



Disponible en ligne sur
SciVerse ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



ARTICLE ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

Isolement bio-dirigé d'un antifongique à partir de *Haliclona enamela* récoltée du port de Jorf Lasfar, Maroc

Bio-guided isolation of an antifungal from Haliclona enamela collected from Jorf Lasfar port, Morocco

M. El-Wahidi^a, B. El-Amraoui^{a,*}, A. Fassouane^{a,b}, T. Bamhaoud^a

^a Faculté des sciences, université Chouaib Doukkali, 24040 El Jadida, Maroc

^b École nationale de commerce et de gestion, El Jadida, Maroc

Reçu le 10 décembre 2012 ; reçu sous la forme révisée le 14 mars 2013; accepté le 9 avril 2013

Disponible sur Internet le 29 mai 2013

MOTS CLÉS

Antifongique ;
Candida albicans ;
Candida tropicalis ;
Haliclona enamela ;
Cryptococcus
neoformans

KEYWORDS

Antifungal;
Candida albicans;
Candida tropicalis;
Haliclona enamela;
Cryptococcus
neoformans

Résumé Dans le cadre de la recherche des nouveaux métabolites secondaires à activité biologique à partir des invertébrés marins, nous avons isolé de manière bio-dirigée un antifongique à partir de *Haliclona enamela* récoltée du Port de Jorf Lasfar d'El Jadida. Cet antifongique présente une forte activité sur trois levures (deux *Candida* sp. et une *Cryptococcus* sp.) impliquées dans la mycologie humaine et spécialement sur une souche de *Candida tropicalis* résistante à la nystatine et à l'amphotéricine B.

© 2013 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary In the context of our search for new biologically active secondary metabolites from marine invertebrates, we have isolated an antifungal from *Haliclona enamela* collected from Jorf Lasfar Port, El Jadida, Morocco. This has a strong antifungal activity against three yeasts (two *Candida* spp. and one *Cryptococcus* spp.) involved in human mycology and especially against *Candida tropicalis* resistant to nystatin and amphotericin B.

© 2013 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

* Auteur correspondant.

Adresses e-mail: elamraouibelkassem@yahoo.fr, k.amraoui@hotmail.fr (B. El-Amraoui).

Introduction

La pharmacopée utilisée est encore basée, à plus de 80 % sur des molécules extraites à partir des plantes médicinales. L'engouement pour la recherche des produits naturels d'origine marine n'a commencé que vers le début des années 1970, puisque entre 1950 (la première découverte d'un composé biologiquement actif à partir d'une éponge [4]) et 1972 seulement 210 composés ont été isolés, alors qu'entre 1972 jusqu'au début des années 1990 près des 4000 composés étaient isolés et leurs structures élucidées. La difficulté de l'accessibilité des océans par l'homme et la complexité de constitution chimique des organismes marins est à l'origine de ce retard. Cet handicap a été levé grâce à la plongée sous-marine autonome et aux progrès technologiques réalisés dans le domaine des appareils d'analyses physico-chimiques (chromatographie liquide à haute performance, résonance magnétique nucléaire, spectroscopie de masse et couplage chromatographie-spectrométrie de masse). Durant les dernières décennies, la chimie des substances naturelles d'origine marine a connu un développement remarquable, avec plus de 15 000 produits originaux [5]. Les spongiaires marins ont fait l'objet de plusieurs travaux et sont à l'origine de plusieurs molécules originales à intérêt biologique très important. Toutes ces molécules présentent une activité soit antimicrobienne [16,24], antifongique [6,25], antivirale [22], cytotoxique ou anti-inflammatoire [16,22].

Les côtes marocaines (océan Atlantique et Méditerranée) s'étendent sur 3500 km et sont influencées par les eaux tempérées d'où leur richesse et diversité en faune et flore marines. Pourtant, à l'exclusion des algues et quelques espèces animales faciles à récolter, les organismes des profondeurs restent encore inexploités dans le domaine de la recherche de substances d'intérêt biologique et donc, peuvent constituer une nouvelle et inépuisable source de biomolécules. Les travaux de recherche sur les spongiaires récoltés du littoral du Maroc sont très limités [7–9,19–21].

L'objectif de ce travail est l'isolement bio-guidé de métabolite antifongique élaboré par l'éponge marine *Haplosclerida* sp. récoltée du port de Jorf Lasfar d'El Jadida (Maroc) et de comparer ses activités avec celles de la nystatine.

Matériels et méthodes

Après la variation saisonnière et géographique démontrée chez les éponges *Cliona viridis* et *Cynachirella tarentine* [9], nous avons procédé à un nouveau test d'activité antifongique des extraits d'un nouveau échantillon de l'éponge *Haplosclerida* sp3 (EM3) étudiée par El Amraoui et al. [7,8].

Matériel biologique

L'éponge marine a été récoltée (juin 2011) au-dessous des blocs de brise-vagues du port de Jorf Lasfar (N33.127632, W8.638515) à une profondeur de 3 à 5 m [7]. L'éponge a été lavée à l'eau de mer et transportée dans une glacière au laboratoire pour être bien lavée à l'eau distillée et stockée à -4°C avant l'extraction.

Étude *in vitro* de l'activité antifongique

L'activité antifongique des extraits de l'éponge marine a été évaluée *in vitro* par la méthode de diffusion en milieu solide à partir des disques de cellulose contre trois levures de référence provenant de la collection de l'Institut Pasteur de Paris et de l'American Type Culture Collection (*Candida albicans* CIP884.65, *Cryptococcus neoformans* ATCC 11576 et *Candida tropicalis* R2 CIP1275.81 ; souche résistante à l'amphotéricine B et à la nystatine) [7].

Préparation des inocula de levures

L'inoculum a été préparé à partir de colonies de levures en phase de croissance exponentielle, à partir d'une culture de 24 h, à 28°C , sur milieu de Sabouraud gélosé pour les souches *C. albicans* et *C. neoformans* ou sur milieu gélose yeast malt (GYM) pour la souche de *C. tropicalis* R2. La densité cellulaire de cette suspension a été évaluée par comptage à l'aide d'une cellule de Malassez et elle a été ajustée par dilution dans de l'eau distillée stérile de façon à obtenir une concentration finale de 10^4 UFC/mL [8,14,19].

Techniques de diffusion à partir des disques de cellulose

Des disques de cellulose saturés par 300 μg d'extrait brut ou par 100 μg de produit pur ont été déposés à la surface des boîtes de Pétri pré-coulées avec le milieu *yeast morphological agar* (YMA) préalablement inoculées avec le germe cible. Après deux heures de pré-diffusion à 4°C , les boîtes de Pétri ont été incubées à 28°C pendant 24 h. Des disques de nystatine (100 μg) ont été utilisés comme témoin positif [7,10]. L'activité antifongique a été évaluée par la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition autour des disques de cellulose.

Préparation de l'extrait brut de l'éponge marine

L'éponge marine (30 g) a été découpée en petits morceaux puis extraite une fois par de l'éthanol à 80 % (1×300 mL), puis deux fois par l'éthanol absolu (2×300 mL). Les trois filtrats ont été réunis et évaporés sous vide à l'évaporateur rotatif (40°C) jusqu'à fin de la distillation de l'éthanol (extrait brut 3).

Isolement bio-dirigé de l'antifongique élaboré par *Haliclona enamela*

Les étapes de l'isolement bio-dirigé de l'antifongique élaboré par *Haliclona enamela* sont récapitulées sur la Fig. 1.

Fractionnement de l'extrait brut par partage liquide/liquide

Deux types d'extraits ont été préparés ; l'extrait hydroalcoolique (B) et l'extrait organique (C). L'extrait brut (4,5 g) a été repris dans 100 mL d'eau distillée puis extrait par

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3219993>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3219993>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)