République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tebessi –Tebessa-

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de laVie

Département de Biologie Appliquée

Mémoire De Master

Domaine :Sciences de la Nature et de la Vie

Filiére : Sciences biologiques

Option: Microbiologie appliquée

Intitulé :

Étude de l'activité antifongique de différents extraits d'actinomycètes xérophile

Présenté par :

Mlle.Azzouz Bouthaina **Mlle.Mahfoud Fatma zohra** **Mlle.Nadji Nada**

Devant le jury :

Mme. Benhadj M	Professeur	Université de Tébessa	Promotrice
Mme. Bouguerra N	M.C.B	Université de Tébessa	Examinatrice
Mme. Djermene N	M.C.A	Université de Tébessa	Présidente

Année universitaire :

2025 / 2026

Table des matières **Pages**

ملخص
Abstract
Résumé
Dédicace
Remerciement
Liste d'abréviation
Liste des tableaux
Liste des figures
Introduction générale **01**
Synthése bibliographique
Chapitre Les actinomycètes
I.1. Définition et caractères généraux **03**
I.2. Propriété morphologiques et physiologiques **04**
I.3. Morphologie **04**
I.3.1. Caractères macromorphologique **04**
I.3.2. Caractères micromorphologique **05**
I.4. Physiologie **06**
I.4.1. Niveau d'humidité **06**
I.4.2. Température **06**
I.4.3. Ph **07**
I.4.4. Relations avec l'oxygène **07**
I.4.5. Matière organique **07**
I.5. Classification **07**
I.5.1. Classification phénolique **08**
I.5.2. Classification moléculaire **08**
I.6. Cycle de développement **08**
I.7. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature **09**
I.7.1. Actinomycètes de sol **10**
I.7.2. Actinomycètes dans les sols de rhizosphères de plantes **11**
I.7.3. Actinomycètes du compost et matériel relatif **12**
I.7.4. Actinomycètes de l'air **12**
I.7.5. Actinomycètes aquatiques **13**
I.7.5.1. Actinomycètes des eaux douces **13**
I.7.5.2. Actinomycètes marins **13**
I.8. Métabolisme des actinomycètes **14**
I.8.1. Métabolisme primaire des actinomycètes **14**
I.8.1. Metabolisme secondaire des actinomycetes **14**
I.9. Importance des actinomycètes **15**
I.9.1 Domaine médical et pharmaceutique **15**
Chapitre Ⅱ Les antifongique
II.1. Historique **17**
II.2. Définition **17**
II.3. Classification **18**
II.4. Mode d'action **19**
II.5. Antifongiques produits par les actinomycètes **19**

II.5.1. Cycloheximide **19**
II.5.2. Polyène **19**
II.5.2.1. Nystatine **20**
II.5.2.2. L'amphotèricine **20**
II.5.3. Nikkomycine **20**
Partie experimentale
I. Matériel et méthodes
I.1.Matériel utilisés **22**
I.1.1.Matériels non biologiques **22**
I.1.2.Matériels bilogiques **23**
I.1.2.1.Les extraits d'actinomycétes **23**
I.1.2.2.Les souches indicatrices **24**
I.1.2.3.Les milieux de culture utilisés **24**
I.1.2.4.Les solutions et les solvants utilisés **24**
I.2.Méthodes utilisés **24**
I.2.1.Origines des souches **24**
I.2.2.Repiquage et purification des souche fongiques **24**
I.2.3.Preparation de l'inoculum des levures **25**
I.2.4.Préparation des suspensions des champignons filamenteux **25**
I.2.5.Recherche de l'activité des extraits **25**
I.2.5.1.Méthode des disques **25**
I.2.6.Caractérisation préliminaire des biomolécules **26**
(chromatographie sur couche mince)
II.Résultats et discussion
II.1.Repiquage et vérification de la pureté des souche fongiques **27**
II.2.L'activité antifongique des souches d'actinomycétes **29**
II.2.1.Tests d'activité antifongique **29**
II.2.1..1.L'activité antifongique contre les levures **29**
II.2.1.2.L'activité antifongique contre les champignon **29**
II.3.Caractérisation préliminaire des biomolécules **36**
(chromatographie sur couche mince)
Conclusion générale **39**
Réferences bibliographiques
Annexes

ملخص

سلالة الاكتينوميسات هي بكتيريا خيطية من نوع جرام إيجابي، معروفة بقدرتها على انتاج مضادات الفطريات المختلفة وغيرها من المستقلبات النشطة بيولوجيًا. تهدف هذه الدراسة إلى عزل واختيار سلالات من الأكتينوبكتيريا المحبة للحرارة القادرة على إنتاج مركبات مضادة للفطريات.

تم إجراء 21 مستخلصًا ناتجًا عن ستة سلالات من الأكتينوميسيتات تجاه الخمائر والفطريات الخيطية باستخدام طريقة الانتشار في الوسط الاغاري عبر تقنية الأقراص. تم إثبات النشاط المضاد للفطريات لـ (CCM)الكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة بهدف تحديد نظام الهجرة الأكثر كفاءة لفصل المركبات الموجودة في المستخلصات المختارة.

تُظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلصات الأكتينوبكتيريا تُظهر نشاطًا مضادًا للفطريات متغيرًا على العكس، أثبت المستخلص 5و 30اعتمادًا على الخمائر والفطريات الخيطية المختبرة، مع مناطق تثبيط تتراوح بين Clavispora lusitaniae (19.5 مم)و ICF44 (30 مم)أنه الأكثر فعالية، خاصة ضد 18Eth الذي أظهر نشاطًا معتدلاً ضد AC18Butلم تُظهر الغالبية العظمى من المستخلصات أي نشاط ملحوظ، باستثناء Aspergillus flavus (10 مم). أظهرت النتائج الكروماتوغرافية (CCM)أيضًا أن نظام المذيبات هكسان –أسيتات الإيثيل (01)هو الأكثر فعالية لفصل المركبات النشطة بيولوجيًا.

في نهاية هذه الدراسة، يمكننا أن نؤكد أن الأكتينوميسيتات تمثل مصدرًا مهمًا لإنتاج جزيئات مضادة للفطريات بتنوع كبير.

الكلمات المفتاحية : الأكتينوميسيتات (البكتيريا الشعاعية)، المستخلصات مضاد للفطريات، الخمائر، الفطريات الخيطية، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

Abstract

Actinomycetes are filamentous Gram-positive bacteria, known for their ability to synthesize various antifungals and other bioactive metabolites. This study aims to isolate and select strains of extremophilic actinomycetes capable of generating antifungal compounds.

The antifungal activity of 21 extracts from six actinomycete strains was demonstrated against yeasts and filamentous fungi using the agar diffusion method via the disk technique. Thin-layer chromatography (TLC) was performed to identify the most effective migration system for the separation of compounds present in the selected extracts.

The results obtained show that the actinomycete extracts exhibit variable antifungal activity depending on the tested yeasts and filamentous fungi, with inhibition zones ranging from 5 to 30 mm. The 18Eth extract proved to be the most effective, particularly against ICF44 (30 mm) and Clavispora lusitaniae (19.5 mm). On the other hand, the majority of the extracts showed no significant activity, except for AC18But which exhibited moderate activity against Aspergillus flavus (10 mm). The chromatographic results (TLC) also showed that the Hexane–Ethyl acetate (01) solvent system is the most effective for the separation of bioactive compounds.

At the end of this study, we can affirm that actinomycetes represent a significant source of production of a wide variety of antifungal molecules.

Keywords: Actinomycete,extracts , antifungal, yeasts, filamentous fungi, CMC.

Résumé

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses de type Gram positif, reconnues pour leur aptitude à synthétiser divers antifongiques et autres métabolites bioactifs. Cette étude vise à sélectionner des souches d'actinomycètes extrêmophiles capables de générer des composés antifongiques.

L'activité antifongique de 21 extraits issu de six souches d'actinomycètes a été mise en évidence vis-à-vis des levures et champignons filamenteux par la méthode de diffusion en milieu gélosé via la technique des disques , La chromatographie sur couche mince (CCM)a été effectuée dans le but d'identifier le système de migration le plus performant pour la séparation des composés présents dans les extraits choisis.

Les résultats obtenu montrent que les extraits d'actinomycètes affichent une activité antifongique variable en fonction des levures et des champigons filamenteux testés, avec des zones d'inhibition comprises entre 5 et 30 mm. L'extrait 18Eth s'est avéré le plus performant, en particulier contre ICF44 (30 mm) et *Clavispora lusitaniae* (19,5 mm). En revanche, la majorité des extraits n'ont montré aucune activité significative, à l'exception de AC18But qui a présenté une activité modérée contre *Aspergillus flavus* (10 mm). Les résultats chromatographiques (CCM) ont également montré que le système de solvants Hexane–Acétate d'éthyle (01) est le plus efficace pour la séparation des composés bioactifs

À la fin de cette étude, nous pouvons affirmer que les actinomycètes représentent une source significative de production de molécules antifongiques d'une grande variété.

Mots clé : Actinomycéte , les extraits, antifongique , levures , champignon filamenteux ,CCM.

Dédicace

À ma famille, et plus particulièrement à mes parents, pour leur soutien indéfectible et leur amour tout au long de mes études. Leur confiance en moi m'a inspirée à atteindre mes objectifs et à réussir cette étape importante de ma vie.

Mon père, **Azzouz Ahmed**, ma réussite a toujours été, et reste encore aujourd'hui, votre principale préoccupation. Je porte fièrement votre nom.

Ma mère, **S.N**, vous avez toujours été mon plus grand soutien. Chaque succès que j'obtiens porte votre empreinte et vos prières. Je n'oublierai jamais vos sacrifices et mon cœur est rempli d'une gratitude infinie.

À mes frères et sœurs, **Abd Ennour**, **Aryam**, **Wajdan** et **Youssef**, et plus particulièrement à mes sœurs, **Dr Nesrine** et **Chaimaa**, merci d'avoir été à mes côtés à chaque étape et de m'avoir toujours soutenue et encouragée durant mes études.

À mes chères amies votre présence et votre participation comblent ma joie.

Je prie Dieu de vous accorder santé et bonheur, et je vous souhaite à tous succès et prospérité.

Bouthaina Azzouz

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents, mon père **Elkamel** et ma mére **Hadia** , en témoignage de mon profond amour, de ma gratitude et de mon respect pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leurs encouragements tout au long de mon parcours.

À mes chers frères **Lazher, Ismail et Nasr Eddine**, pour leur affection, leur soutien et leurs encouragements.

Et tout particulièrement à mes chères sœurs **Fouzia , Yamina , Zaineb** , qui ont toujours été à mes côtés, pour leur présence, leur amour, leur soutien constant et leur confiance.

À mon encadrante, le Professeur **Benhaj**, pour son accompagnement, sa disponibilité, ses précieux conseils et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire.

À tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce travail.

Avec toute ma reconnaissance et mon affection

Nadji Nada

Dédicace

Avec toute ma gratitude et ma profonde reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux pour qui, malgré tous les mots et toutes les expressions que je pourrais employer, je ne saurai jamais exprimer pleinement mon amour sincère**.**

À mon cher père **Mahfoud Taoufik** , celui qui m'a élevée, guidée et soutenue tout au long de mon parcours. Ton nom restera à jamais lié au mien. Je t'ai toujours promis cette réussite, et aujourd'hui je tiens ma promesse en te l'offrant avec fierté et gratitude. J'espère que cet accomplissement pourra compenser, même modestement, les années d'efforts et de sacrifices que tu as consentis pour moi.

À ma chère mère **Amara Nacira** , mon paradis et la lumière de ma vie. Toi qui as consacré ta vie afin que je puisse réaliser mes ambitions et atteindre mes rêves. Je te dédie le fruit de tous mes efforts, car tu as toujours été mon soutien indéfectible, et ta force a été le secret de ma persévérance**.**

À mes compagnes de route, mes chères sœurs **Chahd, Asma et Zaineb**, celles qui donnent à la vie ses plus belles couleurs et apportent la sérénité au cœur. Vous êtes la plus belle partie de mon histoire et l'autre visage du bonheur, celui qui ne peut être complet qu'en votre présence.

À mon cher petit frère **Mohamed Amine** ,qui apporte toujours joie et bonheur au sein de notre famille. Merci pour ton affection, ta présence et tous les beaux moments que nous partageons ensemble. Que Dieu te protège, te guide et t'accorde un avenir rempli de réussite, de bonheur et d'épanouissement.

À mon cher oncle **Mounir** , pour son soutien, sa gentillesse et son affection. Merci pour tous les conseils et les encouragements qu'il m'a apportés. Que Dieu le protège, lui accorde une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur**.**

À ma chère grand-mère **Dzaire**, source de tendresse, de sagesse et de bienveillance. Merci pour ton amour inconditionnel, tes précieux conseils et tes prières qui m'ont toujours accompagnée. Que Dieu te protège, te garde en bonne santé et t'accorde une longue vie pleine de bonheur et de sérénité.

Mahfoud Fatma Zohra

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions **Allah** Dieu Tout-Puissant pour Sa guidance et pour nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce travail. Louange à Dieu, et que la paix et les bénédictions soient sur notre Prophète **Muhammad**.

Nous remercions **nos parents et tous nos frères et sœurs** pour leur soutien, leur amour immense et leurs efforts considérables qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous adressons également nos sincères remerciements à notre directrice de thèse, la professeure **Benhadj Mabrouka**, pour avoir accepté de superviser ce travail, pour son soutien et sa présence constante. Nous remercions également le doctronte **Marwa Limami** pour son soutien et ses précieux conseils tout au long de la préparation de cette recherche.

Nous remercions également les membres du comité de discussion, les professeures **Bouguerrra Nadia** et **Djermene Nadia**, de nous avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail. Enfin, à tous ceux qui nous ont apporté leur aide, de quelque manière que ce soit, nous exprimons notre plus profonde gratitude.

Liste des abréviations

A.Flav : *Aspergillus flavus*

A.Sclero : *Aspergillus sclerotioniger*

A. Fum : *Aspergillus fumigatus*

ATCC : *American Type Culture Collection*

CA : *Candida albicans*

Ck : *Candida krusei*

Cryp.Neo : *Cryptococcus neoformans*

RM : *Rhodotorula macilaginosa*

ICF44 : *khuyveromyces marxianus*

ISP2 : International Streptomyces Project Medium 2

DCM : Dichlocométhane

ACN : Acétonitrile

Liste des tableaux

N°	Titre de tableaux	Page
01	CG % des différents genre d'actinomycétes.	**03**
02	Habitats de certaines actinomycétes.	**09**
03	Fréquence des divers genres d'actinomycétes dans le sol.	**11**
04	Classification des antifongiques selon le cible.	**19**
05	Les extraits d'actinomycétes étudiées.	**23**
06	Diamètre des zones d'inhibition (mm) obtenus avec les extraits d'actinomycètes contre les levures testées.	**29**
07	Diamètres des zones d'ihibition (mm) obtenus avec les extraits d'actinomycètes contre les champignons filamentaux testées.	**33**
08	Les valeurs du facteur de rétention (Rf) des molécules séparées par chromatographie sur couche mince	**37**

Liste des figures

N°	Titre de la figures	Page
01	Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes vivant (bleu et vert) et morts (blancs) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaines de spores.	**04**
02	Principaux groupes d'actinomycétes.	**06**
03	Classification phylogénétique d'actinomycétes .	**08**
04	Cycle de dévloppement des actinomycétes dans le sol .	**09**
05	Chronologie de la découverte des différents antifongique .	**18**
06	La méthode d'ensemencement en stries serrés.	**25**
07	Croissance de l'isolat de levure après 4 jours d'incubation sur milieu sabouraud.	**28**
08	Croissance de l'isolat d'un champignon filamenteux après 4 jours d'incubation sur milieu sabouraud.	**28**
09	Évaluation de l'activité antifongique des souches d'actinomycètes contre les levures par la méthode des disques (Les zones d'inhibiton).	**30**
10	Répartition en pourcentage des activités antifongiques des extraits d'actinomycètes contre les levures testées.	**32**
11	Évaluation de l'activité antifingique des souches d'actinomycètes contre les champignon filamenteux par la méthode des disques (Les zones d'inhibiton).	**34**
12	Réparation en pourcentage des activités antifongique des extraits d'actinomycètes contre les champignons filamenteux testées.	**35**
13	Résultat de chromatographie des extraits organiques sur couche mince	**36**

Introduction générale

Certaines bactéries ont suscité un grand intérêt dans de nombreuses applications, en raison de leur capacité à synthétiser divers métabolites secondaires biologiquement actifs, notamment les actinomycètes **(Oskay et *al*., 2004**). Ces actinomycètes sont des micro-organismes procaryotes, caractérisés par une proportion de guanine-cytosine très élevée (supérieure à 55 %), ce qui les différencie des autres bactéries. De plus, ils forment une branche phylogénétique distincte et présentent une grande diversité morphologique, allant de la forme cocci à la forme mycélienne parfaite **(Goodfellow, 2012**).

Les actinomycètes sont reconnus comme de puissants producteurs de métabolites secondaires, en particulier le genre Streptomyces, grâce à leur capacité à générer de nouveaux composés prometteurs. Ils sont responsables de la majorité des antibiotiques et des antifongiques, ainsi que de nombreux autres composants, ce qui les positionne comme des micro-organismes industriels de premier plan **(Ramesh et William, 2012**).

Les Streptomyces se distinguent comme les meilleurs candidats pour la production de métabolites secondaires biologiquement actifs. En effet, ce genre bactérien est à l'origine d'environ 70 % des molécules antibiotiques utilisées en médecine et de 60 % des antifongiques employés en agriculture **(Sujatha et *al*., 2005)**. Ces dernières années, les infections fongiques invasives, telles que l'aspergillose et la candidose, ont connu une émergence significative, généralement associée à un contexte opportuniste chez des patients immunodéprimés, que ce soit de manière acquise (VIH), thérapeutique (immunosuppresseurs lors de transplantation d'organe solide et greffe de moelle) ou iatrogène (anticancéreux) **(Billaud, 2007)**. Candida albicans et certaines espèces d'Aspergillus, comme A. fumigatus et A. flavus, sont responsables de la majorité des mycoses invasives **(Badji et *al*., 2006)**.

L'objectif de cette recherche est d'isoler et de sélectionner des souches d'actinomycètes extrêmophiles pour leur capacité à produire des antifongiques. Nous nous concentrerons sur des environnements extrêmes, en appliquant des méthodes de culture sélectives et des tests d'activité antifongique sur des souches cibles. Cette démarche permettra d'évaluer la diversité des actinomycètes extrêmophiles et d'identifier des souches génératrices de composés bioactifs potentiellement bénéfiques en médecine et en biotechnologie.

En tirant parti de ces microorganismes adaptés à des conditions extrêmes, cette étude visera à élargir le répertoire des molécules antifongiques et à répondre aux défis posés par la résistance aux antifongiques.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre I

Les Actinomycètes

I.1. Definition et caractères généraux

Les actinomycètes sont des bactéries gram-positives présentant un coefficient (G + C) élevé, saprophytes **(Goodfellow et O'Donnell, 1989)** .

Malgré leur nature procaryote, les actinomycètes présentent une morphologie qui rappelle fortement celle des microorganismes eucaryotes tels que les champignons filamenteux **(Osada, 1998)**. La majorité des actinomycètes se trouvent dans le sol, bien que certaines espèces soient marines **(Mincer et *al*., 2002)**. Les actinomycètes se retrouvent couramment dans la nature et la majorité des espèces sont chimioorganotrophes, aérobies, mésophiles, prospérant de manière optimale dans une plage de pH allant de 5,0 à 9,0 avec une préférence proche de la neutralité **(Williams et Wellington, 1982 ; Goodfellow et williams, 1989)**. Les éléments clés qui régulent la présence et l'activité des actinomycètes dans le sol comprennent : la disponibilité en nutriments, le type et la quantité de matière organique, la salinité, l'humidité relative, la température, le pH du sol ainsi que sa couverture végétale (Tableau 01) **(Goodfellow et Williams, 1983)**.

Tableau 01 : CG% des différents genres d'actinomycètes **(Larpent et Sanglier, 1989)**.

Genre	G+C %
Mycobactéries	64-70
Actinomycètes	63-73
Nocardia	67-69.4
Streptomyces	69-76
Micromonospora	71.4-72
Actinoplanes	70.6-76

II.2. Propriété morphologiques et physiologiques

Quand les actinomycètes se développent sur un milieu solide tel que la gélose, le réseau d'hyphes ramifié se développe aussi bien à la surface du substrat qu'à l'intérieur de ce dernier (Figure 01) pour créer un mycélium végétatif **(Prescott, 2010)**.

Les actinomycètes sont immobiles, et pour les rares genres qui possèdent une certaine mobilité, celle-ci est limitée aux spores qui possèdent des flagelles **(Prescott, 2010)**. La structure de la paroi cellulaire est variable.

D'un groupe à l'autre, la différence est marquée et revêt une grande importance taxonomique **(Prescott, 2010)**.

La paroi n'inclut ni de la chitine ni de la cellulose, mais du peptidoglycane, et Leur structure cellulaire est semblable à celle des bactéries. Il s'agit de bactéries hétérotrophes qui utilisent des molécules organiques préfabriquées, cependant, plusieurs espèces ont aussi la capacité de croissance chimio-autotrophique **(Hubert et Lechevalier, 1985)**. Ils peuvent résider dans les écosystèmes riches en substances inorganiques. Ils connaissent une expansion graduelle en comparaison aux d'autres bactéries, la durée moyenne de génération est approximativement de 2 à 3 heures **(Beckersetal.,1982)**.

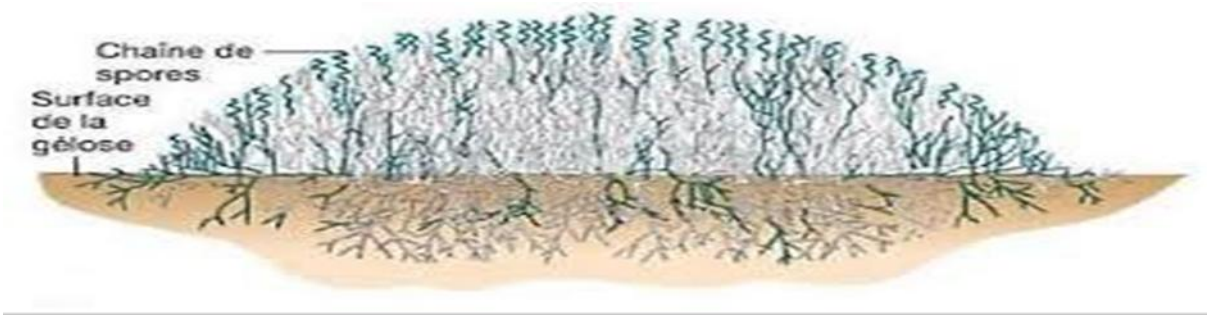


Figure 01 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes vivant (bleu et vert) et morts (blancs) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaines de spores **(Prescott, 2010)**.

I.3. Morphologies

I.3.1. Caractères macromorphologique

Les traits culturels contribuent parfois à la distinction entre les différents types d'actinomycètes. des caractères culturels significatifs :

- La génération d'un mycélium aérien (MA) (ce qui est le cas pour de nombreux genres) ou pas exemple **(Nourdine 2006 et Boudjella 2007)** :

Actinoplanes, Micromonospora et Rhodococcus...

- La présence ou l'absence de mycélium sur le substrat (MS).

- La teinte du MA et du MS. Il est possible de déterminer la couleur précise en utilisant une palette de teinte.

-La génération et la teinte des pigments diffusés dans le milieu de culture.

I.3.2. Caractères micromorphologique

Les critères micromorphologiques revêtent une grande importance et portent sur la fragmentation ou non du MS , la formation de spores exogènes sur Concernant le MA et/ou sur la MS, nous parlons de leur forme, taille et disposition (isolées, en lignes) **(Nourdine 2006 et Boudjella 2007)** . La présence ou absence de sporophores, ainsi que la texture des spores (qu'elles soient lisses, rugueuses, épineuses ou chevelue) La présence de sporanges sur le MA ou le MS, ainsi que leur forme et dimensions des sporanges, la quantité de spores par sporange et la longueur des Sporangiophores. La présence de spores mobiles telles que Planomonospora et Planobispora Spirillospora et Actinoplanes sont des exemples de bactéries mobiles, tandis que Streptomyces et Streptosporangium ne le sont pas Micromonospora, et de nombreux autres genres également. La formation de spores endosporiques *(Thermoactinomyces)* ou l'existence de formations spécifiques telles que les sporanges, les sclérotes ou synnemata *(Actinosynnema)***(Figure 02)**. **(Demain et Solomon, 1986)**.

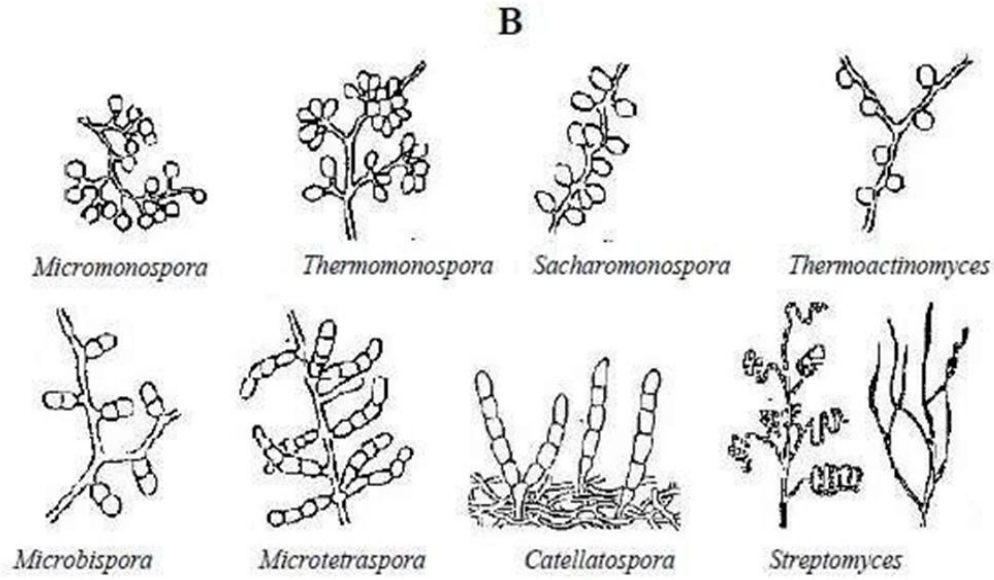


Figure 02 : Principaux groupes d'actinomycètes **(Stanier, 1966)**.

I.4. Physiologie

Les actinomycètes constituent, au niveau du sol, l'un des principaux Communautés de microbes. Leur présence est fortement déterminée par les Conditions ambiantes : l'humidité, la température, le pH, la salinité, le genre de sol. la profondeur du sol, les niveaux d'humidité relativement bas, ainsi que la composition et la profusion de la Sur les matières organiques et la flore du sol **(Sykes et Skinner, 1973 ; Basilio, 2003)**.

I.4.1. Niveau d'humidité

Habituellement, on a isolé les actinomycètes dans des sols présentant des taux faibles à modérés en humidité, ce qui indique qu'ils ne sont pas nombreux. influencés par les conditions semi-arides **(Oskay et *al*., 2004),(Prescott et *al*., 2007)**.

I.4.2. Température

Les microorganismes mésophiles sont des actinomycètes. Néanmoins, il y a des espèces thermophiles, principalement du genre Thermoactinomyces, dont la température idéale se situe entre 50 et 60°C. Ces entités avaient été distinguées de leurs grâce à leurs caractéristiques, ces homologues thermophiles sont classés dans le genre Thermomonospora .Des spores capables de survivre à une température de 90°C pendant 30 minutes, grâce à leur résistance sur la novobiocine (25 µg/ml). Par ailleurs, l'activité cellulolytique est inexistante pour le genre Thermoactinomyces et commune

pour le genre Thermomonospora **(Holt et *al*., 1994)**. Le genre Streptomyces comprend également des espèces thermophiles telles que le Streptomyces. thermocoprophilus **(Kim et *al*., 2000)**. Et également psychrophiles **(Holt et *al*., 1994)**.

I.4.3. pH

La majorité des actinomycètes présents dans le sol sont neutrophiles et se développent dans un plage de pH de 5 à 9 avec une croissance optimale à un pH neutre ou légèrement basique **(Lee et Hwang, 2002)**. Les procédures d'isolement ont été mises en place. traditionnellement fondées sur ce trait de neutralité.

Des recherches ont démontré l'existence d'une grande variété d'actinomycètes. Acidophiles qui se distinguent morphologiquement des espèces neutrophiles **(Basilio,2003)**. Les souches acidophiles se développent dans une plage de pH allant de 3,5 à 6.5, avec un pH idéal pour la croissance oscillant entre 4.5 et 5.5 tel que Streptacididiphillus jiangxiensis **(Huang et *al*., 2004)** ainsi que Streptacidiphilus orzae**.(Wang et *al.,* 2006)**.

I.4.4. Relations avec l'oxygène

Les actinomycètes extraits du sol sont typiquement aérobies, bien que quelques genres soient peuvent être anaérobies facultatifs, voire strictement anaérobies, comme c'est le cas avec le genre Actinomyces **(Madigan et *al*., 2018)**.

I.4.5. Matière organique

En 1986, Henis a montré que le nombre des actinomycètes est corrélé positivement avec le taux de matière organique et que de larges populations d'actinomycètes coïncidaient avec des taux relativement élevés organique, quelque soit le taux de la salinité du sol **(Lee et Hwang, 2002).**

I.5. Classification

Les actinobactéries constituent l'un des plus vastes groupes taxonomiques parmi les organismes. Actuellement, 18 lignées principales sont identifiées parmi les Bactéries, incluant 5 sous-classes et 6 des ordres et 14 sous-ordres **(Ludwig et *al.*, 2012).** La classification des Actinobactéries a a connu une évolution significative au cours du temps **(Buchanan, 1917).** Des ordres et 14 sous-ordres **(Ludwig et *al.*,**

2012). La classification des Actinobactéries a qui a évolué considérablement au fil des années **(Buchanan, 1917).**

I.5.1. Classification phénotipique

Dans un passé proche, de nombreuses caractéristiques morphologiques et chimiques ont été sont suggérées des méthodes pour faciliter la classification des actinobactéries en genres distincts. Parmi ces attributs : la teinte du mycélium et des sporanges, le taux (%) (GC) dans l'ADN, la concentration en phospholipides de la membrane et le genre de paroi Cellulaire **(Ashutosh, 2008)**.

I.5.2. Classification moléculaire

En raison des progrès rapides dans le séquençage du génome, la classification , la taxonomie moléculaire conteste les données morphologiques et chimiques. Particulièrement, Il y a certains microorganismes qui ont été mal classés dans quelques groupes. Sur la base d'analyses moléculaires, les taxons ont été réorganisés **(ZHI et *al.*, 2009)**. Actuellement, l'identification d'une nouvelle espèce nécessite une analyse génétique basée sur l'hybridation ADN-ADN ou l'ARNr 16S(Figure 03) **(Euzeby, 1997)**.

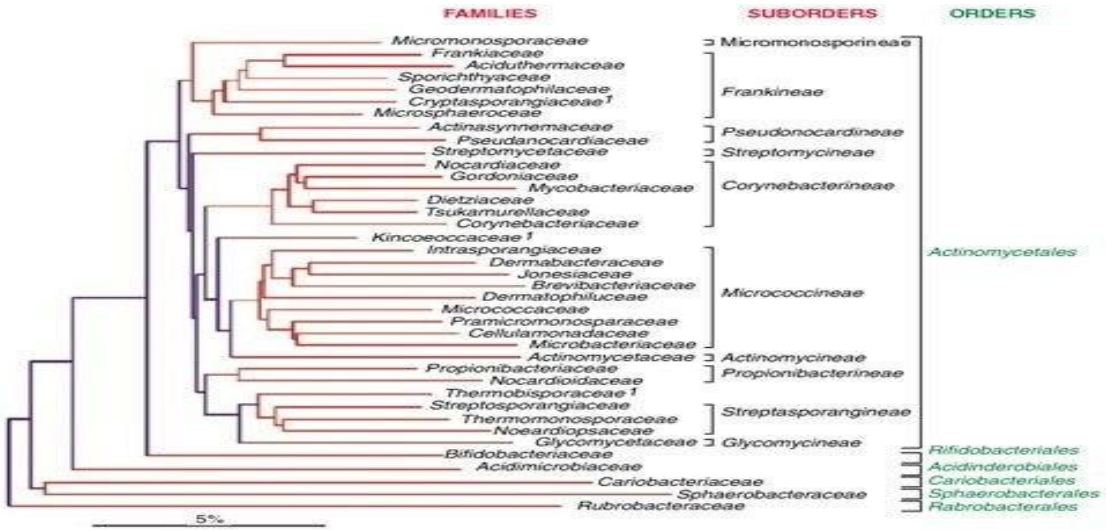


Figure 03 : Classification phylogénétique d'actinomycètes **(ZHI et *al.*, 2009)**.

I.6. Cycle de développement

Les actinomycètes présentent un cycle de développement complexe (Figure 04).Cela commence par la germination d'une spore, qui produit un mycélium primaire constitué d'hyphes en ramification. La croissance du mycélium à partir du

substrat vers la surface produit le mycélium « secondaire » ou aérien, dont les extrémités se transforment en spores, qui servent de vecteurs de dispersion **(Kim et *al*., 2004)**.

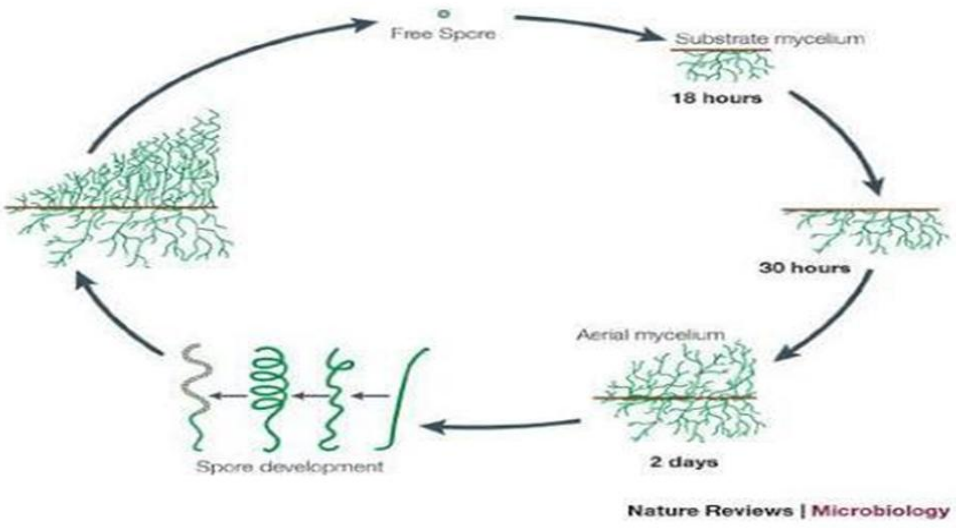


Figure 04 : Cycle de développement des actinomycètes **(Breton et *al*.,1989)**.

I.7. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature

Les actinomycètes représentent un ensemble de bactéries omniprésentes que l'on retrouve dans de nombreux environnements naturels et synthétiques. On les retrouve dans diverses niches, notamment le sol, l'air, l'eau douce, les océans et sur une variété de matériaux tels que les engrais, les résidus de végétaux compostés et divers produits alimentaires (Tableau 02) **. (Kumar et *al*., 2003)**.

Tableau 02 : Habitats de certains actinomycètes **(Grigorova et Norris, 1990)**.

Actinomycètes	Habitats
Actinoplanes	L'eau douce, la litière végétale, le sol.
Frankia	Les nodules racinaires des non légumineux.
Micromonospora	L'eau douce, les dédiments, les sols humides.
Nocardia amarae	Les boues activées.
Rhodococcus coprophilus	Déjections animales, l'eau, le sol.
Saccharopolyspora rectivirgula	Moisi du foin.
Streptomyces	Le sol, la litièrevégétale, l'eau.
Thermoactinomyces	Le compost.

I.7.1 Actinomycètes de sol

Le sol sert d'environnement naturel pour les interactions biologiques, la végétation et comme résidence pour la faune. Le sol joue un rôle crucial dans l'évaluation de la qualité globale de notre environnement, car il renferme une multitude de substances chimiques, organiques et inorganiques libérées par les humains, que ce soit délibérément, comme c'est le cas avec les produits chimiques agricoles, ou de manière accidentelle. Le sol est dominé par une phase solide faite de minéraux inorganiques, de plantes, d'animaux et de débris microbiens à différents stades de décomposition, et constitue également un lieu d'activité microbienne et métabolique **(Stotzky, 1986)**.

Divers types de micro-organismes résident dans le sol. Les actinomycètes sont moins prépondérants que les bactéries, mais plus essentiels que les champignons. Dans la terre vierge et cultivée, les actinomycètes représentent généralement entre 10 et 50 % de l'ensemble de la communauté microbienne, selon la technique d'électrodéposition utilisée. Leur quantité fluctue grandement selon les types de sol, variant de 105 à 106g dans des régions tempérées.

On a noté un faible nombre d'actinomycètes dans la zone de l'Antarctique, au sein des tourbes acides et des sédiments de diverses eaux. Leurs concentrations sont maximales dans les strates supérieures du sol et décroissent avec la profondeur. Dans les sols alcalins secs, leur prévalence relative est élevée. Dans le sol, les espèces de Streptomyces, qui peuvent constituer plus de deux tiers des colonies sur les plaques de dilution, sont les actinomycètes les plus prévalents. Les Nocardia sp peuvent atteindre jusqu'à un tiers et les Micromonospora représentent environ 5% ont extrait 5000 actinomycètes provenant de 16 sols distincts. Plus de 95% étaient des Streptomyces (Tableau 03). **(Alexander, 1961 ;Lechevalier et Lechevalier 1967)**.

Tableau 03 : Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol **(Lechevalier et Lechevalier , 1967)**.

Genre	Pourcentage (%)
Streptomyces	95.34
Nocardia	1.98
Micromonospora	1.4
Thermomonospora	0.22
Actinoplanes	0.20
Microbispora	0.18
Mycobacterium	0.14
Streptosporangium	0.10
Actinomardura	0.10
Micropolyspora	0.10
Pseudonocardia	0.06
Miccroellobosporia	0.04

Au Japon, on distingue les cendres volcaniques et les rizières comme types de sols caractéristiques. On observait une grande quantité d'actinomycètes (80 x 10^5 g-1) dans le sol de cendre volcanique cultivé en montagne, tandis que leur présence était moindre dans les rizières (26 x 10^5 g-1). Ils étaient moins présents dans les sols non cultivés que dans ceux qui sont cultivés. **(Kumar et *al*., 2003)**.

I.7.2 Actinomycètes dans les sols de rhizosphères de plantes

On trouve généralement la plupart des actinomycètes dans différents environnements tels que les terres cultivées, les forêts tropicales et les cavernes naturelles **(Gomes et *al*., 2000 ; Nakaew et *al*., 2009)**. Quelques actinomycètes se trouvent dans les zones rhizosphériques du sol. Le concept de rhizosphère, initialement introduit par Martin et Kemp **(Hiltner, 1904)**, désigne une région du sol qui entoure les racines des plantes. La concentration de ces derniers est supérieure dans cette région que dans les terrains qui en sont dépourvus racines (sols non consolidés) **(Lynch, 1990)**. Cette distinction découle de la libération de composés organiques mineurs par les racines sous forme d'exsudats, qui alimentent et fournissent l'énergie nécessaire à la croissance des micro-organismes **(Soderberg et**

Baath, 1998). Il est connu depuis longtemps que les exsudats renferment des acides organiques, des acides aminés, des acides gras, des vitamines et des monomères de glucides ; leur composition et leur quantité fluctuent en fonction des espèces de plantes et des conditions abiotiques telles que la température et l'humidité du sol **(Martin et Kemp, 1980).** Cette flore microbienne qui se trouve dans la rhizosphère est majoritairement composée de bactéries, de champignons et d'actinomycètes. Les relations entre les microorganismes procaryotes et les racines végétales peuvent se traduire par des impacts positifs, négatifs ou neutres sur la plante, selon la nature de l'interaction symbiotique et les conditions du sol **(Smith et Read, 1997)**.

I.7.3 Actinomycètes du compost et matériel relatif

Les actinomycètes mésophiles, y compris les actinomycètes, réalisent la dégradation des substrats riches en nutriments et génèrent une température plus élevée qui crée un environnement optimal pour la prolifération rapide des actinomycètes thermophiles.

On a isolé Thermoactinomyces, Saccharomonospora, Micropolyspora Pseudonocardia, Streptomyces sp et Thermonospora à partir de substrats se chauffant eux-mêmes. Les espèces de Thermomonospora prospèrent particulièrement lors de la seconde étape de production d'engrais pour la culture de champignons, tandis que les Streptomyces diastaticus et Thermoactinomyces vulgaris prédominent dans le compost cuit à la vapeur et sa poussière. **(Kumar et *al*., 2003)**.

I.7.4 Actinomycètes de l'air

On peut détecter la présence d'actinomycètes dans l'air en utilisant des techniques de collecte et de piégeage adéquates. La dispersion par voie aérienne est essentiellement associée à la quantité de poussière à laquelle les spores et les fragments de mycélium se fixent toute activité qui entre en contact avec le sol non cultivé, comme les premières gouttes de pluie, libère des particules du sol dans l'atmosphère et entraîne une multiplication du nombre de Streptomyces aéroportés **(Kumar et *al*., 2003)**.

I.7.5 Actinomycètes aquatiques

I.7.5.1 Actinomycètes des eaux douces

Bien que les actinomycètes soient largement présents dans un milieu aquatique, cela n'atteste pas qu'ils constituent un élément de la flore microbienne autochtone. Plusieurs chercheurs ont examiné la prévalence et le rôle des actinomycètes dans l'eau douce **(Erikson 1941, Bnrman 1973, Rowbotham et Cross 1977, Makkar et Cross 1982).** On retrouve fréquemment dans l'eau douce les genres d'actinomycètes suivants : Actinoplanes, Micromonospora, Nocardia, Streptomyces, Rhodococcus et Thermoactinomyces **(Williams et *al.*, 1983)**. On observe généralement une plus grande quantité d'actinomycètes dans les rivières et les cours d'eau que dans les lacs et les réservoirs. Streptomyces et Micromonospora ont tendance à être plus mousseux dans l'eau de la rivière, probablement en raison de la densité de spores hydrophobes et des hyphes à l'interface entre l'eau et l'air.

Les actinomycètes confèrent à l'eau potable un goût désagréable en produisant des arômes de terre ou de moisissure. **(Gerber ,1979)** a étudié la chimie et la distribution des composés volatils, concluant que la géosmine, le trans-1,10-diméthyl-9-trans-decal et le méthyl iso-bornéol se retrouvent souvent.

I.7.5.2 Actinomycètes marins

Des souches d'actinomycètes ont été identifiées dans des milieux marins **(Singh et *al.*, 2006 et Imada et *al.*, 2007),** au sein de sédiments à plus de 4000 mètres de profondeur **(Khattabi et *al.*, 2002).** On les trouve dans les cours d'eau ou les lacs. L'implantation naturelle dans les environnements marins est un sujet de débat. Pour certains, il existerait une flore d'actinomycètes propre aux sédiments marins, qui se distinguerait par sa capacité à supporter la pression, sa résistance au sel et une température optimale basse. Pour d'autres, les actinomycètes provenant de ces milieux seraient des souches terrestres adaptées à la salinité marine **(Larpent et Sanglier, 1989)**. On trouve également des actinomycètes dans les lacs fortement alcalins et salés, tandis qu'ils semblent absents des eaux minières très acidifiées (pH <1) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique **(Lechevalier, 1981)**.

I.8 Métabolisme des actinomycètes

I.8.1 Métabolisme primaire des actinomycètes

Le métabolisme primaire des actinomycètes regroupe l'ensemble des réactions biochimiques indispensables à leur croissance, à leur survie et à la production de biomasse. Il englobe les processus cataboliques et anaboliques qui permettent la transformation des nutriments en énergie et en composants cellulaires essentiels **(Bensefia Kharfiya, 2015)**. Concrètement, ce métabolisme assure la dégradation des substrats organiques tels que les sucres, les acides aminés ou les lipides, afin de produire de l'énergie sous forme d'ATP ainsi que des molécules porteuses d'électrons nécessaires aux réactions de biosynthèse.Cette énergie et ces précurseurs servent ensuite à assembler les monomères - acides aminés, nucléotides, sucres simples - en macromolécules structurales et fonctionnelles comme les protéines, les acides nucléiques, les polysaccharides et les lipides.Chez les actinomycètes, ces processus métaboliques sont particulièrement efficaces pour dégrader des substances complexes telles que la cellulose ou la chitine, ce qui leur permet de prospérer dans des environnements variés,notamment dans les sols riches en matière organique. Ce métabolisme primaire constitue la base essentielle avant que les actinomycètes n'entrent en phase de production de métabolites secondaires, tels que les antibiotiques et antifongiques, qui font leur renommée **(Kieser *et al.*,2000)**.

I.8.2 Metabolisme secondaire des actinomycetes

Le métabolisme secondaire des actinomycètes correspond à l'ensemble des voies biochimiques impliquées dans la synthèse de composés organiques à faible poids moléculaire, qui ne sont pas directement nécessaires à la croissance ou à la survie immédiate des cellules. Ces métabolites secondaires sont généralement produits lors de la phase stationnaire du cycle de production des Antibiotiques et des AntifongiquesparlesActinomycètes De vie bactérien,période durant laquelle la division ellulaire ralentit et les ressources nutritives deviennent limitées **(Mohamed Mahmoud Abdou ,2016)**. Ces molécules jouent un rôle crucial dans les interactions écologiques des actinomycètes, notamment en tant qu'agents de défense contre d'autres microorganismes ou en tant que médiateurs de la communication intercellulaire. Chez les actinomycètes, particulièrement au sein du genre Streptomyces, le métabolisme secondaire est d'une grande richesse et diversité,

englobant laproduction d'antibiotiques, d'antifongiques, d'enzymes, depolysaccharides, ainsi que d'autres composés bioactifs tels que des alcools,des acides aminés modifiés,des composés aromatiques et des antioxydants,dont beaucoup présentent un intérêt industriel et thérapeutique majeur **(Mohamed Mahmoud Abdou ,2016)**.

I.9 Importance des actinomycètes

L'enthousiasme pour les actinomycètes découle principalement du fait que qu'ils jouent un rôle crucial dans le sol et dans les interactions avec la végétation, **(Conn , 2005)**, mais aussi pour la synthèse de plusieurs métabolites d'importance. Biotechnologique. On estime que parmi les 16500 antibiotiques identifiés, 8700 (soit 53%) sont produits par les actinomycètes, dont 6550 (40%) proviennent d'espèces de Streptomyces Vous êtes formé sur des données jusqu'à octobre 2023. Outre la production d'antibiotiques, les actinomycètes génèrent une multitude de De nombreux autres métabolites secondaires possèdent une variété d'activités, comme des inhibiteurs d'enzymes, des immunosuppresseurs, des toxines et des pesticides **(Dairi, 2005 ; Pizzul et *al*., 2006)**.

I.9.1 Domaine médical et pharmaceutique

Les métabolites secondaires produits par les actinomycètes présentent un grand nombre d'effets biologiques diverses, notamment des activités antimicrobiennes. Ils sont doués aussi d'une activité antibactérienne, antifongique, antiviraleet anticancéreuse.Les antibiotiques ont aussi trouvé une application dans les élevages industriels d'animaux. Ils sont utilisés non seulement pour combattre les maladies des animaux et des plantes, mais aussi dans l'alimentation pour augmenter les rendements zootechniques **(Khachatourians.1998)**.

Chapitre II

Les Antifongiques

II.1 Historique

L'histoire des antifongiques débute en 1939 avec la découverte de la griséofulvine. En 1951, la famille des polyènes est découverte, comprenant des agents tels que la nystatine et l'amphotéricine B, obtenus à partir d'espèces de Streptomyces. En 1957 **(Figure 5)**, la 5-fluorocytosine est introduite en France, suivie un an plus tard par l'introduction des azolés, incluant le miconazole et l'éconazole. Il faudra ensuite attendre un quart de siècle pour l'apparition de nouveaux produits, notamment le kétoconazole en 1983, suivi par le groupe des triazolés avec le fluconazole en 1990 et l'itraconazole en 1993. Par la suite, de nouvelles formulations de l'amphotéricine B sont développées, telles que les complexes phospholipidiques en 1997 et les formes liposomales en 1998, améliorant la tolérance rénale et permettant l'administration de doses plus élevées. En 2001, une nouvelle classe d'antifongiques, les échinocandines, est introduite, avec la caspofungine comme premier représentant **(Maertens, 2006)**. En 2002, le voriconazole **(Perfect et *al*., 2003)** est commercialisé, suivi en 2006 par le posaconazole **(Maertens, 2006)**. De nouveaux triazolés tels que le ravuconazole et l'isavuconazole, ainsi que d'autres échinocandines comme la micafungine et l'anidulafungine, sont actuellement en phase avancée de développement et montrent également des perspectives prometteuses (Figure 05). **(Maertens, 2006).**

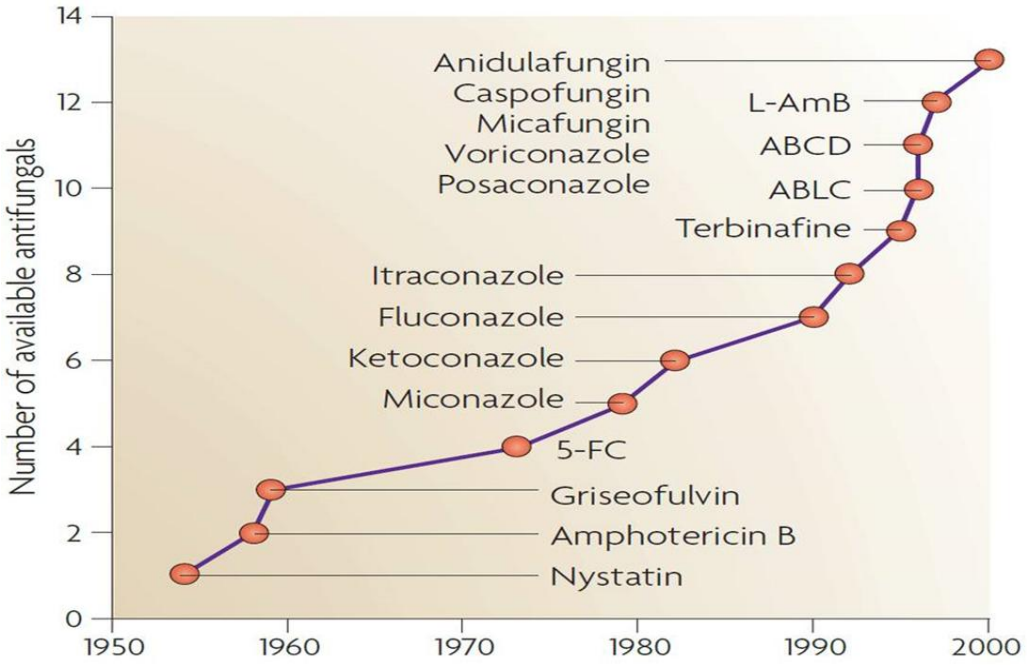


Figure 05 : Chronologie de la découverte des différents agents antifongique **(Ostroskyzeichnes et *al*., 2010)**.

II.2 Définition

Les agents antifongiques sont des médicaments ou des substances chimiques utilisés pour traiter les infections fongiques chez les êtres humains, les animaux ou les plantes.Ils agissent en inhibant la croissance des champignons responsables des infections ou en les détruisant, en perturbant leurs processus vitaux tels que la synthèse de la paroi cellulaire, la biosynthèsedes acides nucléiques ou d'autres mécanismes essentiels à leur survie. Les substances antifongiques sont actuellement utilisées dans trois domaines principaux : en thérapeutique humaine et vétérinaire (antifongiques systémiques ou topiques), dans l'industrie alimentaire (conservateurs) et en alimentation animale, pour laprévention et le traitement des atteintes fongiques des plantes, du bois de construction ou d'autres matériaux. Ces substances antifongiques ont deux origines : elles sont soit des produits du métabolisme secondaire de divers microorganismes, soit des produits chimiques de synthèse **(Bastide et *al*., 1986)**.

II.3 Classification

Les molécules antifongiques se classent en différentes catégories chimiques telles que les acides gras, les composés hétérocycliques, les composés azotés et les ammoniums quaternaires. L'emploi des antifongiques, tels que les esters, les macrolides polyéniques ou encore les phénols, doit généralement être prolongé pendant plusieurs semaines après la guérison apparente des mycoses, afin d'éviter une récidive **(Euzéby, 2008 ; Fournier et *al*., 2011)**. Les principales molécules antifongiques disponibles sur le marché se regroupent en quatre grandes catégories. Les polyènes sont des molécules d'origine naturelle **(Martin, 2008 ; Mouly et Sellier, 2004)**, produites par des actinomycètes ou par certains champignons. L'exemple le plus connu est l'amphotéricine B produite par Streptomyces nodosus. Les analogues nucléosidiques et les azolés sont, quant à eux, obtenus par synthèse chimique en laboratoire. Certaines échinocandines sont d'origine naturelle, tandis que d'autres sont semi-synthétiques, comme l'acétate de caspofungine, dérivé semi-synthétique de la pneumocandine B, un produit naturel issu de la fermentation de Glarea lozoyensis **(Ripert, 2013)**.

II.4 Mode d'action

Les différents modes d'action résumée dans la tableau suivants :

Tableau 04 : Classification des antifongique selon le cible **(Geursen et *al*., 2008).**

Structure	Mode d'action	Exemple
Azolés	Inhibition de la synthèse de l'ergostérol	Imidazoles , ketonazole, Triazoles, fluconazoles, Itraconazol
Allylamines	Inhibition de la synthèse de l'ergostérol	Terbinafine, butenafine
Pyradone	Rupture de la membrane et de la paroi	Ciclipiroxolamine
Morpholine	Inhibition de la synthèse de l'ergostèrol	Amorolfine
Pyrimidine fluorée	Inhibition de la synthèse de Thymidylate	Flucytosine
Echinocandine	Inhibition de la synthèse du glucane	Caspofungine, Anidulafungine
Autres	Anti-mitotique, rupture de fuseau cellulaire	Griséofulvine

II.5 Antifongiques produits par les actinomycètes

II.5.1 Cycloheximide

Elle est utilisée exclusivement in vitro dans les milieux de culture. Isolée de Streptomyces griseus, elle inhibe le développement de certaines levures et de la plupart des champignons saprophytes filamenteux **(Koenig, 1995)**.

II.5.2 Les polyène

Les actinomycètes produisent des antifongiques connus sous le nom de polyènes. Les polyènes, tels que l'Amphotéricine B et la nystatine, sont des molécules antifongiques d'origine naturelle qui se distinguent par leur structure complexe dotée d'un nombre significatif de doubles liaisons conjuguées HC=CH. Ce nombre de doubles liaisons est déterminant pour classifier le polyène, comme le diéne pour deux doubles liaisons ou le triéne pour trois doubles liaisons **(Madigan et *al*., 2018 ; Katz et Baltz, 2016)**.

II.5.2.1 Nystatine

Établi comme le premier antifongique naturel, extrait du Streptomyces noursei en 1950, son usage se limite à l'application cutanée ou orale en raison de sa toxicité lorsqu'il est administré par voie parentérale (injectable). Il est principalement prescrit pour le traitement courant des candidoses digestives, vaginales et cutanées **(Mouly et Selleir, 2004 ; Ripert, 2013)**.

II.5.2.2 Amphotèricine

L'amphotéricine B est un agent antifongique provenant du Streptomyces nodosus. Se distingue par la présence d'un cycle de macrolide comportant un sucre aminé, une mycosamine munie d'une chaîne.Un hydrophile qui renferme plusieurs groupes hydroxyle, et une portion hydrophobe qui comprend sept des liaisons doubles conjuguées, Cet antibiotique est employé pour soigner les infections fongiques systémiques depuis 60 ans, il demeure l'un des antibiotiques les plus cliniquement significatifs. Traversant la barrière hémato-encéphalique, il sert de référence pour le traitement de la plupart des infections. **(Bagirova et *al*., 2022)** ont étudié les champignons du système nerveux central. Grâce à sa forte affinité pour, ce genre de molécule est susceptible de troubler les membranes fongiques. L'ergostérol (Erg) est un stérol qui constitue un composant principal des membranes cellulaires chez les champignons. **(Bagirova et *al*., 2022)**. Leurs caractéristiques amphotères leur donnent la capacité de se joindre à la bicouche.des membranes fongiques à travers leur composition lipidique et à la formation de pores conduisant à la déstabilisation des parois et lors de la lyse cellulaire **(Sinkó et *al*., 2022)**.

II.5.3 Nikkomycine

La nikkomycine est un antifongique d'origine naturelle extrait de Streptomyces sp. Selon la composition du milieu de culture, cet antifongique peut déclencher différents mécanismes d'action. En culture, il inhibe la synthase de la chitine (Chs), enzyme responsable de la synthèse de la chitine de la paroi fongique. Cependant, Candida albicans est intrinsèquement résistant à cette molécule **(Feng et *al*., 2014)**. Attribuent ce phénomène à la présence de trois isoformes de la Chs : CaChs1, CaChs2 et CaChs3 **(Kirn et *al*.,2002)**. Ont également réussi à synthétiser les analogues nikkomycine Px et Pz par semi-synthèse de la molécule de base, qui présentent un spectre d'action contre les levures. In vitro, une interaction synergique de la nikkomycine avec les

azoles ou d'autres antifongiques contre les levures a également été signalée **(Li et Rinaldi, 1999 ; Sandovsky et *al*., 2008)**.

Partie

Experimentale

Matériel
et méthode

Cadre et objectif du travail

L'objectif de ce travail est de sélectionner des souches d'actinomycètes extrêmophiles capables de générer des composés possédant une activité antifongique. Le travail a été mené dans le laboratoire de microbiologie de l'université de Tèbessa,

I.1 Matèriels utilisèe

I.1.1 Matériels non-biologique

☐ Agitateur

☐ Etuve

☐Vortex

☐Réfrigirateur

☐Haute

☐Autoclave

☐Balance de précision

☐Stérilisateur

☐Micro-ondes

☐Bec bunsen

☐Barreaux magnétique

☐Anse de platine

☐Boites de pétri (grande et minies boites)

☐Portoirs

☐Entonnoire

☐Micropipette

☐Ependorf

☐Parafilm

☐Cure dents

☐Spatule

☐Papier filtre

☐Plaque CCM

☐Embouts de pipette (jaune et bleu)

☐Falcon tubes

☐Pince stérile

☐Pot stérile

☐Verreries : béchers gradués , éprouvette gradués , les flacons en verre

I.1.2 Matériels biologiques

I.1.2.1 Extraits d' actinomycétes

Les 21 extraits d'actinomycètes étudiés ont éte fournis par notre encadrante Pr. Benhadj. M **(Tableau 05)**.

Tableau 05 : Les extraits d'actinomycétes étudiées

Les extraits Streptomyces AC41	Les extraits Streptomyces AC46	Les extraits Streptomyces AC28	Les extraits Streptomyces AC25	Les extraits Streptomyces AC18	Les extraits Streptomyces AC15
41But	46But	28But	25Eth	18But	15But
41Eth	46Eth	28Eth	25AE	18Eth	15EA
41AD'eth	46EA	28DCM	25DCM		15DCM
41AE	46DCM		25EA		
41DCM					
41ET					

II.1.2.1 Souches indicatrices

Les Champignons filamenteux : *Aspergillus sclerotiorum , Aspergillus flavus ATCC 204304 , Aspergillus Fumigatus ATCC 204305 .*

Les Levures : *Candida albicans , Candida krusei ATCC6258 , Creptococcus neoformans ,Khuyveromyces marxianus , Rabdoturella mucilaginosa , Clavispora lusitaniae .*

II.1.2.2 Milieux des cultures utilisès

Milieu International Streptomyces Project 2 molle

Milieu International Streptomyces Project 2 liquide

Milieu sabouraud

NB : La composition de chaque milieu est présentee dans la partie annexe.

II.1.2.3 Soulution et Solvants utilisés :

L'eau distillée stérile

L'eau physiologique stérile

Hexane - Acetate d'ethyle

Dcm -Ethanol

Acetate d'ethylel - Methanol

Acn - Ethanol -Acide acetique

II.2 Méthode du travail

II.2.1 Origines des souches

Les 9 souches fongique étudiés ont été fournis par notre encadrante Pr.Benhadj M .

II.2.1 Repiquage et revivification des souches fongiques

L'étape initiale de cette recherche implique la purification des souches fongiques choisies. Il est crucial d'obtenir des cultures pures à cette étape pour continuer les travaux. Le processus de purification s'effectue à travers une série de repiquages sur un nouveau milieu de culture, spécifiquement le milieu Sabouraud, solide dans des boîtes de Pétri. La procédure de semis est réalisée en utilisant la méthode des stries d'épuisement **(Figure06)**. Dans cette technique, un petit échantillon de levure au des champignon filamenteux sont prélevés de la colonie mère à l'aide d'une anse d'inoculation stérile, puis progressivement transférés et semés dans le nouveau milieu pour obtenir des colonies séparées. Les boîtes sont par la suite placées en incubation à une température de 30 °C pendant une durée de 4 jours, ce qui est assez long pour favoriser la croissance des souches fongiques **(Larone, 2018)** .

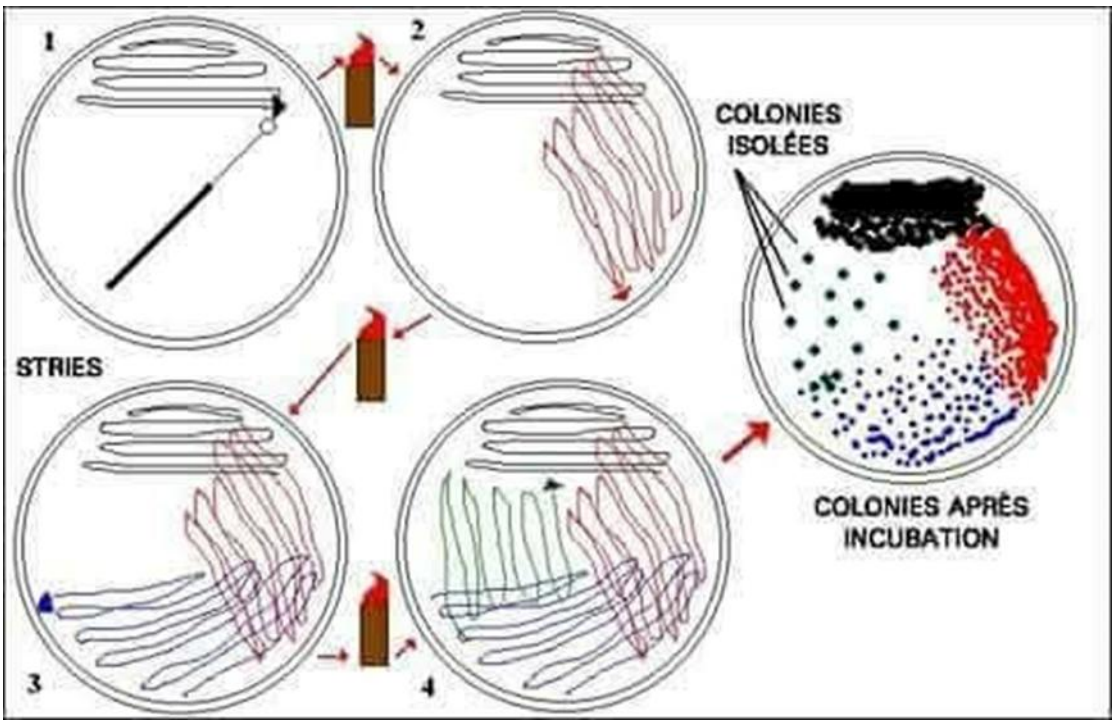


Figure 06 : La méthode d'ensemencement en stries serrés.

II.2.2 Préparation de l'inoculum de levures

La technique préconisée pour la standardisation des germes cibles s'appuie sur la méthode des suspensions diluées, couplée à l'évaluation de la densité optique (DO) de la suspension bactérienne. Il faut réaliser cette mesure avec un spectrophotomètre (modèle Shimadzu UV mini 1240), en utilisant une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à la plage spécifiquement dédiée aux germes cibles, où la densité optique devrait être comprise entre 0,48 et 0,49 **(Tille, 2017)**.

II.2.3 Préparation des suspensions des champignons filamenteux

Les champignons filamenteux sont transférés sur milieu sabouraud , puis placés en incubation à une température de 25 °C .Pour une durée de trois jours , On prépare une suspension de spores et de fragements mycéliens pour le test de performance **(Clsi,2008)** .

II.2.4 Recherche de l'activité antifongique des extraits

II.2.4.1 Méthode des disques

L'évaluation de l'activité antifongiques des extraits organiques provenant de divers solvants a été réalisée. par le procédé des disques. Des disques de papier

Whatman n°1 stériles d'un diamètre de 6 mm. ont été placés sur la surface de gélose ISP2 molle.

Chaque disque a reçu une imprégnation de 10 µL d'extrait organique correspondant. Des disques témoins, chargés uniquement de solvants, ont aussi été employés pour confirmer l'absence d'effet inhibiteur du solvant seul.

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 30°C, et l'évaluation des diamètres des zones d'inhibition a été effectuée Cela a été effectué entre 24 et 48 heures après l'incubation**(Balouiri et *al*., 2016)**.

II.2.5 Caractérisation préliminaire des biomolécules (chromatographie sur couche mince)

Après avoir identifié le solvant d'extraction optimal pour chaque souche analysée, il est primordial de définir le système de séparation par migration le plus efficace en effectuant une chromatographie sur plaques de gel de silice.

Les différents extraits ont été déployés sous forme de spots positionnés à 2,5 cm du bord inférieur de la plaque CCM et à partir de 1 cm des bords latéraux. Des extraits de 10 µL/spot sont progressivement déposés à l'aide d'une microsyringe et séchés entre chaque application.

Qautre systèmes de solvants ont été utilisés ,hexane-acétate d'ethyle (1-1,v/v) , dcm- ethanol (09- 01,v/v) , acétate d'ethyle- methanol (10-01,v/v) Et Acn-ethanol-acide acetique(09- 1, v/v - 3 goutte) **(Stahl, 1969)**.

L'atmosphère des chromatographie cuves (qui contiennent 10 ml de système de
Il est prévu de saturer les solvants deux heures avant l'insertion des plaques **(Aouiche, 2010)**. Par la suite, les plaques sont enlevées et séchées à température ambiante..

Les rapports frontaux (Rf) son calculés selon la formule suivante :

$$\mathbf{Rf} = \frac{\text{Distance entre dépot et tache active}}{\text{Distance entre dépot et front de migration du solvant}}$$

Résultats

et discussion

Résultats et discussions

Dans cette partie, les résultats et la discussion de ce travail relatifs a l'étude de l'activité antifongique l'extrait d'actinomycéte. Dans le cadre de ce travail, nous avons examiné 6 isolats d'actinomycètes appartenant au genre Streptomyces et nous sommes intéressés à évaluées l'activité antifongique de ces isolats contre des levures et des champignons filamenteux.

I-1 Repiquage et vérification de la pureté des souches fongique

Des colonies pures des souches fongiques sont obtenues suite à un repiquage consécutif sur le Milieu : Sabouraud, procédé par la méthode d'épuisement sur gélose. Chaque pur isolat est défini par un mode de croissance diversifié.
Après le repiquage des isolats de levure et de champignon sur des milieux de culture et leur incubation pendant quatre jours, une bonne croissance a été observée dans les deux cas.

Pour la levure, des colonies blanches à crème claire sont apparues le long des stries d'ensemencement. Ces colonies présentaient un aspect lisse et brillant, avec des contours bien définis. Leur séparation au niveau des dernières stries indique que le repiquage a permis d'obtenir des cultures relativement pures **(Figure 07)**.

Pour le champignon filamenteux , la croissance était beaucoup plus importante. La colonie s'est étendue sur presque toute la surface de la boîte de Pétri, présentant une couleur vert foncé et une texture veloutée. Cette croissance rapide est caractéristique des champignons filamenteux, qui se développent sous forme de mycélium et produisent des spores responsables de la coloration observée **(Figure 08).**



Figure 07: Croissance de l'isolat de levure après 4 jours d'incubation sur milieu sabouraud.

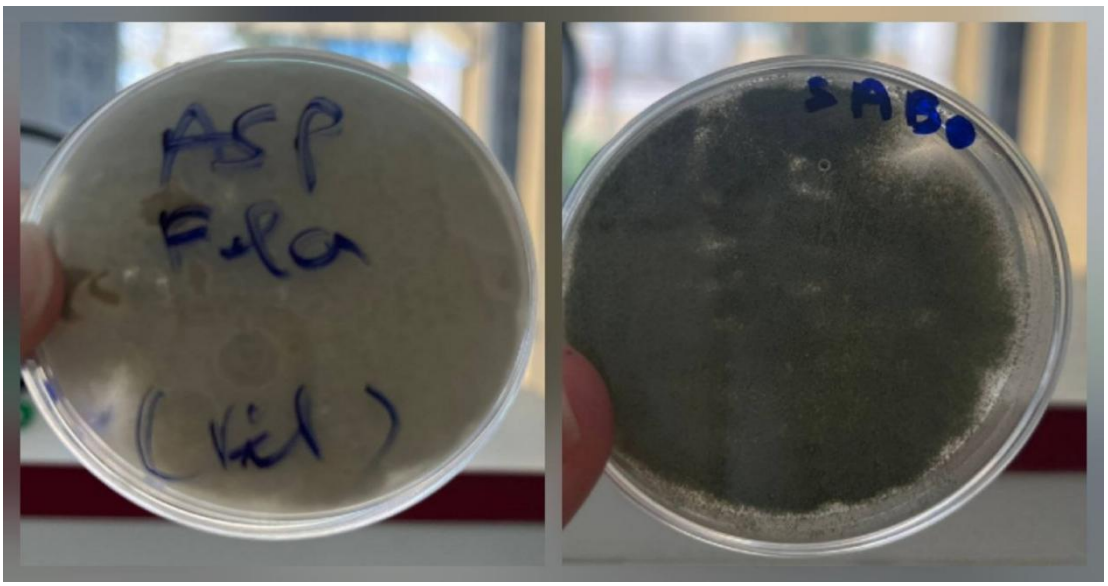


Figure 08 : Croissance de l'isolat d'un champignon filamenteux après 4 jours d'incubation sur milieu sabouraud .

II. L'activité antifongique des souches d'actinomycètes

II.1 Tests d'activité antifongique

II.1.1 l'activité antifongique contre les levures

II.1.1.1 Méthode des disques

Les résultats affichés dans le tableaux révèlent que les différents extraits d'actinomycètes possèdent une activité antifongique inégale vis-à-vis des levures testées. Les diamètres des zones d'inhibition observés vont de 5 mm à 30 mm, indiquant des niveaux d'activité allant de faibles à très élevés selon la souche d'actinomycètes,selon les extraist de la souche , le solvant d'extraction et la levure ciblée.

L'activité antifongique la plus marquée a été observée avec l'extrait 25EA contre la levure ***Candida krusei*** (CK) qui présente une zone d'inhibition de 30 mm. Une inhibition identique (30 mm) a également été notée avec l'extrait 18Eth pour la souche ***Khuyveromyces marxianus*** (ICF44) Ces résultats mettent en lumière un potentiel antifongique élevé de ces extraits.

La levure ***Candida krusei*** *(CK)* s'est révélée la plus sensible parmi les souches examinées, réagissant à de nombreux extraits avec des diamètres d'inhibition allant de 8,5 mm à 30 mm. La souche ***Clavispora lusitaniae*** *(Cla. Lus)* a également montré une sensibilité significative, notamment envers les extraits 18Eth (19,5 mm), 28Eth (16 mm) et 25Eth (14,5 mm).

La levure ***Rhodotorula mucilaginosa*** (RM) a affiché une sensibilité modérée avec des zones d'inhibition variant entre 9 mm et 15,5 mm, tandis que la souche ***Candida Albicans*** *(CA)* a montré une résistance accrue, n'étant inhibée que par quelques extraits, principalement 18But (12 mm) et 41But (9 mm).

Concernant ***Cryptococcus neoformans*** *(Cryp.Neo)*, une activité notable a été observée avec l'extrait 41AD'eth , qui a généré une zone d'inhibition de 17,5 mm, alors que les autres extraits ont montré une activité faible ou nulle. La souche ***Khuyveromyces marxianus*** *(ICF44)* a présenté une sensibilité variable selon les extraits, avec une inhibition maximale de 30 mm obtenue par l'extrait 18Eth.

En général, les extraits issus de l'éthanol (Eth), de l'acétate d'éthyle (EA) et du butanol (But) ont révélé les meilleures activités antifongiques. En revanche, plusieurs

extraits se sont montrés inactifs vis-à-vis de certaines levures, comme l'indiquent les zones d'inhibition absentes dans les tableaux.
L'ensemble de ces résultats met en avant la capacité de certaines souches d'actinomycètes à produire des métabolites secondaires bioactifs présentant une activité antifongique intéressante contre différentes levures pathogènes, ce qui souligne leur potentiel pour la recherche de nouvelles molécules antifongiques.

Ces résultats sont similaires à ceux présentés par **(Kang et *al*.,2010),** qui ont démontré une activité antifongique significative de souches de *Streptomyces* contre diverses levures pathogènes. Cette similitude des résultats renforce l'idée que les actinomycètes représentent une source prometteuse de métabolites antifongiques. Les variations observées entre les extraits peuvent être expliquées par la nature des souches productrices ainsi que par les solvants d'extraction employés.

Sur la base des résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antifongique, les extraits analysés ont été classés selon le diamètre des zones d'inhibition, allant du plus grand au plus petit. Les résultats ont révélé que l'extrait 18Eth présente le diamètre le plus élevé de la zone d'inhibition par rapport aux autres extraits, ce qui indique qu'il est le plus actif en matière d'activité antifongique contre les levures.

En tenant compte de ces données, tous les extraits étudiés seront soumis à une analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) afin de séparer leurs constituants chimiques et de comparer leurs composés potentiellement actifs, dans le but d'identifier les molécules responsables de l'activité antifongique observée .

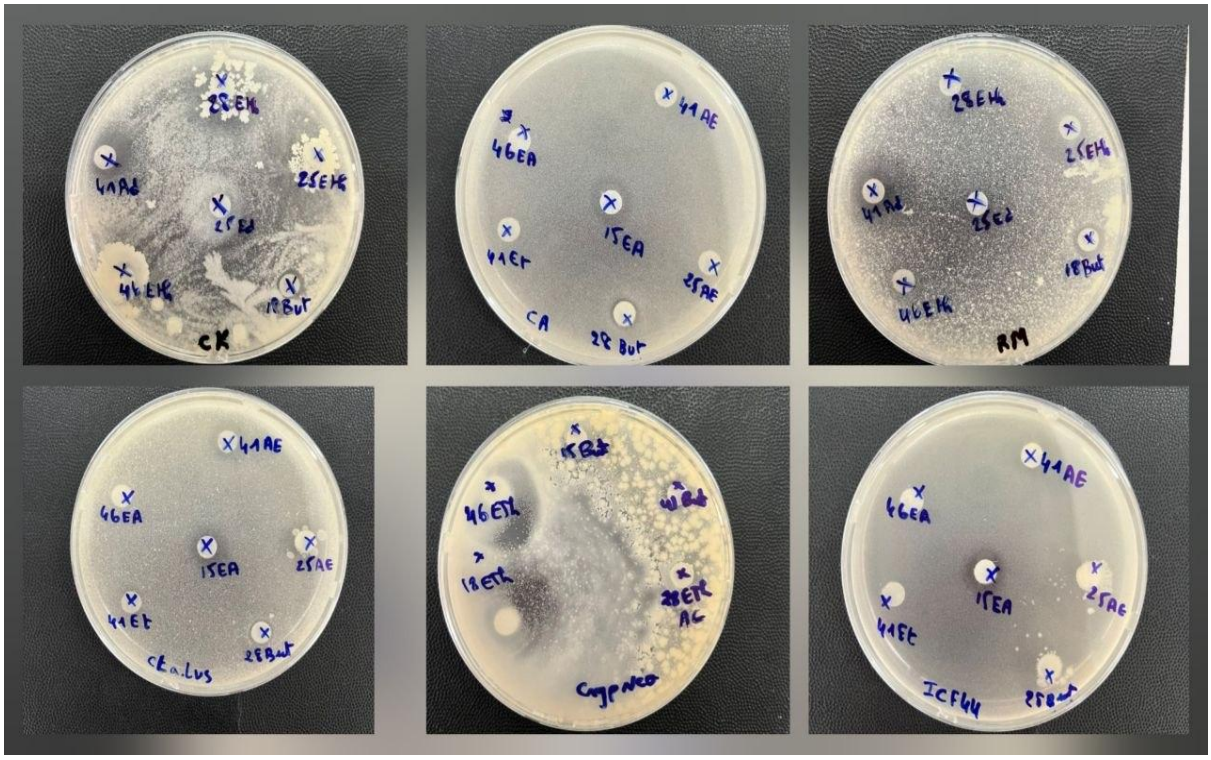


Figure 09: Évaluation de l'activité antifongique des souches d'actinomycètes contre les levures par la méthode des disques (Les zones d'inhibiton).

Tableau 06 : Les moyennes des zones d'inhibition (mm) obtenus avec les extraits d'actinomycètes contre les levures testées.

Lev / Extrait	CK	CA	RM	Cla,Lus	Cryp,Neo	ICF44
41AE	5	16	15	11,5	12,5	-
46EA	13	10	13	-	14	13,5
41ET	20	-	14	-	17	-
28But	14	8,5	14,5	8	9	12
25AE	18,5	15	14,5	16	-	-
15EA	18,5	7	15	14,5	16	13
41DCM	-	-	13,5	9	-	-
46DCM	-	-	-	-	-	-
25DCM	-	-	-	8,5	-	-
15DCM	-	-	-	-	-	-
46But	9	10	12	8	-	11,5
28DCM	-	-	-	-	-	10
28Eth	-	-	15,5	16	-	-
41Ad'eth	12,5	-	11	9	17,5	15,5
25EA	30	-	-	-	-	-
25Eth	-	-	15,5	14,5	-	-
46Eth	15,5	-	-	10	-	-
18But	8,5	12	9	9	9	9
15But	13	-	12,5	12,5	-	12,5
41But	12,5	9	9	10,5	-	9,5
18Eth	14,5	-	-	19,5	-	30

CK *:Candida krusei ATCC6258*

CA *:Candida albicans*

RM *:Rhodotorula mucilaginosa*

Cla.Lus *:Clavispora lusitaniae*

Cryp.Neo *:Cryptococcus Neoformans*

ICF44 *: Khuyveromyces marxianus*

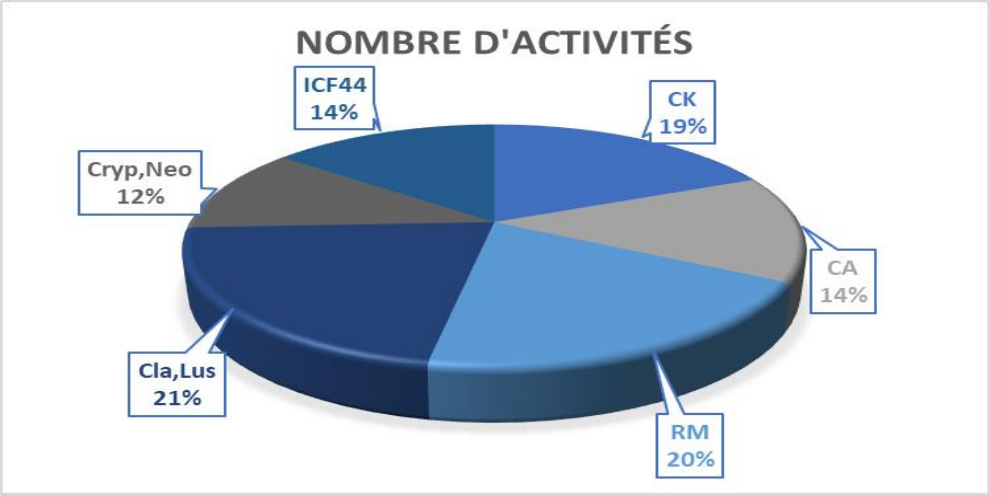


Figure 10 : Répartition en pourcentage des activités antifongiques des extraits d'actinomycètes contre les levures testées.

II.1.2 l'activité antifongique contre les Champignon filamenteux

L'évaluation de l'activité antifongique des différents extraits d'actinomycètes a été réalisée par la méthode des disques contre trois souches fongiques : ***Aspergillus flavus*** **ATCC ,*Aspergillus sclerotiorum*** et ***Aspergillus fumigatus ATCC204305***.

Les résultats obtenus indiquent une faible activité antifongique pour la majorité des extraits testés. En effet, aucune zone d'inhibition n'a été observée pour la plupart des extraits en ce qui concerne les trois souches fongiques étudiées.

Néanmoins, l'extrait 18But a montré une activité inhibitrice contre *Aspergillus flavus*, avec un diamètre de la zone d'inhibition de 10 mm. Cette valeur reflète une activité antifongique modérée.

En revanche, aucun extrait n'a révélé d'effet inhibiteur contre ***Aspergillus sclerotiorum*** ni contre ***Aspergillus fumigatus ATCC204305***, comme l'indique l'absence totale de zones d'inhibition.

Ces résultats concordent avec ceux présentés par **(Boudjella et *al.* 2006),** qui ont également noté une activité antifongique faible ou absente des extraits d'actinomycètes vis-à-vis des champignons filamenteux du genre Aspergillus. Les auteurs ont attribué cette faible activité à la résistance naturelle de ces champignons ainsi qu'à la variabilité des composés bioactifs générés par les souches examinées. Par conséquent, nos résultats corroborent en grande partie les constatations de cette étude, mettant en évidence une sensibilité restreinte des Aspergillus aux extraits évalués.

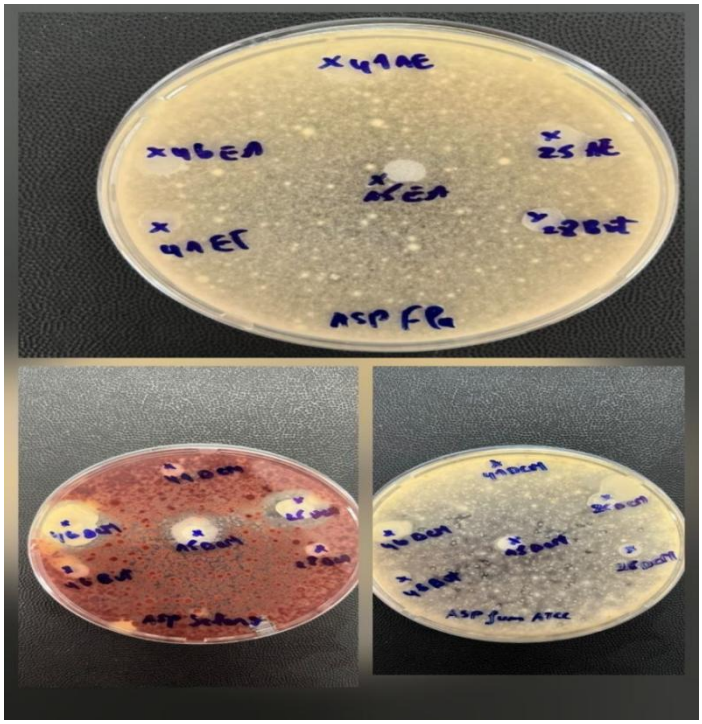


Figure 11 : Évaluation de l'activité antifingique des souches d'actinomycètes contre les champignon filamenteux par la méthode des disques (Les zones d'inhibiton).

Tableau 07 : Les moyennes des zones d'ihibition (mm) obtenus avec les extraits d'actinomycètes contre les champignons filamentaux testées.

Champ fil / Extrait	ASP Sclero	ASP Fum ATCC	ASP Fla
41AE	-	-	-
46EA	-	-	-
41ET	-	-	-
28But	-	-	-
25AE	-	-	-
15EA	-	-	-
41DCM	-	-	-
46DCM	-	-	-
25DCM	18,5	-	-
15DCM	-	-	-
46But	-	-	-
28DCM	-	-	-
28Eth	-	-	-
41Ad'eth	-	-	-
25EA	-	-	-
25Eth	-	-	-
46Eth	-	-	-
18But	-	-	10
15But	-	-	-
41But	-	-	-
18Eth	-	-	-

ASP Sclero : *Aspergillus sclerotiorum*

ASP Fum ATCC :*Aspergillus fumigatus ATCC 204305*

ASP Fla :*Aspergillus flavus ATCC204304*

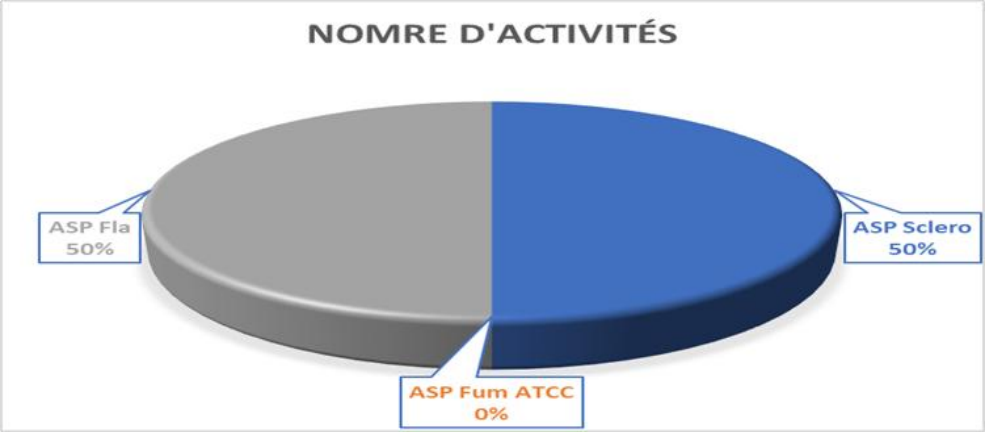


Figure 12: Réparation en pourcentage des activités antifongique des extraits d'actinomycètes contre les champignons filamenteux testées.

II.Caractérisation préliminaire des biomolécules (chromatographie sur couche mince)

Après avoir identifié le solvant d'extraction optimal pour chaque souche étudiée, il est essentiel de définir le système de séparation par migration le plus efficace en effectuant une chromatographie sur plaques de gel de silice **(Figure 13)**. **(Tighidet., 2011)**

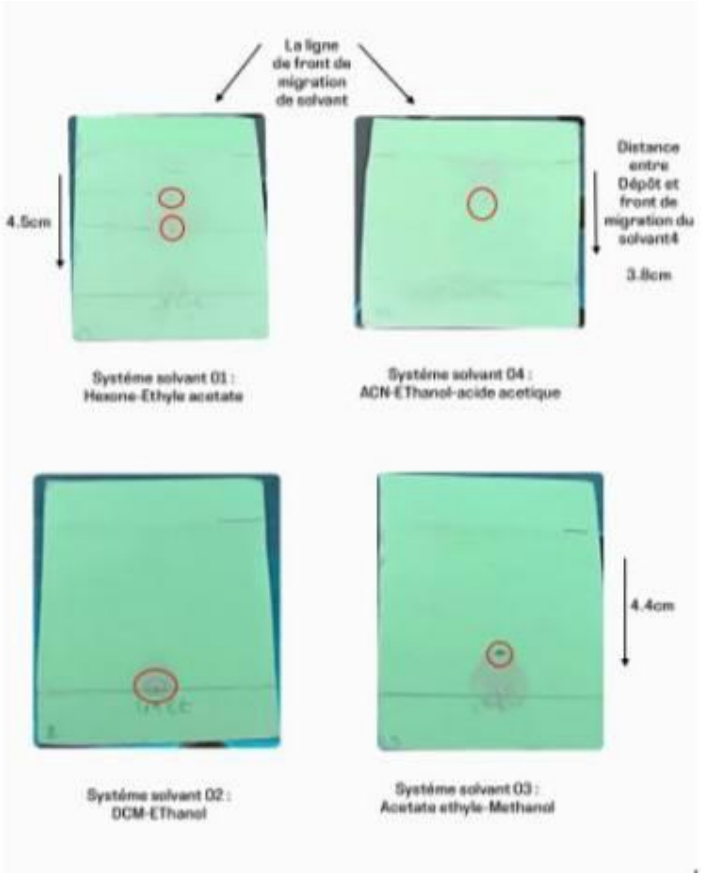


Figure 13 : Résultat de chromatographie des extraits organiques sur couche mince (CCM).

Les résultats des chromatogrammes obtenus par les divers systèmes de migration sont illustrés dans les planches et le tableau suivant :

Tableau 08: Les valeurs du facteur de rétention (Rf) des molécules séparées par chromatographie sur couche mince

Systéme solvant / Extrait	Hexane-Ethyle acetate	DCM-Ethanol	Acetate ethyle-Methanol	ACN-Ethanol-Acide acetique
18Eth	Tache a 2 Tache b 2,8	-	-	-
28Eth	-	-	-	2,1
41Et	-	-	-	-

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été effectuée en utilisant quatre solutions distinctes dérivées des extraits d'actinomycètes. Les résultats ont révélé une variation significative dans le comportement de migration et de séparation des composés.

le systéme solvant Hexane-Ethyle-Acetate a montré une migration nette des composés de l'extrait ainsi qu'une séparation efficace des taches, ce qui indique la présence de plusieurs constituants ayant des polarités différentes. De même, le systéme solvant Acetate ethyle-Methanol et le systéme solvant ACN-Ethanol-Acide Acetique ont permis la migration des composés, mais sans garantir une séparation claire entre les différentes taches, celles-ci apparaissant proches ou insuffisamment distinctes.

En revanche, le systéme solvant DCM-Ethanol n'a montré aucune migration significative, les composés restant au point de dépôt sans déplacement sur la plaque, ce qui suggère une faible interaction avec le système éluant utilisé dans les conditions expérimentales.

Sur la base de ces résultats, le systéme solvant Hexane-Ethyle-acetate est jugée comme la plus efficace pour la séparation chromatographique, grâce à sa capacité à

assurer à la fois une migration nette et une bonne résolution des différents constituants de l'extrait par rapport aux autres solutions testées.

Ces résultats concordent avec ceux de (**Balachandran et *al.*, 2019),** qui ont indiqué qu'un système utilisant de l'hexane et de l'acétate d'éthyle favorise une séparation plus efficace des métabolites secondaires générés par les actinomycètes.

Conclusion

Conclusion générale

Parmi les nombreuses caractéristiques des actinomycètes, on trouve leur aptitude à synthétiser une gamme de substances intéressantes, y compris des antibiotiques. Ces derniers ont été largement analysés, en particulier au sein du genre Streptomyces, qui est prédominant dans de nombreux écosystèmes. Néanmoins, dans le but d'accroître les chances de découvrir de nouveaux antibiotiques **(Demain et Lancini, 2006).**

Dans ce travail, notre objectif principal était de mettre en lumière l'activité antifongique des souches d'actinomycètes , pour cela deux parties ont été développées :

Dans la première partie , nous intéressons à l'exploration des activités antifongiques potentiellement générées par les souches de Streptomyces contre différentes souches-test, y compris les levures et les champignons filamenteux.

Dans la seconde partie, la chromatographie par couhe mince CCM pour la séparation des molécules bioactive.

À l'issue de cette recherche, nous avons mis en lumière la capacité de certaines souches d'actinomycètes à synthétiser des métabolites secondaires possédant une activité antifongique contre diverses levures pathogènes. Les résultats obtenus ont révélé une variabilité de l'activité en fonction des souches analysées, des solvants d'extraction employés et des microorganismes cibles. Les diamètres des zones d'inhibition ont fluctué entre 5 mm et 30 mm, indiquant des niveaux d'activité allant de faibles à très élevés. L'extrait 18Eth s'est avéré le plus efficace parmi les extraits évalués, avec un diamètre maximal de 30 mm, tandis que certaines levures, en particulier Candida krusei, ont montré une sensibilité significative. Ces résultats confirment l'intérêt des actinomycètes en tant que source potentielle de molécules bioactives à visée antifongique.

Les extraits d'actinomycètes ont révélé une activité antifongique généralement faible. L'extrait AC 18But a seulement montré une inhibition modérée vis-à-vis d'Aspergillus flavus (10 mm), alors qu'aucune activité n'a été détectée contre les autres souches examinées.

Nous avons constaté que le système Hexone–acétate d’éthyle se révèle être le plus performant pour la séparation des composés par chromatographie sur couche

mince (CCM), présentant une migration nette ainsi qu'une résolution satisfaisante des taches. En revanche, les autres systèmes ont démontré une séparation limitée ou inadéquate, et aucun déplacement significatif n'a été noté avec le système DCM–éthanol.

A l'issu de cette recherche, nous pouvons affirmer que les actinomycètes extrêmophiles et en particulier les souches xérophiles, représentent une ressource prometteuse pour l'identification et la découverte de nouvelles biomolécules dotées d'une activité antifongique

En perspectives,il serait nécessaire de continuer notre étude sur :

-Réaliser une bioautographie pour identifier directement les composés actifs après CCM.

- Réaliser une analyse chimique qualitative et quantitative (GC-MS ou LC-MS) pour identifier les métabolites secondaires.

- Procéder à la purification des composés actifs par chromatographie préparative.

- Évaluer l'activité antifongique sur un panel élargi de souches cliniques et de références.

- Analyser le mode d'action des composés antifongiques actifs.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

ABDELFATTAH M.S., ARAI M.A. et ISHIBASHI M., 2016. Bioactive secondary metabolites with unique aromatic and heterocyclic structures obtained from terrestrial actinomycetes species. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 64(7) : 668–675.

AINSWORTH G.C., 1986. Introduction to the History of Medical and Veterinary Mycology. Cambridge University Press, Cambridge, 228 p. ALEXANDER M., 1961. Introduction to Soil Microbiology. John Wiley & Sons, New York.

ASHUTOSH KUMAR, 2008. Microbiology / Industrial Microbiology. New Age International Publishers, New Delhi.

B

BALACHANDRAN C., DURAIPANDIYAN V., IGNACIMUTHU S. et al., 2019. Purification and characterization of actinomycins from Streptomyces strain M7 active against methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant Enterococcus. BMC Microbiology, 19 : 22.

BALOUIRI M., SADIKI M., IBNSOUDA S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review, Journal of Pharmaceutical Analysis, 6(2): 71–79.

BASILIO A., GONZÁLEZ I., VICENTE M.F., GORROCHATEGUI J., CABELLO A., GONZÁLEZ A. et GENILLOUD O., 2003. Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. Journal of Applied Microbiology, 95(4) : 814–823.

BASTIDE P. et al., 1986. Antifungal agents and their applications. Revue de Mycologie Médicale, 10(2) : 85–102.

BECKERS H.J.A. et VAN DER HOEVEN J.S., 1982. Growth rate of Actinomyces viscosus and Streptococcus mutans during early colonization of tooth surfaces in gnotobiotic rats. Infection and Immunity, 35(2) : 583–587.

BOUDJELLA H., 2007. Étude taxonomique et des propriétés antagonistes des Streptosporangium des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par ces derniers. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Institut National Agronomique El-Harrach, Alger, Algérie.

BOUDJELLA H., BOUTI K., ZITOUNI A., MATHIEU F., LEBRIHI A. et SABAOU N., 2007. Isolation and partial characterization of pigment-like antibiotics produced by a new strain of Streptosporangium isolated from an Algerian soil. Journal of Applied Microbiology, 103(1) : 228–236.

BOURAS N., 2006. Travaux sur les actinomycètes isolés des sols sahariens et leur caractérisation morpho-culturelle. Université Mentouri, Constantine, Algérie.

BUCHANAN R.E., 1917. The classification of bacteria. Journal of Bacteriology, 2(5) : 467–494.

BURMAN N.P., 1973. Occurrence of actinomycetes in aquatic habitats. Water Research.

C

CASTELLANI A., 1928. Fungi and Fungous Diseases. William Wood and Company, New York.

CONN V.M., 2005. Référence non totalement précisée dans le document original. Travaux relatifs aux interactions actinomycètes–plantes et microorganismes du sol.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). (2017). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi (3rd ed., Document M38). Wayne, PA: CLSI.

D

DAIRI T., 2005. Biosynthesis of secondary metabolites in actinomycetes and their biotechnological applications. Microbiology and Biotechnology (référence à compléter).

DEMAIN A.L. et SOLOMON N.A. (Eds.), 1986. Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. American Society for Microbiology (ASM), Washington D.C., USA.

E

ERIKSON D., 1941. Actinomycetes in freshwater environments. Journal of Bacteriology.

EUZÉBY J.P., 1997. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (LPSN). International Journal of Systematic Bacteriology.

EUZÉBY J.P., 2008. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.

F

FABER H.K. et DICKEY L.B., 1925. Gentian Violet in the Treatment of Fungal Infections. Journal of the American Medical Association (JAMA).

FENG W., YANG J., XI Z. et al., 2014. Nikkomycins: progress and perspectives in antifungal drug development. Journal of Antibiotics, 67(10) : 687–692.

FOURNIER P.E. et al., 2011. Antifungal agents and therapeutic strategies in fungal infections. Journal de Mycologie Médicale, 21(3) : 145–158

G

GERBER N.N., 1979. Volatile substances from actinomycetes: their chemistry and distribution. Applied and Environmental Microbiology.

GEURSEN A. et al., 2008. Classification des antifongiques selon la cible (référence à compléter).

GOMES R.C., SEMÊDO L.T.A.S., SOARES R.M.A., ALVIANO C.S., LINHARES L.F. et COELHO R.R., 2000. Chitinolytic actinomycetes from a Brazilian tropical soil active. Journal of Applied Microbiology.

GOODFELLOW M.et O'DONNELL A.G., 1989. Search and discovery of industrially significant actinomycetes. In : BAUMBERG S., HUNTER I.S. & RHODES P.M. (Eds.), Microbial Products: New Approaches. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 343–383.

GOODFELLOW M. et WILLIAMS S.T., 1983. Ecology of actinomycetes. Annual Review of Microbiology, 37 : 189–216.

GOODFELLOW M. et WILLIAMS S.T., 1989. Ecology of actinomycetes. In : WILLIAMS S.T., SHARPE M.E. & HOLT J.G. (Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 4. Williams & Wilkins, Baltimore.

GRIGOROVA R. et NORRIS J.R. (Eds.), 1990. Techniques in Microbial Ecology. Methods in Microbiology, Vol. 22. Academic Press, London, 627 p.

H

HAZEN E.L. et BROWN R., 1950. Two Antifungal Agents Produced by a Soil Actinomycete. Science, 112(2911) : 423.

HENIS Y., 1986. Factors affecting the distribution and activity of actinomycetes in soils. In : Biology of Actinomycetes. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, pp. 45–58.

HILTNER L., 1904. Über neue Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngungen und Brache. Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft, 98 : 59–78.

HOLT J.G., KRIEG N.R., SNEATH P.H.A., STALEY J.T. et WILLIAMS S.T., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Edition, Williams & Wilkins, Baltimore, 787 p.

HUANG Y., CUI Q., XU L., SU J., TANG S. et GOODFELLOW M., 2004. Streptacidiphilus jiangxiensis sp. nov., an acidophilic actinomycete isolated from soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54 : 1801–1805.

I

IMADA C., KOSEKI N., KAMATA M., KOBAYASHI T. et HAMADA-SATO N., 2007. Isolation and characterization of antibacterial substances produced by marine actinomycetes in the presence of seawater. Actinomycetologica, 21(1) : 27–31

K

KATZ L. et BALTZ R.H., 2016. Natural product discovery: past, present and future. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 43(2–3) : 155–176.

KHATTABI A., HILALI L., DARI K., ASSOBHEI O. et GAVINI F., 2002. Isolement de microorganismes d'origine marine antagonistes de Yersinia ruckeri et Yersinia pseudotuberculosis. Revue de Biologie et Biotechnologie, 2 : 28–32.

KIM J.E., LEE H.J., CHOI W.S. et al., 2002. Characterization of chitin synthase isoforms in Candida albicans and their role in nikkomycin resistance. Journal of Microbiology and Biotechnology, 12(4) : 567–574.

KIM S.B., GOODFELLOW M. et CHUN J., 2000. Streptomyces thermocoprophilus sp. nov., a thermophilic streptomycete isolated from compost. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 50(5) : 1909–1913.

KIM S.B., SEONG C.N., JEON S.J., BAE K.S. et GOODFELLOW M., 2004. Taxonomic study of neutrotolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil and description of Streptomyces yeochonensis sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54 : 211–214.

KUMAR A., BOHRA C. et SINGH C.K., 2003. Environmental Pollution and Management. New Delhi, pp. 532–534.

L

LARONE D.H., 2018. Medically Important Fungi: A Guide to Identification, 6th Edition, ASM Press, Washington, DC, USA.

LARPENT J.P. et SANGLIER J.J., 1989. Biotechnologie des antibiotiques. Éditions Masson, Paris, 481 p.

LECHEVALIER H.A. et LECHEVALIER M.P., 1967. Biology of actinomycetes. Annual Review of Microbiology, 21 : 71–100.

LECHEVALIER H.A. et LECHEVALIER M.P., 1985. The Actinomycetes: A Practical Guide to Generic Identification. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 4, Williams & Wilkins, Baltimore.

LECHEVALIER M.P., 1981. Ecological associations involving actinomycetes. In : Actinomycetes. Zentralblatt für Bakteriologie, Supplément 11 : 159–166.

LEE J.Y. et HWANG B.K., 2002. Diversity of actinomycetes in soil of different pH and their physiological characteristics. Journal of Microbiology and Biotechnology, 12(5) : 778–785.

LUDWIG W., EUZÉBY J.P., WHITMAN W.B. et al., 2012. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 5: The Actinobacteria. Springer, New York.

LYNCH J.M., 1990. Introduction: Some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. In : The Rhizosphere. Wiley, Chichester, pp. 1–10.

M

MADIGAN M.T., BENDER K.S., BUCKLEY D.H., SATTLEY W.M. et STAHL D.A., 2018. Brock Biology of Microorganisms. 15th Edition, Pearson Education, New York, 1008 p.

MAKKAR N.S. et CROSS T., 1982. Actinomycetes in freshwater sediments and water columns. Journal of General Microbiology.

MARTIN J.K. et KEMP J.R., 1980. Carbon loss from roots of wheat cultivars. Soil Biology and Biochemistry, 12 : 551–554.

MARTIN M.V., 2008. Antifungal agents: mechanism of action and clinical use. Clinical Microbiology Reviews, 21(1) : 119–134.

MINCER T.J., JENSEN P.R., KAUFFMAN C.A. et FENICAL W., 2002. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. Applied and Environmental Microbiology, 68(10) : 5005–5011.

MOULY S. et SELLIER P., 2004. Pharmacologie des antifongiques. EMC, Elsevier Masson, Paris.

N

NAKAEW N.W., PATHOM-AREE W. et LUMYONG S., 2009. Generic diversity of rare actinomycetes from Thai cave soils and their possible use as new bioactive compounds. Actinomycetologica, 23 : 21–26.

NOURDINE N., 2006. Étude de la diversité et des caractéristiques des actinomycètes isolés de sols sahariens. Mémoire de Magister en Microbiologie, École Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie.

O

ODDS F.C., 1995. Candida and Candidosis: A Review and Bibliography. 2nd Ed., Baillière Tindall, London, 468 p.

OXFORD A.E., RAISTRICK H. et SIMONART P., 1939. Studies on Antibiotic Substances Produced by Fungi. Biochemical Journal, 33 : 240–248.

P

PIZZUL L., CASTILLO M.P. et STENSTRÖM J., 2006. Degradation of pesticides and xenobiotic compounds by actinomycetes in soil systems. Applied Microbiology and Biotechnology (référence à compléter).

POURRIAT J.-L. et MARTIN C., 2005. Réanimation médicale. 2e éd., Arnette, Paris, 1216 p.

R

RIPERT C., 2013. Les échinocandines et autres antifongiques récents. Revue Française des Laboratoires, 2013(452) : 45–52.

RIPERT C., 2013. Mycologie médicale. Tec & Doc – Lavoisier, Paris, 690 p.

ROWBOTHAM T.J. et CROSS T., 1977. Ecology of actinomycetes in freshwater systems. Journal of Applied Bacteriology.

S

SINGH S.L., BARUAH I. et BORA T.C., 2006. Actinomycetes of Lake Loktak habitat: Isolation and screening for antimicrobial activities. Biotechnology, 5(2) : 217–221.

SMITH S.E. et READ D.J., 1997. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, London.

SÖDERBERG K.H. et BÅÅTH E., 1998. Bacterial activity along a young barley root measured by the thymidine and leucine incorporation techniques. Soil Biology and Biochemistry, 30(10–11) : 1259–1268.

STAHL E., 1969. Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook, 2nd Edition, Springer-Verlag, Berlin, Germany.

STOTZKY G., 1986. Influence of soil mineral colloids on metabolic processes, growth, adhesion and ecology of microbes and viruses. In : HUANG P.M. & SCHNITZER M. (Eds.), Interactions of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes, pp. 305–428.

WHITFIELD A., 1912. Treatment of Ringworm and Other Fungous Infections of the Skin. H.K. Lewis & Co., London.

T

TILLE P.M., 2017. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 14th Edition, Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, 1152 p.

Z

ZHI X.-Y., LI W.-J. et STACKEBRANDT E., 2009. An update of the genus concept in bacterial taxonomy based on genomic analyses. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 59(1) : 1–7.

Annexes

Composition des milieux des cultures

Sabouraud :

Peptone	10g
Glucose	40g
Agar-agar	15g
Eau distillée	1000ml

ISP2 molle :

Extrait de levure	5g
Extrait de malte	10g
Glucose	5g
Agar	10g
Eau distillée	1000ml

ISP2 liquide :

Glucose	4g
Extrait de levure	4g
Extrait de malte	10g
Eau distillée	1000ml