055-08>.
- [8] -Hoshino, Hideaki, Shigeru Tagaki, Hayato Kon, Takashi Shibusa, Hirotsugu Takabatake, Akihisa Fujita, Kyuichiroh Sekine, et Shosaku Abe. 1999. « Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis Due to Aspergillus Niger without Bronchial Asthma ». Respiration 66 (4) : 369-72. <https://doi.org/10.1159/000029392>)
- [9] - (Dr. A. Gautherot. 2012. « Diagnostic et traitement de l'aspergillose naso-sinusale canine ».
- [10] - Lanette. S, « Aspergillus niger — Bugwoodwiki ». s. d. 16 décembre 2014 à 15:52. https://wiki.bugwood.org/Aspergillus_niger#Acknowledgements.
- [11]- Whaley, Sarah G., Elizabeth L. Berkow, Jeffrey M. Rybak, Andrew T. Nishimoto, Katherine S. Barker, et P. David Rogers. 2017. « Azole Antifungal Resistance in Candida

- Albicans and Emerging Non-Albicans Candida Species ». *Frontiers in Microbiology* 7 (janvier). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02173>.)
- [12]-Lelièvre, L., M. Groh, C. Angebault, A.-C. Maherault, E. Didier, et M.-E. Bournoux. 2013. « Azole Resistant *Aspergillus Fumigatus*: An Emerging Problem ».
- [13]- Howard, Susan Julie, et Maiken Cavling Arendrup. 2011. « Acquired Antifungal Drug Resistance in *Aspergillus Fumigatus*: Epidemiology and Detection ». *Medical Mycology* 49 (S1): S90-95. <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.508469>).
- [14]-Janzon, R., et al. (2014) « Solvents ».dans *biologie.uni-hamburg*. URL http://www1.biologie.uni-hamburg.de/bonline/library/newton/Chy251_253/Lectures/Solvents/Solvents.html?fbclid=IwAR02hP_ECdzM1oQ_IhYCGpCEhbcZBrZSa9iLGD6UAV95FensCC1w5nAmN8.
- [15] - Bhatt, Rachana, K. C. Patel, et Ujjval Trivedi. 2010. « Purification and Properties of Extracellular Poly(3-Hydroxybutyrate) Depolymerase Produced by *Aspergillus Fumigatus* 202 ». *Journal of Polymers and the Environment* 18 (2): 141-47. <https://doi.org/10.1007/s10924-010-0176-1>.
- [16] - Inouye, Shigeharu, Tsutomu Tsuruoka, Katsuhisa Uchida, et Hideyo Yamaguchi. 2001. « Effect of Sealing and Tween 80 on the Antifungal Susceptibility Testing of Essential Oils ». *Microbiology and Immunology* 45 (3): 201-8. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2001.tb02608.x>.
- [17]-LeBel, R. G., et D. A. I. Goring. 1962. « Density, Viscosity, Refractive Index, and Hygroscopicity of Mixtures of Water and Dimethyl Sulfoxide. » *Journal of Chemical & Engineering Data* 7 (1) : 100-101. <https://doi.org/10.1021/je60012a032>
- [18]- « What's the Difference between Tween 20 and Tween 80? | G-Biosciences ». s. d. Consulté Jan 14, 2020 2: 30: 00 PM URL https://info.gbiosciences.com/blog/whats-the-difference-between-tween-20-and-tween80?fbclid=IwAR1ntD_2NzeJkJbQe0nZ0W7L8NZ4wORxu3GgCnQ-bScEPXKUSE_z3l8m9js
- [19] - Blaize, Jonathan, William J. L'Amoreaux, Maureen Downey, et Elena C. McCoy. 2009. « Dibutylphthalate and Tween 80 Alter Ultrastructure in *Candida Albicans* : Implications for

- Peroxisome Proliferation ». *Canadian Journal of Microbiology* 55 (4): 437-49. <https://doi.org/10.1139/W08-153>.
- [20] - Akram Randhawa, Muhammad. 2008. « Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Inhibits the Germination of *Candida Albicans* and the Arthrospores of *Trichophyton Mentagrophytes* ». *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 49 (2): 125-28. <https://doi.org/10.3314/jjmm.49.125>.
- [21] - Liu, Zhi-Feng, Guang-Ming Zeng, Jing Wang, Hua Zhong, Ying Ding, et Xing-Zhong Yuan. 2010. « Effects of Monorhamnolipid and Tween 80 on the Degradation of Phenol by *Candida Tropicalis* ». *Process Biochemistry* 45 (5): 805-9. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.01.014>.
- [22] - Hazen, Kevin C. 2013. « Influence of DMSO on Antifungal Activity during Susceptibility Testing in Vitro ». *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 75 (1): 60-63. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.09.002>.
- [23] - Park, J.-C., Y. Nemoto, T. Homma, R. Sato, H. Matsuoka, H. Ohno, K. Takatori, et H. Kurata. 1994. « Adaptation of *Aspergillus Niger* to Several Antifungal Agents ». *Microbiology* 140 (9): 2409-14. <https://doi.org/10.1099/13500872-140-9-2409>.
- [24] -Carley, H. E., R. D. Watson, et D. M. Huber. 1967. « INHIBITION OF PIGMENTATION IN *ASPERGILLUS NIGER* BY DIMETHYLSULFOXIDE ». *Canadian Journal of Botany* 45 (8): 1451-53. <https://doi.org/10.1139/b67-147>.
- [25]- Ahmed, Ishtiaq, Muhammad Anjum Zia, Tehreema Iftikhar, Hafiz Muhammad, et Nasir Iqbal. 2011. « CHARACTERIZATION AND DETERGENT COMPATIBILITY OF PURIFIED PROTEASE PRODUCED FROM *Aspergillus Niger* BY UTILIZING AGRO WASTES », 18.
- [26]-El-Batal, A.I, et H Abdel Karem. 2001. « Phytase Production and Phytic Acid Reduction in Rapeseed Meal by *Aspergillus Niger* during Solid State Fermentation ». *Food Research International* 34 (8): 715-20. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00093-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00093-X).
- [27]-Randhawa, Muhammad Akram. 2006. « The Effect of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) on the Growth of Dermatophytes ». *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 47 (4): 313-18. <https://doi.org/10.3314/jjmm.47.313>.
- [28]- Slifkin, Malcolm. 2000. « Tween 80 Opacity Test Responses of Various *Candida* Species ». *Journal of Clinical Microbiology* 38 (12): 4626-28. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.12.4626-4628.2000>

- [29]- Hoang, Ba X., Huy Q. Hoang, et Bo Han. 2020. « Zinc Iodide in Combination with Dimethyl Sulfoxide for Treatment of SARS-CoV-2 and Other Viral Infections ». *Medical Hypotheses* 143 (octobre): 109866. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109866>.
- [30]- Kirkwood, ZaraI, BeverleyCherie Millar, DamianG Downey, et JohnE Moore. 2018. « Antimicrobial Effect of Dimethyl Sulfoxide and N, N-Dimethylformamide on Mycobacterium Abscessus: Implications for Antimicrobial Susceptibility Testing ». *International Journal of Mycobacteriology* 7 (2): 134. https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_35_18.
- [31]- Gonçalves, Karla, Eduardo Toigo, Bruna Ascoli, Gilsane von Poser, et Vera Lucia Sardá Ribeiro. 2007. « Effects of Solvents and Surfactant Agents on the Female and Larvae of Cattle Tick *Boophilus Microplus* ». *Parasitology Research* 100 (6): 1267-70. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0418-2>.
- [32] - Nielsen, Christina K., Jørgen Kjems, Tina Mygind, Torben Snabe, et Rikke L. Meyer. 2016. « Effects of Tween 80 on Growth and Biofilm Formation in Laboratory Media ». *Frontiers in Microbiology* 7 (novembre). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01878>.
- [33] « M27-A2 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—Second Edition ». s. d., 51.

ANNEXES

Annexes

1. Les étapes de préparation de la gélose sabouraud



Annexe 1 : Poudre gélose sabouraud chloramphénicol déshydraté



Annexe 2 : Milieu de culture préparé sabouraud

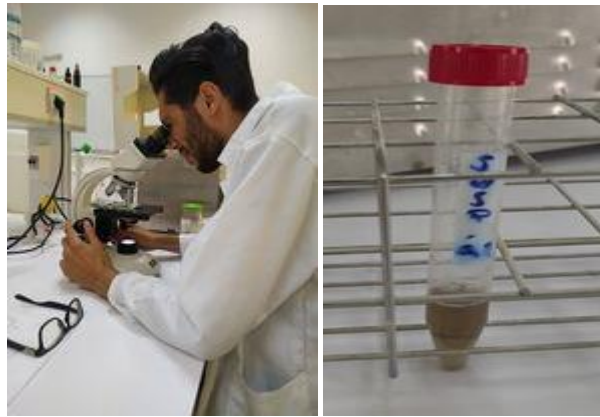


Annexe 03 : pH de milieu de culture préparé

2 .les étapes de dilutions

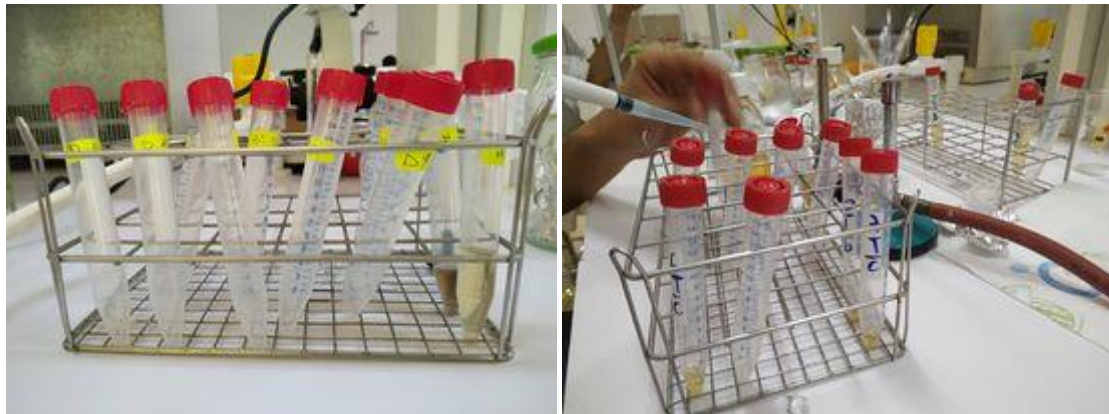


Annexe 4 : Préparation des flacons de sabouraud dextrose avec la gentamicine 0.1g/l



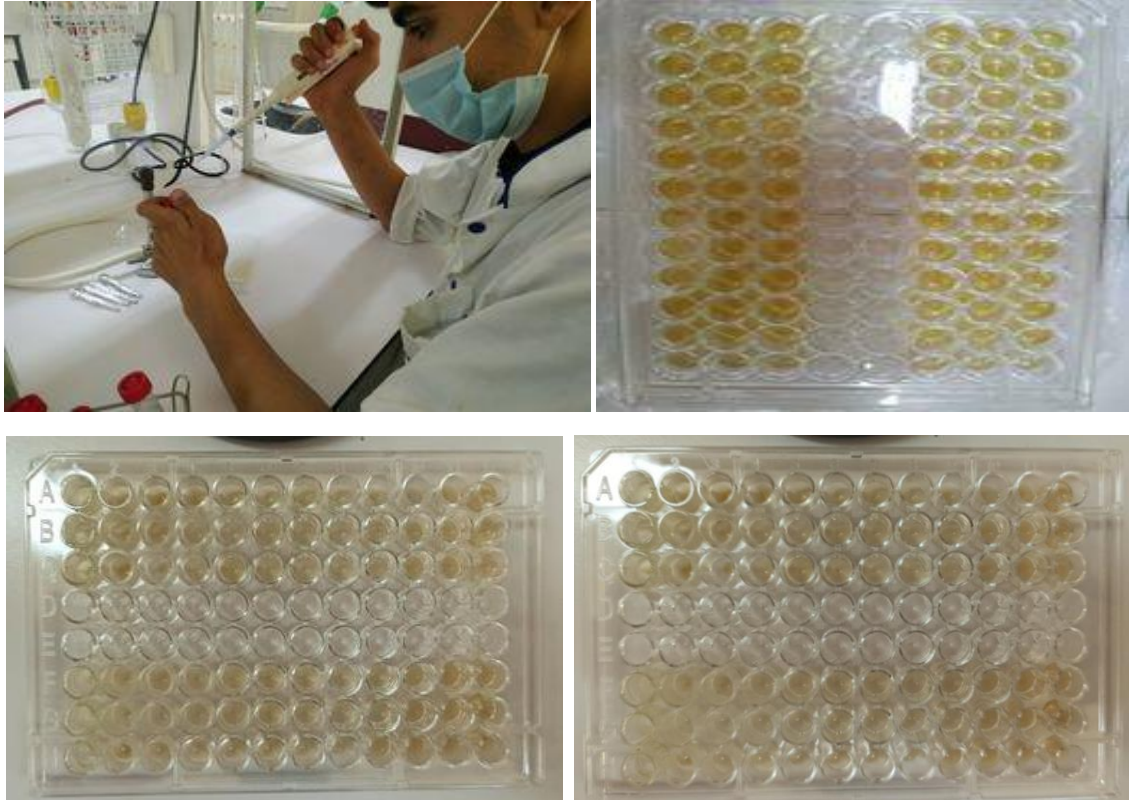
Annexe 5 : Préparation de la suspension sporale (la solution mère)

Avec le dénombrement des spores sur la cellule Malassez sous le microscope



Annexe 6 : Préparation des dilutions des solvants dans des tubes stériles

Par la solution mère et le DMSO et tween80 avec différents concentrations



Annexe 7 : Microdilution en bouillon de sabouraud gentamycine 0.1g/l

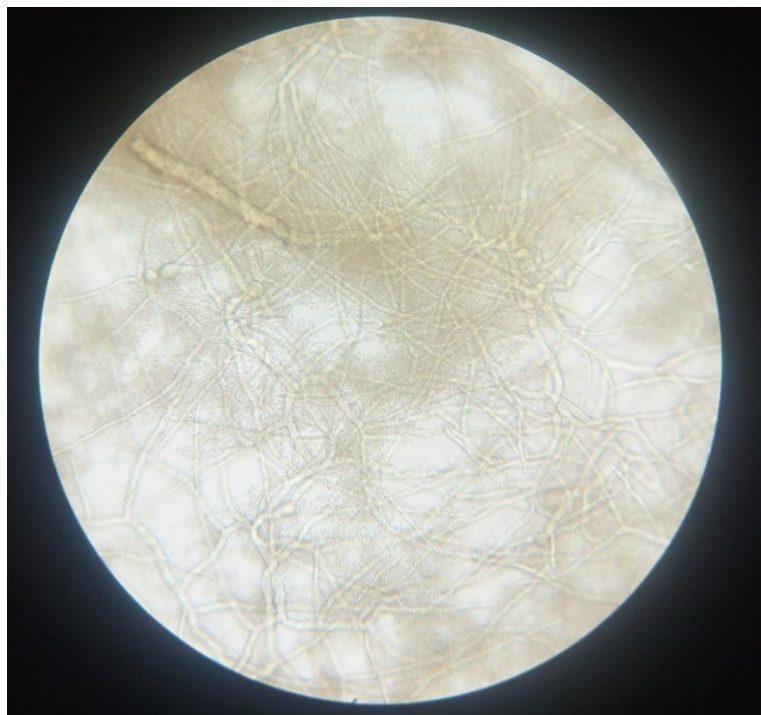
Les étapes du dénombrement des spores germé et non germé



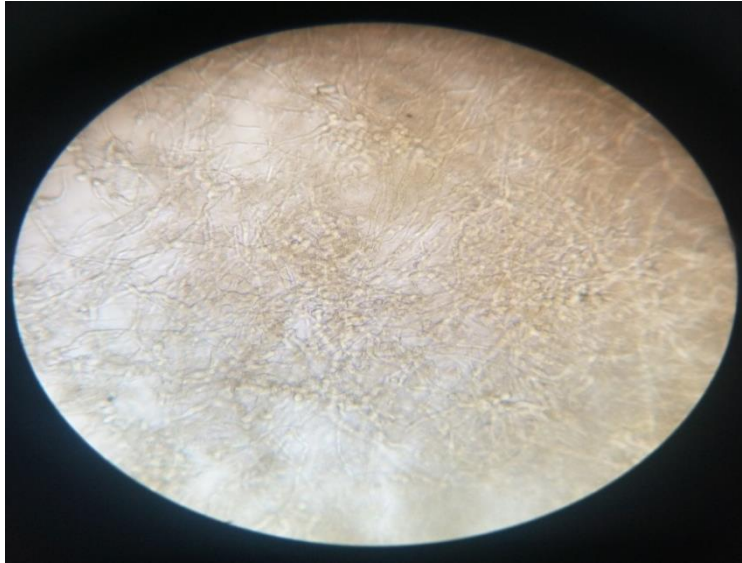
Annexe 8 : Examinasson de les lames préparé a différents concentration à partir la microplaque



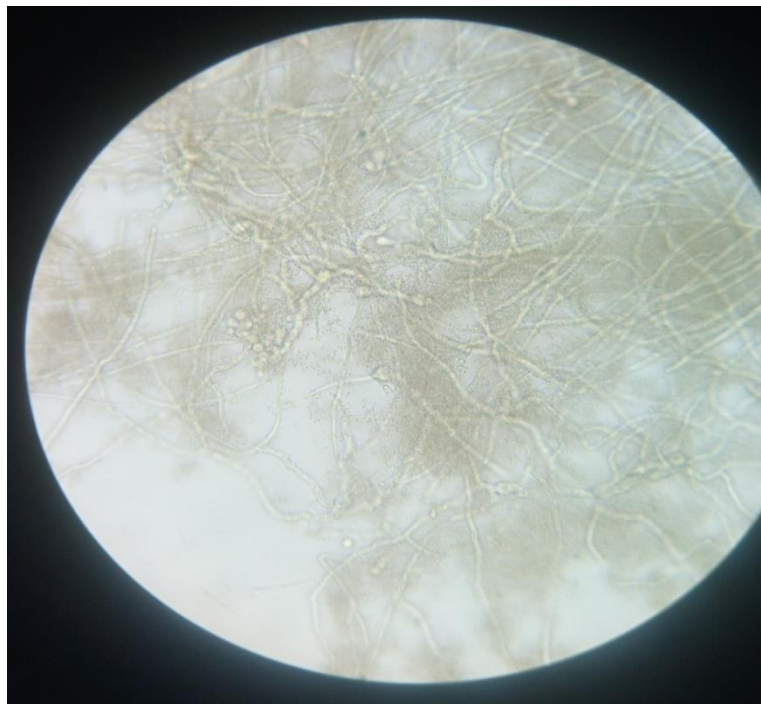
Annexe 9 : *Aspergillus niger* avec le tween80 à une concentration 6 % sous le microscope



Annexe 10 : *Aspergillus niger* avec le DMSO à une concentration 6% sous le microscope



Annexe 11 : *Aspergillus fumigatus* avec le tween80 à la concentration 4 % sous le microscope



Annexe 12 : *Aspergillus fumigatus* avec le DMSO à la concentration 0.4% sous le microscope



Annexe 13 : *Candida albicans* avec le Tween80 à une concentration 4% sous le microscope



Annexe 14 : *Candida albicans* avec le DMSO à la concentration 4% sous le microscope

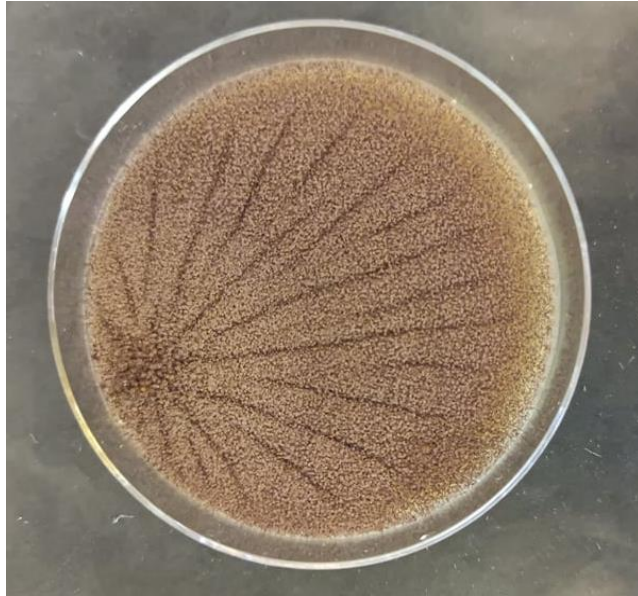
04. Les résultats des tests CMI. CMF :



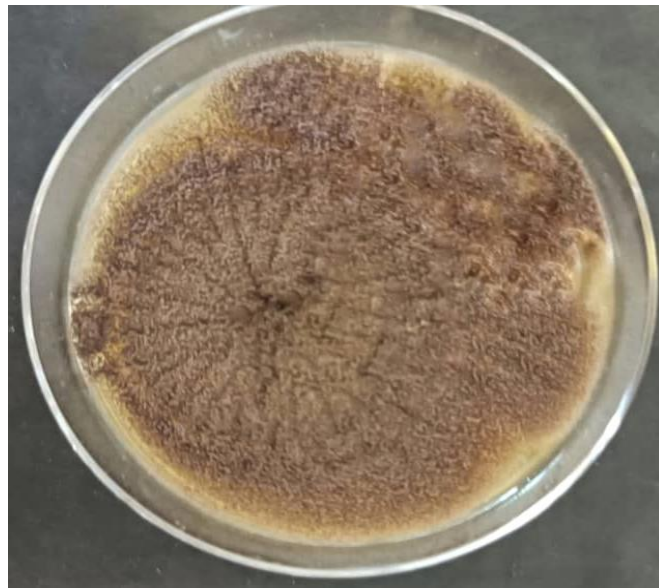
Annexe 15 : *Aspergillus niger* a 7% en DMSO



Annexe 16 : *Aspergillus niger* a 8% en DMSO



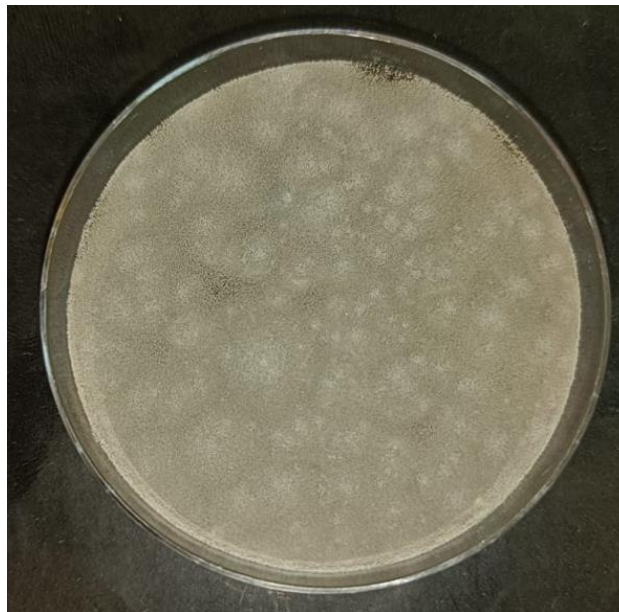
Annexe 17 : *Aspergillus niger* à 9% en DMSO



Annexe 18 : *Aspergillus niger* à 10% en DMSO



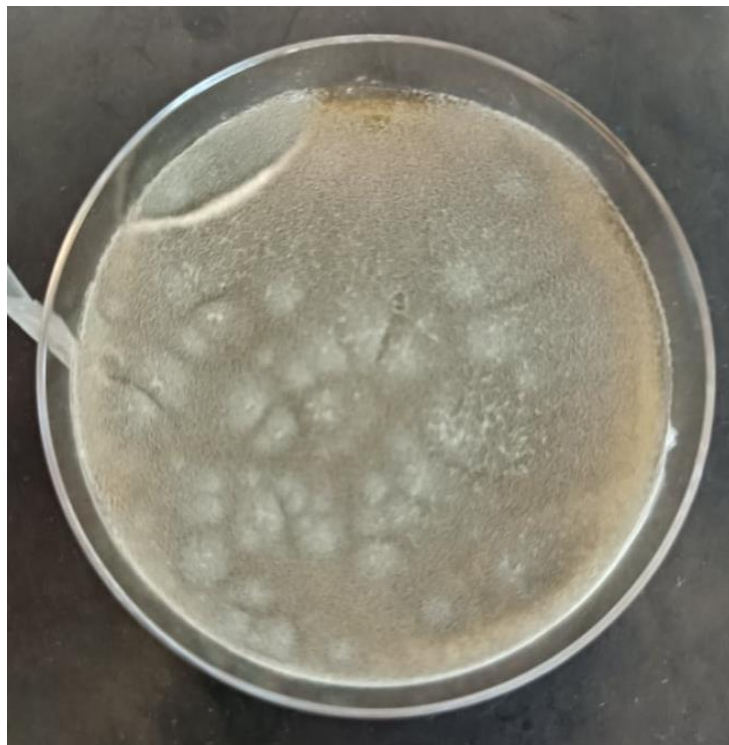
Annexe 19 : *Aspergillus fumigatus* à 7% en DMSO



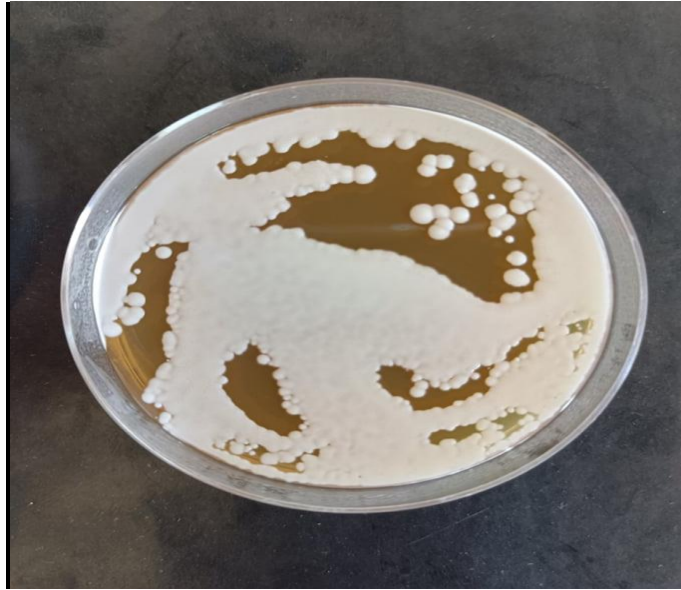
Annexe 20 : *Aspergillus fumigatus* à 8% en DMSO



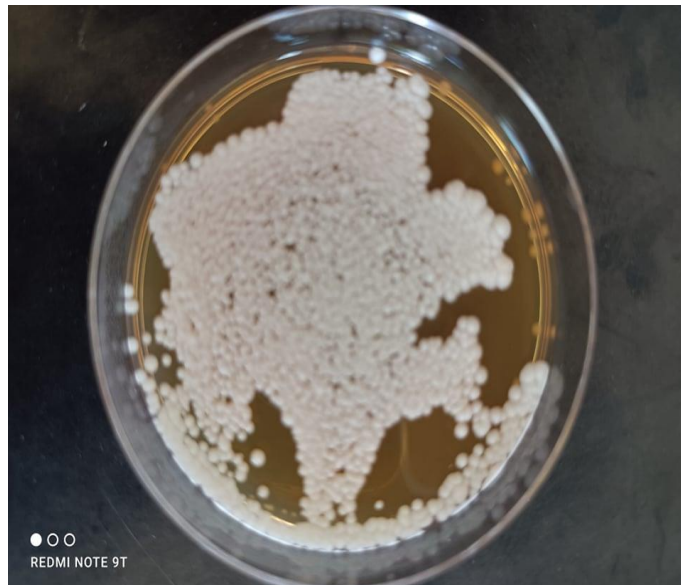
Annexe 21 : *Aspergillus fumigatus* à 9% en DMSO



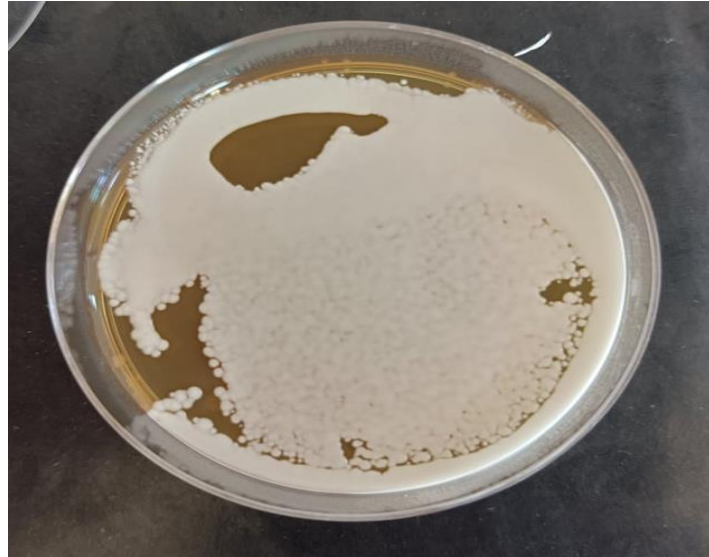
Annexe 22 : *Aspergillus fumigatus* à 10% en DMSO



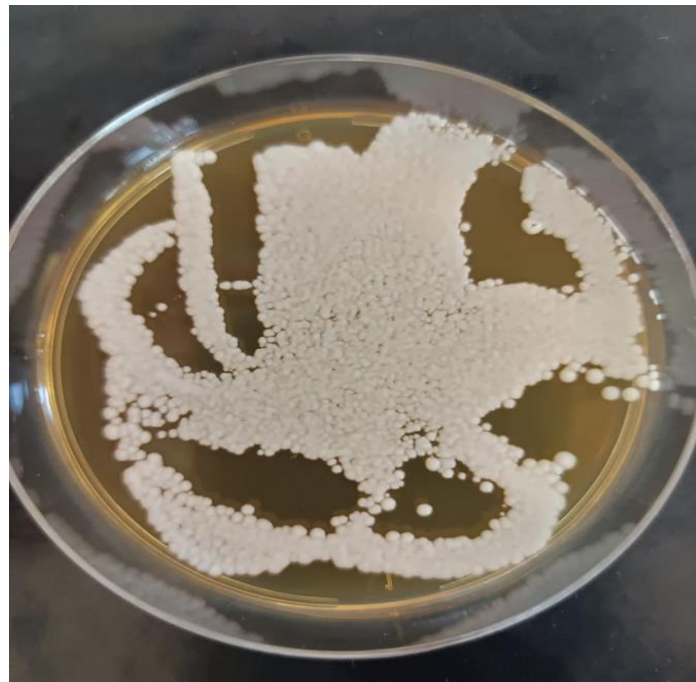
Annexe 23 : *Candida albicans* à 6% en DMSO



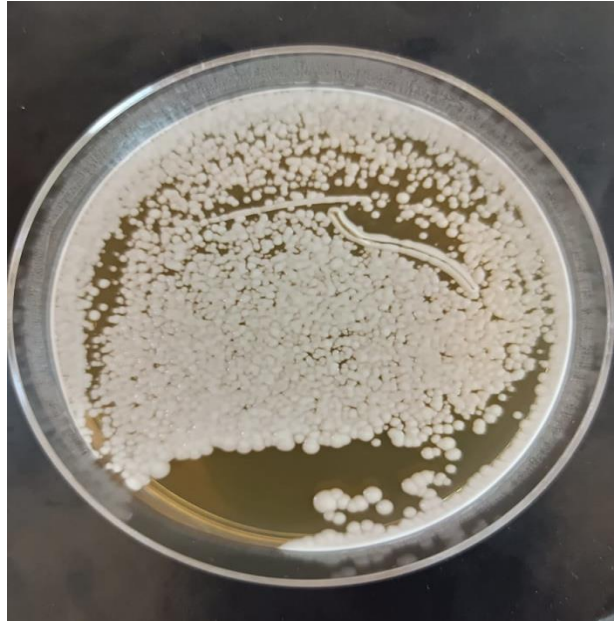
Annexe 24 : *Candida albicans* à 7% en DMSO



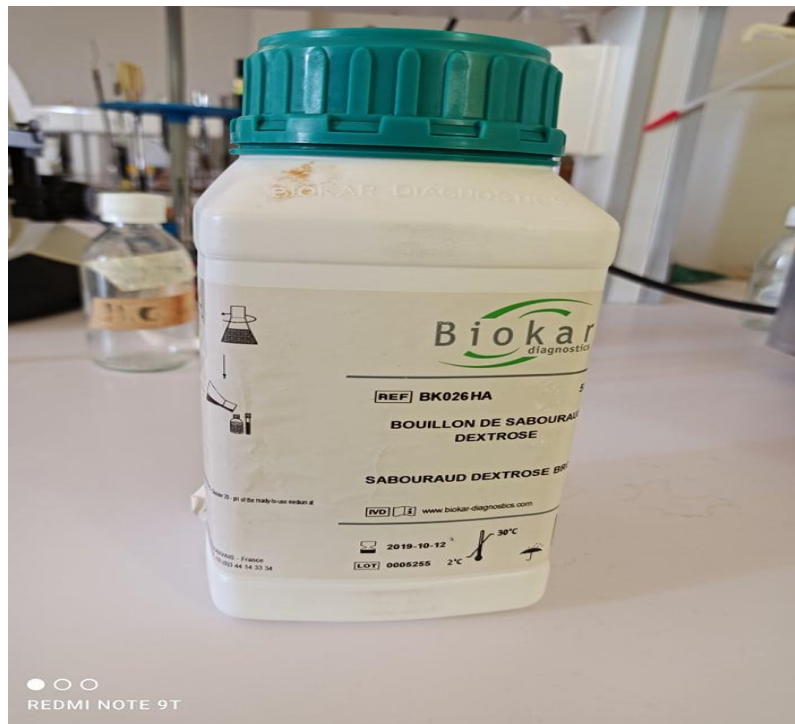
Annexe 25 : *Candida albicans* à 8% en DMSO



Annexe 26 : *Candida albicans* à 9% en DMSO



Annexe 27 : *Candida albicans* à 10% en DMSO



Annexe 28 : Flacon de bouillon de sabouraud dextrose

ملخص

ركزت دراستنا على تقييم الخواص المضادة للفطريات لمذيبين DMSO و Tween 80 ضد ثلاثة أنواع من الفطريات الخميرة و الخيطي *Candida albicans* و *Aspergillus niger* و *Aspergillus fumigatus* في العمل الحالي ، اخترنا بروتوكولاً تجريبياً لتقنية M27-A و M38-A للتشكيل الدقيق في مرق Sabouraud Gentamycin (0.1 جم / لتر) والذي أوصى به معهد المعايير السريرية والمختبرية. أظهرت النتائج التي تم تسجيلها على تأثير DMSO على *Candida albicans* و *Aspergillus niger* و *Aspergillus fumigatus* أن تبرعم الابواغ الفطرية متناسب عكسياً مع زيادة تركيز هذا المذيب. علاوة على ذلك ، حتى عند أقل تركيز (1٪) ، فإن هذين المذيبين يثبطان نمو الفطريات مقارنة بالتحكم السلبي. في نتائج MIC و CMF لهذا المذيب ، يمكننا تسجيل قيم MIC ، وهذا فقط لنوعين من الرشاشيات بنسبة 8٪ و 7٪ على التوالي لـ *Aspergillus niger* و *Aspergillus fumigatus*. نتائج تأثير Tween 80 على الأنواع الفطرية الثلاثة التي تم اختبارها في هذه الدراسة، سمحت لنا بتسجيل نفس التأثيرات تقريباً التي تم تسجيلها باستخدام DMSO ، باستثناء أن التأثير المثبط لهذا المذيب أقل مقارنة بـ DMSO. علاوة على ذلك، لم يتم تسجيل قيم MIC و FMC مع هذا المذيب على *Candida albicans* و *Aspergillus niger* و *Aspergillus fumigatus* بشكل عام ، يبدو أن Tween 80 سيكون من الأفضل استخدامه في الاختبارات الحيوية للمواد النشطة بيولوجياً التي تختبر هذه الأنواع الفطرية الثلاثة بدل DMSO.

الكلمات المفتاحية: توين 80 - DMSO - التخفيف الدقيق - المبيضات - الرشاشيات - المذيبات.

Abstract

Our study was focused on the evaluation of the anti-fungal properties of two solvents, DMSO and Tween 80 against three levuriform and filamentous fungal species: *Candida albicans*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus*. In the present work, we opted for an experimental protocol the M27-A and M38-A technique of microdilution in Sabouraud Gentamycin broth (0.1g/l) which was recommended by Clinical And Laboratory Standards Institute. The results that were recorded on the effect of DMSO on *Candida albicans*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus* showed that the germination of fungal spores is disproportional with the increase in the concentrations of this solvent. Moreover, even at the lowest concentration (1%), these two solvents are inhibitory to fungal growth compared to the negative control. In the results of MIC and CMF of this solvent, we can record that the values of MIC, and this only for the two species of molds with 8% and 7% respectively for *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus*. The results of the effect of Tween 80 on the three fungal species tested in this study, allowed us to record almost the same effects that were recorded with DMSO, except, that the inhibitory effect of this solvent is less compared to DMSO. Moreover, no MIC and FMC values were recorded with this solvent on *Candida albicans*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus*. In general, it seems that Tween 80 would be better to use in bioassays of bioactive substances testing these three fungal species than DMSO.

Key words: Tween 80 - DMSO - Microdilution - *Candida* - *Aspergillus* - Solvent.

Résumé

Notre étude a été portée à l'évaluation des propriétés anti fongiques des deux solvants, le DMSO et le Tween 80 contre trois espèces fongiques levuriforme et filamenteuse : *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus*. Dans le présent travail, nous avons opté pour un protocole expérimental la technique M27-A et M38-A de microdilution dans un bouillon de Sabouraud Gentamycine (0.1g/l) qui a été recommandé par Clinical And Laboratory Standards Institute. Les résultats qui ont été enregistré sur l'effet de DMSO sur *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* ont montrés que la germination des spores fongiques est disproportionnelle avec l'augmentation dans les concentrations de ce solvant. De plus, même à la concentration la plus faible (1%), ces deux solvants sont inhibiteurs de la croissance fongique par rapport au contrôle négatif. Dans les résultats de CMI et de CMF de ce solvant, nous pouvons enregistrer que les valeurs de CMI, et cela uniquement pour les deux espèces de moisissures avec 8% et 7% respectivement pour *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus*. Les résultats de l'effet de Tween 80 sur les trois espèces fongiques testées au cours de cette étude, nous ont permis d'enregistrer presque les mêmes effets qui ont été enregistré avec le DMSO, excepté, que l'effet inhibiteur de ce solvant est moindre par rapport au DMSO. De plus, aucune valeur de CMI et de CMF n'a été enregistrés avec ce solvant sur *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus*. En général, il paraît que le Tween 80 serait 'il mieux l'utiliser dans les bio essais des substances bioactives testant ces trois espèces de champignons que le DMSO.

Mots clés: Tween 80 – DMSO – Microdilution – *Candida* – *Aspergillus* – Solvant.