

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Ghardaia



Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Science biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

**Par : -KOUIDRI Anissa
-KHENE Chaima**

Thème

**Extraction des composés actifs anti-*Candida albicans* d'une souche
d'*Actinomycetota* et étude de leurs stabilités**

Soutenu publiquement, le 16 / juin / 2025, devant le jury composé de :

| | | | |
|----------------------|-------------------------|----------------|----------------------|
| M IDER Soufiane | Maitre de conférences B | Univ. Ghardaïa | Président |
| M. BELGHIT Said | Maitre de conférences A | Univ. Ghardaïa | Directeur de mémoire |
| M. BOURAS Noureddine | Professeur | Univ. Ghardaïa | Examineur |

Année universitaire : 2024-2025

Dédicace

Je remercie tout d'abord, Allah, le tout Puissant et clément, de m'avoir aidé
à réaliser ce travail que je dédie

À ma chère **maman**, qui a œuvré pour ma réussite par son amour, son
soutien, ta présence me donne toujours la force et le courage. Que Dieu te
protège et t'accorde une bonne santé.

À l'âme de mon **père** défunt, même si tu n'es plus là pour voir le fruit de ton
labeur et de tes sacrifices, tu restes à jamais dans mon cœur. Qu'Allah
t'accorde Sa miséricorde et t'accueille dans Son vaste paradis.

À mon adorable sœur **Imane** et à mes chers frères **Amine** et **Ilyes**, merci pour
votre soutien, vos encouragements et votre aide précieuse. Je vous souhaite
plein de succès et de bonheur.

À ma fidèle collègue **Chaima**, avec qui j'ai partagé de merveilleux moments
durant la réalisation de ce travail, merci pour ta collaboration tout au long
de ce parcours.

À mes meilleures amies, **Samia**, **Radia**, **Amina** et **Hamida**, pour leur
accompagnement fidèle, leurs paroles motivantes et leur soutien précieux
durant cette période.

À toutes les personnes qui me sont chères....

Anissa

Dédicace

Avant toute chose, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant, Le Miséricordieux, Le Clément, qui m'a guidé et soutenu tout au long de ce travail de recherche, et qui m'a donné la force et la patience nécessaire pour surmonter les défis et les difficultés. Nous sommes ce qu'Il veut que nous soyons, et nous ne serons que ce qu'Il a décrété.

À ma chère mère Fatima Zahra, véritable pilier de ma vie, depuis le début de mon parcours scolaire jusqu'à aujourd'hui. Tu as toujours été présente par ton soutien, ta tendresse et tes prières. Merci pour tous les sacrifices que tu as faits pour nous. Je prie Dieu de t'accorder longue vie, santé et bien-être, et que je sois toujours à la hauteur de tes espérances.

À mon cher père Boudjemaa, merci pour ton soutien constant, tes conseils éclairés et ta confiance en moi. Ta présence et tes encouragements m'ont toujours motivée à donner le meilleur de moi-même. Que Dieu te protège et te comble de santé et de bonheur.

À ma tante adorée Lalia, qui a été comme une seconde mère pour moi, merci pour ton amour, ton attention et tes prières constantes.

À mes sœurs chéries Khadidja, Oumelkheir et Zineb, ainsi qu'à mes frères Mohamed Ali et Abdelhadi, je vous remercie sincèrement pour votre soutien moral et matériel tout au long de mon parcours.

À ma fidèle collègue Anissa, merci d'avoir partagé avec moi cette aventure dans ses moindres détails. Je te souhaite plein de succès et de réussite.

À ma précieuse amie Hamida, merci pour ton amitié sincère et ton soutien constant dans toutes les circonstances.

Et à toutes les personnes qui m'ont aidée et soutenue dans l'accomplissement de ce travail, je vous exprime ma plus profonde gratitude et reconnaissance.

Chaima

Remerciements

Avant toute chose, nous adressons nos plus sincères remerciements et notre profonde gratitude à Allah, le Tout-Puissant, qui nous a guidés et soutenus tout au long de ce travail de recherche, en nous accordant la force et la patience nécessaires pour surmonter les défis et les difficultés rencontrés.

Nous exprimons notre plus profonde reconnaissance à notre encadrant, Dr. BELGHIT Saïd, pour avoir accepté de superviser notre mémoire de master. Son temps précieux, ses conseils pertinents et ses orientations éclairées ont grandement contribué à la réussite de ce travail. Qu'Allah le récompense généreusement.

Comme le dit si bien le proverbe : « Celui qui ne remercie pas les gens, ne remercie pas Allah. »

C'est pourquoi nous tenons à exprimer notre profonde gratitude aux membres du laboratoire pédagogique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, notamment Bachir BEN SALAH, Ali MOULAY OMAR et Souhila GHEZIAL, pour leur soutien constant, la mise à disposition des équipements nécessaires, ainsi que leur accompagnement technique et moral tout au long de notre parcours.

Nous souhaitons également remercier chaleureusement le Laboratoire Ibn Rochd ainsi que le Dr IDER Soufian pour nous avoir fourni les germes cibles nécessaires à la réalisation de notre travail.

Une partie de notre travail a été effectuée au sein du Laboratoire de Valorisation et de Conservation des Écosystèmes Arides, et nous remercions vivement son directeur, Pr. ALIOUA Youcef, de nous avoir autorisés à accéder au laboratoire.

Nos remerciements s'adressent également au Dr IDER Soufian, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de soutenance, ainsi qu'au Pr BOURAS Noureddine, qui nous a honorés en acceptant d'évaluer notre travail.

Enfin, à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin, et dont les noms n'ont pas été mentionnés par inadvertance, nous adressons nos remerciements les plus sincères.

ملخص

يهدف هذا البحث إلى استخراج المركبات النشطة التي تنتجها السلالة *Actinomycetota S18* والتي تُظهر نشاطاً مثبطاً ضد الخميرة الممرضة *Candida albicans* بالإضافة إلى دراسة مدى ثبات هذه المركبات عند تعرضها لعوامل فيزيائية و كيميائية مختلفة. لقد اقترحت الدراسة المورفولوجية، خصوصاً الدراسة الميكرومورفولوجية، أن هذه السلالة قد تنتمي إلى جنس *Streptomyces*.

أظهرت دراسة حركية إنتاج المستقلبات النشطة في الأوساط السائلة ISP2 و Bennett، التي تم تقييمها باستخدام طريقة الحفر ضد *Candida albicans S1* أن اليوم السابع من الحضانة يمثل ذروة الإنتاج للنشاط المضاد للفطريات وكذلك ضد السلالة المرجعية *Candida albicans ATCC 10231*

تم استخراج هذه المستقلبات باستخدام مذيبات ذات قطبية مختلفة (ثنائي كلور الميثان والبيوتانول)، وأظهرت النتائج أن البيوتانول هو المذيب الوحيد الذي تمكن من استخراج هذه المركبات، حيث بلغت مناطق التشبيط 15 مم ضد *C. albicans S1* و 14 مم ضد *C. albicans ATCC 10231*. أظهرت دراسة ثبات المركبات النشطة أنها مستقرة عند قيم pH 5 و 9، وعند درجة حرارة 50 درجة مئوية وكذلك عند التعرض للضوء، لكن مع انخفاض في النشاط مقارنة بالشاهد.

تم إجراء نصف تنقية للمستخلص البيوتانولي باستخدام تقنية الفصل بالكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة (TLC) باستعمال نظامين من المذيبات. النظام الأول AM (خلات الإيثيل: الميثانول بنسبة 15:100، حجماً إلى حجم) سمح بالكشف عن بقعة نشطة واحدة بواسطة البيو-أوتوغرافيا ضد *C. albicans S1*، برقم Rf قدره 0,41، وقد تم ملاحظتها مسبقاً تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) عند طول موجي 365 نانومتر من خلال فلورة خضراء. أما النظام الثاني BAE (بيوتانول، حمض الأسيتيك: ماء بنسبة 3:3:4، حجماً إلى حجم)، فقد كشف أيضاً عن بقعة نشطة واحدة ضد *C. albicans S1* برقم Rf قدره 0,55، وتم تحديدها تحت الأشعة فوق البنفسجية عند 365 نانومتر من خلال فلورة صفراء.

الكلمات المفتاحية: *Candida albicans*، *Actinomycetota S18*، *Streptomyces*، المستقلبات المضادة للفطريات، الاستخلاص، الكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة، البيو-أوتوغرافيا، ثبات المركبات النشطة.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'extraire les composés actifs produits par la souche d'*Actinomycetota* S18 présentant une activité inhibitrice contre la levure pathogène *Candida albicans*, et d'évaluer la stabilité de ces composés vis-à-vis de différents facteurs physico-chimiques. L'étude morphologique, notamment micromorphologique, a suggéré que cette souche pourrait appartenir au genre *Streptomyces*. La cinétique de production des métabolites actifs, évaluée par la méthode des puits sur milieux liquides ISP2 et Bennett, a montré que le 7^e jour d'incubation correspond à la production maximale de l'activité antifongique contre *Candida albicans* (*C. albicans* S1) ainsi que contre la souche de référence *Candida albicans* ATCC 10231. L'extraction de ces métabolites à l'aide de solvants de polarité différente (dichlorométhane et butanol) a révélé que le butanol est le seul solvant qui a extrait ces métabolites, avec des zones d'inhibition mesurant respectivement 15 mm contre *C. albicans* S1 et 14 mm contre *C. albicans* ATCC 10231. L'étude de la stabilité des composés actifs a montré qu'ils sont stables aux valeurs de pH 5 et 9, à une température de 50 °C ainsi qu'à la lumière. Cependant avec des valeurs inférieures par rapport au témoin. La semi-purification de l'extrait butanolique a été réalisée par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant deux systèmes de solvants. Le premier, AM (acétate d'éthyle : méthanol à 100:15, v/v), a permis de détecter une seule tache active par bio-autographie contre *C. albicans* S1 avec un Rf de 0,41, visualisée auparavant sous UV à 365 nm par une fluorescence verte. Le second système, BAE (butanol, acide acétique : eau à 4:3:3, v/v/v), a également révélé une seule tache active contre *C. albicans* S1 avec un Rf de 0,55, localisée sous UV à 365 nm avec une fluorescence jaune.

Mots clés : *Candida albicans*, *Actinomycetota* S18, *Streptomyces*, métabolites antifongiques, extraction, CCM, bio-autographie, Stabilité

Abstract

The objective of this study is to extract the active compounds produced by the *Actinomycetota* S18 strain, which exhibits inhibitory activity against the pathogenic yeast *Candida albicans*, and to evaluate the stability of these compounds under various physicochemical conditions. Morphological, particularly micromorphological, analysis suggested that this strain may belong to the genus *Streptomyces*. The kinetics of active metabolite production, evaluated using the well diffusion method on ISP2 and Bennett liquid media, indicated that the seventh day of incubation corresponds to the maximum antifungal activity against *Candida albicans* (*C. albicans* S1) as well as the reference strain *Candida albicans* ATCC 10231. Extraction of these metabolites using solvents of different polarities (dichloromethane and butanol) revealed that butanol was the only solvent capable of extracting these compounds, with inhibition zones measuring 15 mm against *C. albicans* S1 and 14 mm against *C. albicans* ATCC 10231.

The stability study of the active compounds showed that they remained stable at pH 5 and 9, at a temperature of 50°C, and under light exposure, although with reduced activity compared to the control. Semi-purification of the butanolic extract was performed using thin-layer chromatography (TLC) with two solvent systems. The first system, AM (ethyl acetate: methanol at 100:15, v/v), allowed the detection of a single active spot by bioautography against *C. albicans* S1 with an R_f of 0.41, previously visualized under UV light at 365 nm as a green fluorescence. The second system, BAE (butanol, acetic acid: water at 4:3:3, v/v/v), also revealed a single active spot against CaS1 with an R_f of 0.55, visualized under UV light at 365 nm as a yellow fluorescence.

Keywords: *Candida albicans*, *Actinomycetota* S18, *Streptomyces*, antifungal metabolites, extraction, TLC, bioautography, stability.

Listes des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Précultures de la souche S18 sur milieux liquides ISP2 et Bennett. | 8 |
| Figure 2. Etapes de la cinétique de production des composés actifs anti- <i>Candida albicans</i> de la souche S18. | 9 |
| Figure 3. Les étapes d'extraction des composés actifs anti- <i>Candida albicans</i> . | 11 |
| Figure 4. Macromorphologie de la souche d' <i>Actinomycetota</i> S18 | 14 |
| Figure 5. Micromorphologie de la souche d' <i>Actinomycetota</i> S18 sous microscope optique au grossissement 10x40 | 14 |
| Figure 6. Cinétique de production des composés actifs anti- <i>Candida albicans</i> S1 de la souche S18 en milieux ISP2 et Bennett. | 15 |
| Figure 7. Cinétique de production des composés actifs anti- <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 de la souche S18 en milieux ISP2 et Bennett. | 15 |
| Figure 8. Activité anti- <i>Candida albicans</i> de la souche S18 (méthode des puits). | 16 |
| Figure 9. Cinétiques de croissance et de pH de la souche S18 dans les milieux ISP2 et Bennett. | 16 |
| Figure 10. Activité anti- <i>Candida albicans</i> des extraits organiques de la souche S18 | 17 |
| Figure 11. Teste d'antibiogramme des extraits organiques des solvants contre <i>C.albicans</i> S1 et <i>C.albicans</i> ATCC 10231. | 17 |
| Figure 12. Influence du pH sur l'activité anti- <i>Candida albicans</i> du filtrat de l'isolat S18. | 18 |
| Figure 13. Activité anti- <i>Candida albicans</i> du filtrat de l'isolat S18. | 18 |
| Figure 14. Influence de la température sur l'activité anti- <i>Candida albicans</i> du filtrat de l'isolat S18. | 19 |
| Figure 15. Activité anti- <i>Candida albicans</i> du filtrat de l'isolat S18. | 19 |
| Figure 16. Influence du la lumière sur l'activité anti- <i>Candida albicans</i> du filtrat de l'isolat S18. | 20 |
| Figure 17. Séparation des fractions actives par CCM. | 20 |
| Figure 18. Bioautographie de l'extrait butanol du filtrat de culture ISP2 et Bennett de S18. | 21 |

Liste des abréviations

| | |
|---------------|--|
| ISP2 : | International <i>Streptomyce</i> Project 2 |
| ML : | millilitre |
| pH: | potentiel d'Hydrogène |
| RPM: | rotation par minute |
| ATCC: | American Type Culture Collection |
| MA: | Mycélium Aérien |
| MS: | Mycélium Substrat |
| S1: | Souche clinique |
| G : | gramme |
| C.a : | <i>Candida albicans</i> |
| BAE : | Butanol-acide acétique-eau |
| AM : | Acétate d'éthyle - Méthanol |
| V : | Volume |
| Cm : | Centimètre |
| Rf : | Rapport frontal |
| RMN : | Résonance Magnétique Nucléaire |
| CCM: | Chromatographie sur Couche Mince |

Table de matières

Dédicaces

Remerciement

ملخص

Résumé Fr

Abstract

Sommaire

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Matériel et méthodes

1.- L'isolement de la souche d'*Actinomycetota* S18..... 8

2. Etude morphologique de la souche S18..... 8

3. Cinétique de production d'antifongiques en fioles agitées..... 8

3.1. Préparation des précultures..... 8

3.2. Culture de la souche S18 et suivi de production d'antifongiques..... 9

3.3. Mesure de la biomasse et du pH..... 10

4. Extraction des composés actifs anti-candida et test d'antibiographie..... 10

5. Etude de la stabilité des activités anti-*Candida*..... 11

5.1. Stabilité en fonction du pH..... 11

5.2. Stabilité en fonction de température..... 11

5.3. Stabilité en fonction de lumière..... 12

6. Détection des fractions actives..... 12

6.1. Chromatographie sur Couches Minces (CCM)..... 12

6.2. Révélation microbiologique des chromatogrammes..... 12

Résultats et discussion

1. Résultats :..... 14

1.1. Morphologie de la souche d'*Actinomycetota* S18..... 14

1.2. Cinétiques de production des composés actifs anti-*Candida albicans*..... 15

1.3.- Cinétique de croissance et du pH de la souche S18..... 16

1.4. Extraction des activités anti-*Candida albicans*..... 17

1.5. Etude de la stabilité des activités anti-*Candida albicans*..... 18

| | |
|--|----|
| 1.5.1. Stabilité en fonction du pH..... | 18 |
| 1.5.2. Stabilité en fonction du la température..... | 18 |
| 1.5.3. Stabilité en fonction du la lumière..... | 19 |
| 1.4. Détection des fractions actives | 20 |
| 1.4.1. Semi purification par CCM..... | 20 |
| 1.4.2. Révélation microbiologique des chromatogrammes..... | 21 |
| Discussion | 22 |
| Conclusion | 24 |
| Références bibliographiques | 25 |

INTRODUCTION

Depuis des millénaires, les humains exploitent les microorganismes (bactéries, levures et moisissures) pour fabriquer des produits tels que le pain, la bière, le fromage, et bien d'autres. Ces microorganismes, présents partout dans notre environnement (sol, air et eau) et dans certains des aliments que nous consommons, occupent un rôle croissant dans nos vies et sont à la base de l'essor de la biotechnologie (**Smaoui, 2010**). Parmi les micro-organismes, les *Actinomycetota*.

En 2021, **Oren et Garrity** ont proposé de renommer formellement le phylum *Actinobacteria* en *Actinomycetota*, afin de se conformer à la norme internationale qui recommande le suffixe « -ota » pour les noms de phyla selon le Code International de Nomenclature des Procaryotes (ICNP). Ce changement s'inscrit dans un effort plus large visant à harmoniser la taxonomie bactérienne avec les conventions de dénomination actualisées. Les *Actinomycetota* sont reconnus pour leur capacité à produire des composés bioactifs d'une grande valeur commerciale et font l'objet d'études continues en vue de la découverte de nouvelles substances bioactives (**Hasnaa et al., 2018**).

D'un point de vue étymologique, le terme "*Actinomycetota*" vient du genre type *Actinomyces*, auquel s'ajoute le suffixe "-ota" pour désigner un phylum. "*Actinomyces*" lui-même est formé de deux mots grecs: « aktis », signifiant « rayon », et « mykès », signifiant « champignon », d'où l'expression « champignons rayonnants ». Sur le plan taxonomique, les *Actinomycetota* sont traditionnellement considérés comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et les champignons (**Rammali, 2022**).

Actinomycetota constituent un groupe de bactéries classées dans l'ordre des Actinomycetales, formant un groupe taxonomique distinct au sein du domaine bactérien. Bien qu'ils présentent des caractéristiques morphologiques communes avec les champignons, ils se distinguent par leurs propriétés spécifiques (**Zamir et al., 2023**).

Il englobe 6 classes, 22 ordres, 54 familles, 250 genres et environ 3000 espèces (**Hazarika et Thakur, 2020**). Leur génome se distingue par une proportion élevée de bases guanine et cytosine, dépassant généralement les 55 % (**panedy et al., 2018**). Ce sont des Bactéries filamenteuses, aérobies et Gram-positives, capables de former des spores, et largement réparties dans les écosystèmes naturels (**Ullah et al., 2022**). Beaucoup plus abondants dans le sol que dans les autres environnements écologiques, tels que les eaux douces ou salées, ou encore l'air. Cette abondance est particulièrement marquée dans les sols alcalins et ceux riches en matière organique (**Rammali, 2022**). La densité et la diversité des *Actinomycetota* varient en fonction de leur environnement et des conditions climatiques qui les affectent (**Hazarika et Thakur, 2020**).

L'exploration des écosystèmes soumis à des conditions environnementales extrêmes constitue une approche prometteuse pour la découverte de nouveaux producteurs de composés bioactifs. Ainsi, les recherches récentes se concentrent principalement sur le criblage et l'isolement des actinomycètes issus d'habitats encore inexploités (**Harir et al., 2017**).

Le désert du Sahara, l'un des écosystèmes les plus extrêmes de la planète, représente une source encore inexplorée de micro-organismes tels que les bactéries filamenteuses (**Boudjelal et al., 2023**). Plus particulièrement, les sols du Sahara algérien constituent des écosystèmes uniques. Leur étude approfondie a révélé une biodiversité exceptionnelle, notamment en ce qui concerne les *Actinomycetota* rares (**Boudjella et al., 2014**).

Les *Actinomycetota* représentent l'un des groupes dominants au sein de la microflore tellurique. Elles possèdent la capacité de dégrader des résidus organiques particulièrement résistants, tels que les composés lignocellulosiques et la chitine, jouant ainsi un rôle essentiel dans l'amélioration de la fertilité des sols. En outre, grâce à leurs propriétés antagonistes vis-à-vis de nombreux agents phytopathogènes, les *Actinomycetota* sont largement exploitées dans les stratégies de lutte biologique pour la protection des cultures contre les maladies d'origine fongique et bactérienne (**Bouali et al., 2017**).

Les *Actinomycetota* se distinguent comme les plus grands producteurs d'antibiotiques du monde vivant, à l'origine de plus des deux tiers des antibiotiques connus, tels que l'actinomycine, la streptomycine ou la néomycine. Outre ces composés, ils synthétisent une vaste gamme d'enzymes industrielles utilisées en agroalimentaire, médecine, vétérinaire et chimie (glucose isomérase, cholestérol oxydase, protéases, etc.). Ils génèrent également des molécules à potentiel thérapeutique élevé : antiviraux, neuroprotecteurs, antihistaminiques, ainsi que de puissants inhibiteurs enzymatiques. Environ 20 % de leurs antibiotiques présentent une activité antifongique, tandis que les autres démontrent des propriétés variées : antibactériennes, antivirales, antitumorales, insecticides ou anthelminthiques (**Benatti, 2020**).

Selon le manuel de **Bergey (2012)**, l'étude morphologique des *Actinomycetota* inclut des caractères culturels macromorphologiques et micromorphologiques. L'analyse macromorphologique porte sur la présence ou non d'un mycélium aérien (MA) et de mycélium de substrat (MS), leur couleur, ainsi que la production de pigments diffusibles. L'étude micromorphologique examine la fragmentation du MS, la formation de spores exogènes sur le MA et/ou le MS (en termes de forme, taille, agencement), la présence de sporophores, ainsi que la surface des spores. Elle analyse également la présence de sporanges sur le MA ou MS, leur forme, taille, nombre de spores et longueur des sporangiophores, la mobilité des spores.

La classification chimiotaxonomique repose sur l'analyse des composants chimiques cellulaires tels que les acides aminés, les lipides, les quinones, les sucres et les phospholipides pour regrouper les actinomycètes selon leurs similitudes biochimiques. La structure du peptidoglycane, notamment la présence d'isomères de l'acide diaminopimélique (DAP), permet de différencier les genres. Les profils d'acides gras, de ménaquinones et de phospholipides sont également utiles pour l'identification. La composition en sucres de la paroi cellulaire permet de classer les actinomycètes en groupes distincts (**Barka et al., 2016**).

Environ 70 % des antibiotiques connus sont produits par des actinomycètes filamenteux, notamment par des membres du genre *Streptomyces* (**Donald et al., 2022**).

Le genre *Streptomyces* regroupe des bactéries filamenteuses à Gram positif, strictement aérobies, largement présentes dans les sols. Elles présentent un cycle de vie complexe pour des procaryotes, alternant entre une forme sporulée résistante et un mycélium végétatif actif dans la colonisation. L'intérêt majeur pour ces bactéries réside dans leur métabolisme secondaire particulièrement riche, source de nombreuses molécules bioactives. Historiquement, cet intérêt s'est d'abord manifesté durant l'âge d'or des antibiotiques, où de nombreuses substances encore utilisées aujourd'hui furent isolées à partir de *Streptomyces*. Plus récemment, le séquençage de leurs génomes a révélé un potentiel métabolique bien plus vaste que prévu, ouvrant la voie à la découverte de nouveaux composés d'intérêt pharmaceutique et biotechnologie (**Hass, 2015**).

Le genre *Streptomyces* est le plus grand et se trouve principalement dans les environnements terrestres. On estime que 90 % des Actinomycetota extraites du sol appartiennent à ce genre, comprenant des espèces telles que *Streptomyces kanamyceticus*, *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces antibioticus*, *Streptomyces venezuelae*, *Streptomyces ambofaciens*, *Streptomyces lincolnensis*, *Streptomyces roseosporus*, et *Actinoplanin teichomyceticus*, qui sont connues pour produire des antibiotiques importants (**Ullah et al., 2022**). Les espèces de *Streptomyces* présentent une réaction Gram positive. Leur ADN présente une valeur GC de 69 à 78 %. Le genre *Streptomyces* comprend actuellement 1336 espèces et 78 sous espèces (**Euzeby, 2025**).

Même si les micro-organismes présentent de nombreux avantages, certains d'entre eux représentent des menaces importantes pour l'humanité, notamment les bactéries, les levures unicellulaires et les champignons filamenteux pathogènes pour l'homme. Actuellement, un défi majeur auquel nous sommes confrontés est l'augmentation de la résistance de ces micro-organismes pathogènes aux antibiotiques et antifongiques conventionnelles (**Smaoui, 2010**).

Bien que les infections fongiques soient relativement rares chez les individus sains et immunocompétents, tant chez l'homme que chez l'animal, par rapport aux infections

bactériennes et virales, les propagules fongiques sont omniprésentes dans l'environnement, rendant tout contact inévitable. Toutefois, malgré leur faible prévalence, une augmentation des maladies fongiques récalcitrantes et récurrentes, causées par des pathogènes véritables et opportunistes, a été observée à l'échelle mondiale au cours des dernières décennies, tant chez les humains que chez les animaux (**Gnat et al., 2021**).

Ces dernières années, la mycologie médicale a pris une importance croissante en raison de l'émergence de nouvelles espèces fongiques pathogènes, notamment les levures et les moisissures. L'ensemble de la situation concernant l'épidémiologie des infections fongiques a subi un changement de paradigme. Auparavant, les isolats fongiques, considérés principalement comme non pathogènes et des contaminants de laboratoire, ont désormais prouvé qu'ils étaient de véritables pathogènes et des agents étiologiques de diverses infections fongiques émergentes et opportunistes (**Mohanty et al., 2021**).

Ces infections fongiques, responsables de plus de 90 % des décès signalés, sont principalement causées par des espèces des genres *Cryptococcus*, *Candida* et *Aspergillus* (**Cowen et al., 2015**).

Candida albicans est une levure commensale du tube digestif humain, mais aussi un pathogène opportuniste capable de provoquer des infections dont la sévérité dépend de l'état immunitaire de l'hôte. Elle est responsable d'infections sévères des muqueuses ainsi que de candidoses invasives potentiellement mortelles chez les patients immunodéprimés, avec un taux de mortalité pouvant atteindre 50 %. Lors de son interaction avec l'hôte, *C. albicans* doit faire face à divers stress environnementaux et immunitaires, nécessitant une grande capacité d'adaptation. Elle est majoritairement diploïde, bien que des formes haploïdes, tétraploïdes et aneuploïdes aient été observées in vitro et in vivo (**Sitterlé, 2018**). Sa classification taxonomique de *Candida albicans* est la suivante (**Mir et al., 2022**):

Règne : Fungi (Champignons)

Division : *Ascomycota*

Classe : *Saccharomycetes*

Ordre : *Saccharomycetales*

Famille : *Saccharomycetaceae*

Genre : *Candida*

Espèce : *Candida albicans*

Les candidoses, causées par des levures du genre *Candida*, sont les infections opportunistes les plus courantes. Elles représentent aujourd'hui plus de 80 % des infections fongiques à levures. Parmi celles-ci, l'infection par *Candida albicans*, une levure commensale du tractus digestif humain, est la plus fréquente, représentant plus de 60 % des levures isolées chez

l'homme. En conséquence, *Candida albicans* est responsable d'infections qui, en raison de leur fréquence et de leur gravité, se classent parmi les infections fongiques les plus courantes et les plus sérieuses (**Lagane, 2007**).

Sur le plan clinique, Les candidoses superficielles sont les manifestations les plus communes et sont très variées. Les endroits les plus fréquemment atteints sont les surfaces épidermiques humides (plis), les ongles, les muqueuses du tractus digestif (cavité buccale, pharynx, œsophage, intestins), les muqueuses du système urinaire et les muqueuses vaginales. (**Monniot, 2012**). Cependant l'infection invasive causée par les espèces de *Candida* est principalement liée aux avancées médicales et est largement considérée comme une cause majeure de morbidité et de mortalité dans les milieux hospitaliers (**Pappas et al., 2016**). La candidose systémique est la manifestation la plus grave de l'infection à *Candida*. Elle peut résulter d'une contamination exogène, comme les perfusions ou les interventions chirurgicales, ou être la conséquence du passage dans le sang et les organes profonds de levures ayant colonisé les sites digestifs ou génito-urinaires. Cette forme de candidose correspond à la septicémie à *Candida* (candidémie) ou à un foyer candidosique profond, provoquant des lésions viscérales (**Tamo, 2020**).

En ce moment, les chercheurs s'investissent activement dans le développement de nouvelles approches thérapeutiques ciblant différents aspects des infections fongiques. Une collaboration croissante entre les sociétés pharmaceutiques et les chercheurs vise à découvrir de nouveaux agents antifongiques, à la fois plus efficaces et moins agressifs. Dans de nombreux établissements hospitaliers, les échinocandines sont privilégiées pour le traitement des infections fongiques sévères, malgré un arsenal thérapeutique limité comparé à celui des antibiotiques. Toutefois, des rapports récents signalent une inquiétude grandissante face à l'émergence de résistances à ces traitements, compromettant leur efficacité. Cette situation met en évidence l'urgence de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour faire face à ces défis (**Khodja et al., 2023**).

Actuellement, les antifongiques utilisés en thérapie ne répondent pas aux critères de l'antibiotique idéal tels que définis par (**Aouiche et al., 2012**) en effet, ils présentent une toxicité qui n'est pas toujours spécifique au champignon pathogène, une diffusion parfois limitée dans l'organisme, des risques d'apparition de souches résistantes, ainsi que des effets secondaires indésirables. Cette situation souligne la nécessité impérieuse de développer de nouveaux antifongiques à la fois efficaces et dénués de toxicité.

La résistance des espèces de *Candida* aux antifongiques résulte d'une adaptation multifactorielle. Les principaux mécanismes incluent la modification de la membrane ou de la paroi cellulaire, empêchant l'entrée du médicament. La surexpression des pompes d'efflux réduit la concentration intracellulaire de l'antifongique. D'autres mécanismes impliquent la modification ou la surexpression de la cible médicamenteuse, ainsi que des mutations dans les voies de biosynthèse permettant de contourner l'effet du traitement. Enfin, certaines souches peuvent inactiver ou dégrader directement la molécule antifongique, illustrant ainsi une remarquable plasticité adaptative (**Belghit, 2016**).

Les infections causées par *Candida albicans* sont généralement traitées par des antifongiques tels que les azolés, les échinocandines et les polyènes. Cependant, l'efficacité de ces traitements diminue, notamment en présence de biofilms de *C. albicans*. La résistance aux antifongiques, en croissance constante, représente un problème majeur, touchant aussi d'autres espèces comme *C. auris*, *C. glabrata* et *C. parapsilosis*. Cette résistance peut être clinique (échec du traitement malgré une sensibilité *in vitro*) ou mycologique (capacité du champignon à se développer malgré la présence du médicament). De plus, les antifongiques actuels présentent des limites : toxicité rénale pour les polyènes, administration uniquement intraveineuse pour les échinocandines, et problèmes d'absorption ou de toxicité pour certains thiazolés (**Macias-Paz et al., 2023**).

Selon **Hulin et al. (2005)**, les antifongiques agissent principalement selon quatre mécanismes d'action :

- altération du fonctionnement de la membrane cellulaire (ex: l'amphotéricine B);
- inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN (ex: la flucytosine);
- inhibition de la synthèse de l'ergostérol nécessaire à la formation de la membrane de la cellule fongique (ex: les dérivés azolés,);
- inhibition de la synthèse des glucanes de la paroi cellulaire (ex: les échinocandines).

L'amphotéricine B a longtemps été considérée comme le traitement de référence des infections fongiques, notamment face aux azolés. Il se lie spécifiquement à l'ergostérol présent dans la membrane des cellules fongiques provoquant la formation de canaux ou pores dans la membrane cellulaire du champignon. À ce jour, aucune molécule nouvelle n'a démontré une supériorité en termes d'efficacité par rapport à l'amphotéricine B. Toutefois, l'ensemble des études souligne une toxicité rénale significativement plus élevée avec ce traitement, y compris sous sa forme liposomale (**Mora-Duarte et al., 2002 ; Kuse et al., 2007**).

La majorité des études ayant validé l'efficacité du fluconazole (**Rex et al., 1994**), de la caspofongine (**Mora-Duarte et al., 2002**), de la micafungine (**Kuse et al., 2007**) et du

voriconazole (**Kullberg et al., 2005**) sont basées sur une démonstration de non-infériorité par rapport à un traitement de référence.

Seule une étude a mis en évidence la supériorité de l'anidulafongine par rapport au fluconazole (**Reboli et al., 2007**). Dans un sous-groupe de patients atteints d'une infection à *Candida albicans* sensible aux deux traitements, l'anidulafongine, de nature fongicide, s'est révélée plus efficace que le fluconazole, de nature fongistatique, sans pour autant qu'une différence significative en termes de mortalité ne soit observée.

L'amphotéricine B est considérée comme l'un des antifongiques les plus efficaces pour traiter la majorité des mycoses. Toutefois, son utilisation est associée à des effets secondaires indésirables, notamment une toxicité rénale. En revanche, les antifongiques de la classe des azolés, bien qu'ils présentent une toxicité plus faible, montrent une efficacité restreinte dans le traitement de certaines infections fongiques. De plus, il a été constaté une augmentation de la fréquence des souches résistantes à plusieurs azoles, notamment parmi les espèces de *Candida* autres que *Candida albicans* (**Kitouni, 2005**).

Les recherches actuelles se concentrent sur l'exploration de réservoirs naturels potentiels, incluant les plantes, les animaux et les micro-organismes, dans le but d'identifier des composés de référence basés sur leurs structures moléculaires fonctionnelles. La découverte de composés fonctionnels à des fins thérapeutiques reste un défi majeur pour l'industrie, surtout face à l'augmentation continue des maladies infectieuses (**Rante et al., 2024**).

Dans ce contexte, notre étude se focalise sur l'extraction et la semi-purification des composés actifs à activité anti-*Candida albicans* issus d'une souche d'Actinomycetota dénommée S18. Cette souche a été isolée en 2024 par Zehouani et Moulay Omar à partir d'un échantillon de sol prélevé dans la région de Souareg, située à Metlili, wilaya de Ghardaïa.

Nous avons structuré notre manuscrit en quatre chapitres, en suivant la méthodologie IMRAD, comme suit :

Dans le premier chapitre, nous avons commencé par une introduction détaillée comprenant un aperçu général sur l'Actinomycetota, le genre *Streptomyces* ainsi qu'une présentation sur *Candida albicans* et les antifongiques utilisés en thérapeutique.

Le deuxième chapitre décrit le matériel utilisé et présente une description détaillée des méthodes appliquées dans notre travail expérimental, notamment l'extraction de l'activité antifongique et l'étude de la stabilité.

Nous présentons ensuite nos résultats dans la section correspondante, puis nous les analysons et les interprétons dans la partie discussion avant de conclure notre manuscrit avec une conclusion et des perspectives pour les études ultérieures.

***MATERIEL ET
METHODES***

1.- L'isolement de la souche d'Actinomycetota S18

La souche d'*Actinomycetota* concernée par cette étude est nommée S18. Elle a été isolée en 2024 par les étudiantes en Master de microbiologie Zehouani et Moulay Omar, au sein du laboratoire pédagogique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre. L'isolement de cette souche a été réalisé à partir d'un échantillon de sol prélevé dans une région appelée Souareg, située dans la commune de Metlili, en utilisant le milieu chitine-agar supplémenté par l'antibiotique pénicilline et la méthode de dilution en suspension (la dilution d'isolement est 10^{-2}). Cette souche a été sélectionnée sur la base de son activité antifongique, testée par la méthode des stries croisées.

2.- Etude morphologique de la souche S18

2.1.- Macromorphologie :

La souche S18 a été ensemencée par la méthode des stries sur le milieu solide ISP2 (**Shirling et Gottlieb, 1966**). Les couleurs des mécyliia ont été déterminées par une charte de couleurs (Color Name chart illustrated with centroid color ISSCC-NBS).

2.2.- Micromorphologie :

Les souches S18 a été observée sur le milieu ISP2 à l'aide d'un microscope photonique aux grossissements (100 et 400). Ces observations sont faites directement sur les boîtes de Pétri dans le but d'étudier le mycélium en place sans altérer sa structure.

Les principaux caractères notés sont : l'emplacement des spores sur le mycélium aérien, leur agencement (isolées, en chaînes droites ou spiralées, etc.), et la fragmentation ou non du mycélium du substrat.

3. Cinétique de production d'antifongiques en fioles agitées

3.1. Préparation des précultures

Une préculture de 2 jours est préparée dans des tubes à essai contenant 3 mL de culture (ISP2 ou Bennett). Chaque tube est ensemencé par un inoculum d'une culture poussant sur milieu solide et âgée de 10 jours. Les tubes sont mis sous agitation continue à 250 rpm.

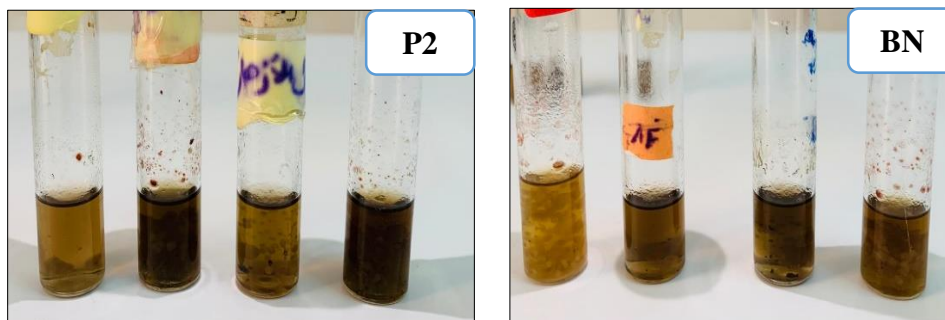


Figure 1. Pré-cultures de la souche S18 sur milieux liquides ISP2 et Bennett.

3.2. Culture de la souche S18 et suivi de production d'antifongiques

La cinétique de production d'antibiotiques a été suivie pendant 10 jours. Elle a pour but de déterminer le temps nécessaire pour qu'elle soit maximale. Pour cela, des Erlenmeyers (de 500 mL) contenant chacun 100 mL de l'un des 2 milieux (ISP2 ou Bennett), sont ensemencés par la préculture correspondante à raison de 3% et incubés à 30°C sous agitation rotative à 250 rpm. Des prélèvements quotidiens (200 µl) sont effectués afin de mesurer la production d'antibiotiques contre les souches *Candida albicans* S1 et *Candida albicans* ATCC 10231. La technique de mesure utilisée est celle des puits. Ces derniers ont été réalisés grâce à un emporte-pièce en cuivre (de 10 mm de diamètre) stérile sur le milieu ISP2 semi solide (10 g d'agar par litre de milieu), coulé dans des boîtes de Pétri et préalablement ensemencé par le germe cible. Une fois les puits sont prêts, la quantité aliquote (200 µL) est déposée dans le fond du puits. Les boîtes de Pétri sont mises à 4°C pendant 2 heures pour permettre la diffusion des substances actives, tout en arrêtant momentanément la croissance des germes tests, puis incubées pendant 24 heures à 48 heures à 30°C. Le diamètre des zones d'inhibition est alors mesuré par une règle millimétrée (Boudjelle, 2007).



Figure 2. Etapes de la cinétique de production des composés actifs anti-*candida albicans* de la souche S18.

3.3. Mesure de la biomasse et du pH

L'évolution de la biomasse est suivie par la mesure du poids sec pendant 10 jours. Pour cela, 2 mL de culture sont prélevés dans un tube en verre à hémolyse préalablement taré à sec et centrifugés à 5000 rpm pendant 10 min. Le surnageant est recueilli pour la mesure du pH et le culot mycélien est lavé deux fois à l'eau distillée. Après séchage dans un four à 100°C pendant 24 h, le tube est repesé et le poids sec est calculé.

4. Extraction des composés actifs anti-candida et test d'antibiogramme

L'extraction des composés actifs anti-Candida à partir des filtrats de culture a été réalisée à l'aide de solvants non miscibles à l'eau et de polarités différentes, à savoir le dichlorométhane et le n-butanol. Ainsi, 200 mL de filtrat de chaque milieu de culture de chaque souche ont été répartis en deux lots de 100 mL. Un volume équivalent de chaque solvant a été ajouté dans une ampoule à décanter. Les phases organiques ont été récupérées, puis déshydratées en les faisant passer à travers un filtre contenant du sulfate de sodium anhydre. Les solvants organiques ont ensuite été évaporés à 40 °C sous vide à l'aide d'un rotavapeur Heidolph Hei-VAP.

Les résidus secs obtenus ont été solubilisés dans du méthanol, transvasés dans des piluliers, séchés, puis conservés à 4 °C. Avant les tests, les résidus ont été repris dans 200 µL de méthanol. L'activité antibiotique a été évaluée par la méthode des disques sur papier filtre Whatman n°3 (6 mm de diamètre). Les disques ont été imprégnés de 70 µL d'extrait organique, séchés jusqu'à évaporation complète du solvant (méthanol), puis stérilisés sous UV à 254 nm pendant 45 minutes. Les disques stérilisés ont été déposés aseptiquement à la surface du milieu ISP2 semi-solide préalablement ensemencé avec les souches cibles : *Candida albicans* S1 et *Candida albicans* ATCC 10231. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 4 °C pendant 2 heures pour permettre la diffusion des substances actives tout en inhibant temporairement la croissance des souches cibles, puis incubées à 30 °C pendant 24 heures. L'activité antibiotique a été évaluée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition formées autour des disques (Boudjelle, 2007).





Figure 3. Les étapes d'extraction des composés actifs anti-*Candida albicans*.

a : Culture liquide ; **b** : Séparation du filtrat de la biomasse ; **c** : Mélange du solvant avec le filtrat et séparation des deux phases aqueuse et organique ; **d** : Séchage au rota-vapeur ; **e** : Extraits bruts.

5. Etude de la stabilité des activités anti-candida

Avant d'entreprendre la purification des fractions actives, nous avons souhaité évaluer la stabilité de l'activité en fonction de certains facteurs physico-chimiques, tels que le pH, la température, l'exposition à la lumière ainsi que le mode de conservation (congélation). L'activité antibiotique des échantillons ainsi traités a été testée par la technique d'antibiogramme vis-à-vis de la souche, *Candida albicans* S1.

5.1. Stabilité en fonction du pH

Des fractions de 5 mL de surnageant concentré à 50 % ont été ajustées à différents pH (3, 5, 7, 9 et 12) à l'aide de solutions de NaOH (0,1 N et 1 N) ou de HCl (0,1 N et 1 N). Après une incubation de 24 heures à 20 °C, les pH ont été ramenés à la neutralité. L'activité antibiotique des extraits ainsi traités a ensuite été évaluée par la méthode des disques (antibiogramme) (Lertcanawanichakul et Sahabuddeen, 2023).

5.2. Stabilité en fonction de la température

Des fractions de 5 mL de surnageant concentré à 50 %, préalablement ajustées aux conditions optimales de pH d'activité, ont été soumises à différents traitements thermiques : 60 minutes à 50 °C, 30 minutes à 70 °C, 15 minutes à 100 °C et 10 minutes à 120 °C (autoclavage). Après traitement, les échantillons ont été refroidis à température ambiante, puis leur activité antifongique a été testée contre *Candida albicans* S1 (Lertcanawanichakul et Sahabuddeen, 2023).

5.3. Stabilité en fonction de la lumière

Des tubes contenant chacun 5 mL de surnageant concentré à 50 %, maintenus à leur pH optimal et à une température de 20 °C, ont été exposés à la lumière d'une lampe de 100 W placée à une distance de 50 cm. Après 24 heures d'exposition, l'activité antifongique a été testée contre les germes cibles et comparée à celle des témoins : l'un conservé à l'obscurité et l'autre exposé à la lumière du jour (Belghit, 2016).

6. Détection des fractions actives

6.1. Chromatographie sur Couches Minces (CCM)

Des plaques de chromatographie sur couche mince (CCM) de dimensions 20 x 10 cm ont été séchées à 40 °C pendant une nuit, puis réactivées pendant une heure à 105 °C juste avant utilisation. Les extraits organiques ont été déposés sur les plaques à raison de 50 µL prélevés à partir d'un volume initial de 1 mL, à l'aide d'une microsiringue, sous forme de spots appliqués par petites fractions, à 2 cm du bord inférieur des plaques. Les plaques préparées ont ensuite été placées dans une cuve de chromatographie dont l'atmosphère avait été préalablement saturée avec le système de solvant choisi. Deux systèmes de solvants ont été testés :

BAE : Butanol - Acide acétique - Eau (4:3:3, v/v/v)

AM : Acétate d'éthyle - Méthanol (100:15, v/v)

L'objectif était de sélectionner le système offrant la meilleure séparation entre les taches actives et non actives. La chromatographie a été arrêtée lorsque le front du solvant était situé à 2 cm du bord supérieur des plaques.

Après séchage sous une hotte, les chromatogrammes ont été observés à l'œil nu et sous lumière UV, afin de localiser les taches présentant une fluorescence à 365 nm (Boudjella, 2007).

6.2. Révélation microbiologique des chromatogrammes

La révélation microbiologique des antibiotiques, également appelée bioautographie (Betina, 1973), permet de localiser les taches actives sur le chromatogramme, de déterminer leur nombre ainsi que leur rapport frontal (Rf). Après élimination des traces de solvant par séchage des plaques sous hotte pendant une nuit, le chromatogramme est déposé sur un support en verre, lui-même placé dans une boîte en polyéthylène (22 x 24 cm) préalablement nettoyée à l'alcool. Un papier filtre imbibé d'eau stérile est disposé à la base de la boîte afin de maintenir une atmosphère humide et d'éviter la dessiccation prématurée de la gélose pendant l'incubation. L'ensemble du dispositif est stérilisé sous UV à 254 nm pendant 45 minutes.

Ensuite, 50 mL de milieu ISP2 semi-solide (7 g/L d'agar), maintenu en fusion à 45-50 °C et inoculé avec 90 µL d'une suspension de *Candida albicans* S1, sont répartis uniformément sur le chromatogramme à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Après solidification de la gélose, la boîte est placée à 4 °C pendant 2 heures pour favoriser la diffusion des substances actives, puis incubée à 30 °C.

La levure cible se développe sur toute la surface de la plaque, à l'exception des zones où les substances actives sont présentes, formant des zones d'inhibition visibles à l'œil nu sous forme d'auréoles claires.

La lecture des résultats est effectuée après 48 heures d'incubation. Le rapport frontal (Rf) de chaque tache active est ensuite déterminé selon la formule suivante :

$$\mathbf{RF} = \frac{\text{Distance de migration entre le dépôt et la tâche active}}{\text{Distance de migration entre le dépôt et le front du solvant}}$$

***RESULTATS ET
DISCUSSION***

1. Résultats :

1.1.– Morphologie de la souche d'*Actinomycetota* S18

La figure 4 illustre la macromorphologie des colonies de la souche *Actinomycetota* S18 cultivée sur milieu ISP2 après une incubation de 10 jours à 30 °C. Les colonies présentent un mycélium aérien de couleur rose blanchâtre et un mycélium de substrat de couleur brun foncé. Elles sont avec des tailles variables, des contours irréguliers et aspect rugueux. Des pigments diffusibles dans le milieu ont été détecté de couleur jaune foncé.

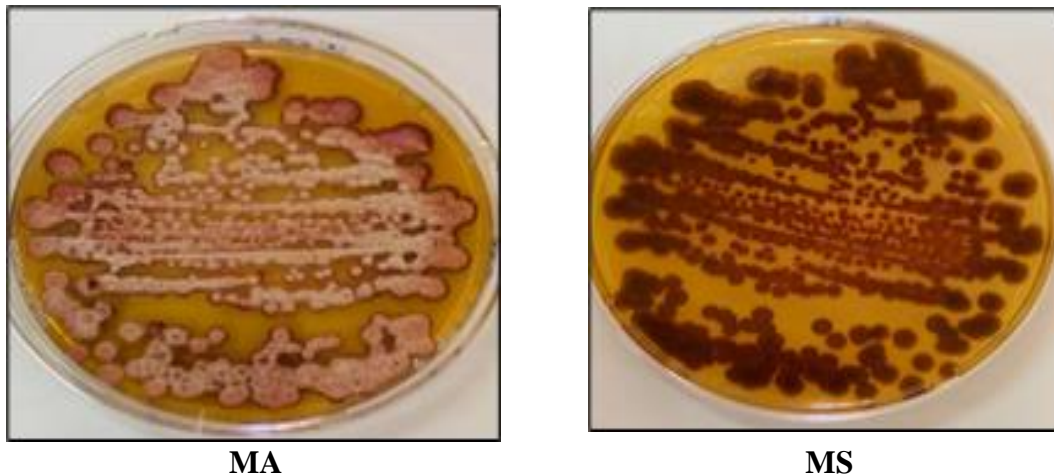


Figure 4. Macromorphologie de la souche d'*Actinomycetota* S18

La figure 5 illustre la micromorphologie de la souche S18, observée au microscope optique avec un grossissement de 10 × 40. Cette souche présente des chaînes de spores droites, alignées et non spiralées, caractéristiques du type R (Rectus). Un mycélium de substrat fragmenté est également observé. Ces critères morphologiques suggèrent que la souche S18 pourrait probablement appartenir au genre *Streptomyces*.



Figure 5. Micromorphologie de la souche d'*Actinomycetota* S18 sous microscope optique au grossissement 10x40.

1.2. Cinétiques de production des composés actifs anti-*Candida albicans*

La cinétique de production des composés à activité anti-*Candida* a été suivie pendant 10 jours sur les milieux ISP2 et Bennett. Les souches testées sont *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* S1. Les résultats ont montré que la production des métabolites actifs débute dès le deuxième jour d'incubation et atteint un maximum au septième jour. Par la suite, une diminution progressive de la production a été observée.

Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 6, 7 et 8.

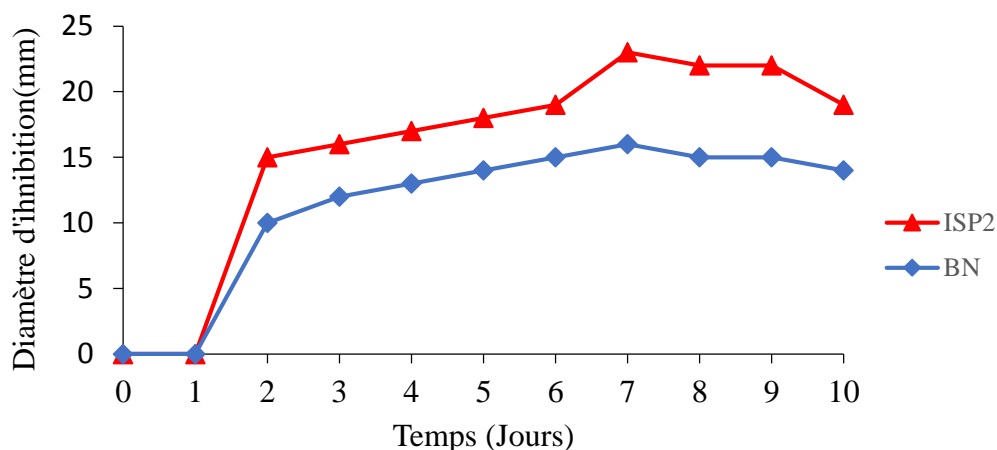


Figure 6. Cinétique de production des composés actifs anti-*Candida albicans* S1 de la souche S18 en milieux ISP2 et Bennett.

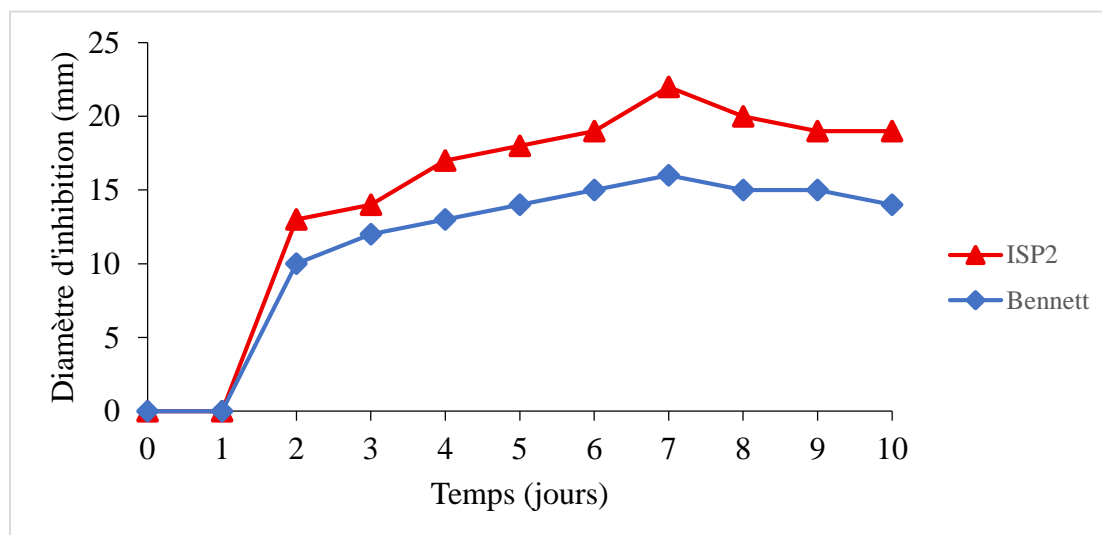
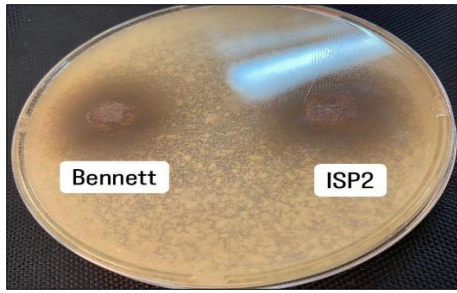
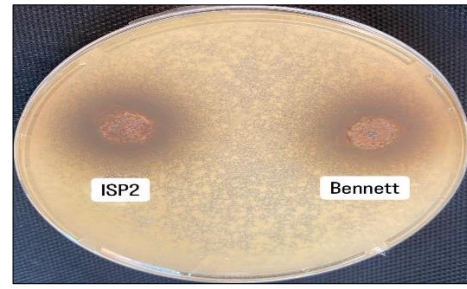


Figure 7. Cinétique de production des composés actifs anti-*Candida albicans* ATCC 10231 de la souche S18 en milieux ISP2 et Bennett.



C. albicans S1 (7é jours)



C. albican ATCC 10231 (7é jours)

Figure 8. Activité anti-*Candida albicans* de la souche S18 (méthode des puits).

1.3.- Cinétique de croissance et du pH de la souche S18

La courbe de croissance montre 4 phases: la première est une phase logarithmique s'étalant durant le 1er jour, la deuxième est une phase de ralentissement entre le 1er et le 3è jour, la troisième est une phase stationnaire entre le 3è et le 8è jour et la dernière une phase de déclin au-delà du 8è jour jusqu'à la fin (Figure 9).

Au cours de cette croissance le pH s'acidifie dans les deux filtrats de culture jusqu'au 6è jour d'incubation puis s'alcalinise progressivement jusqu'à la fin de culture.

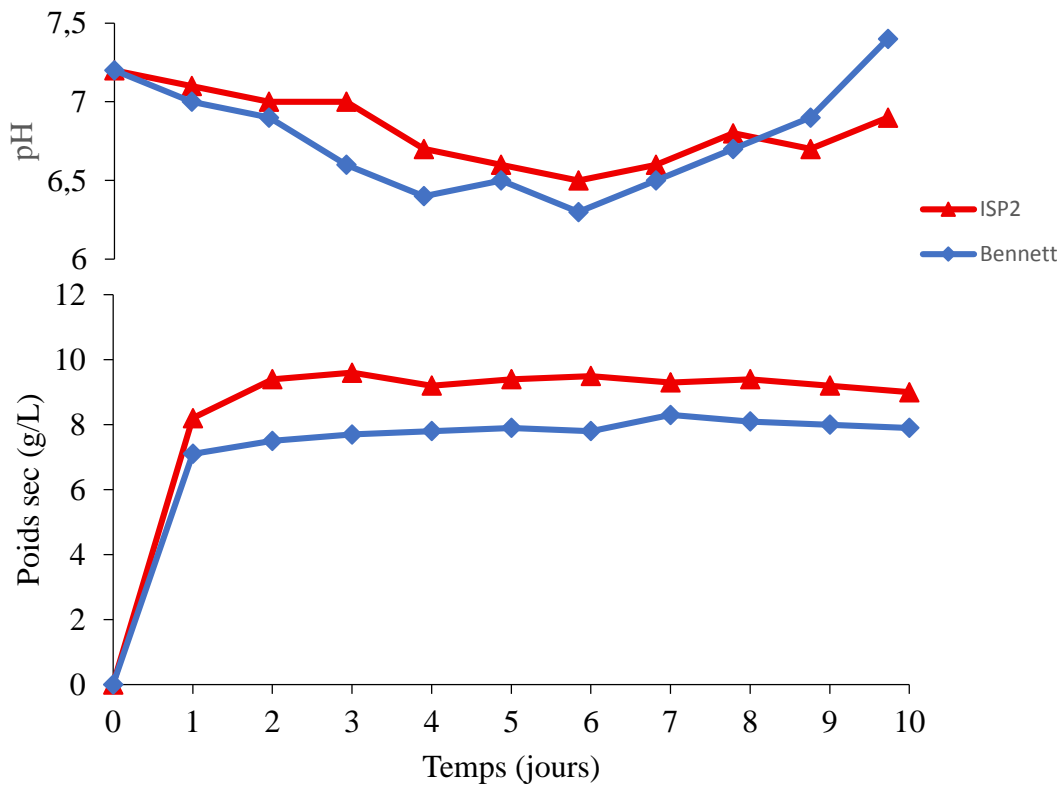


Figure 9. Cinétiques de croissance et de pH de la souche S18 dans les milieux ISP2 et Bennett.

1.4. Extraction des activités anti-*Candida albicans*

Afin d'identifier le ou les solvants les plus efficaces pour l'extraction des métabolites antifongiques produits par la souche S18 cultivée sur les milieux ISP2 et Bennett, deux solvants de polarités différentes ont été testés : le dichlorométhane et le butanol. L'objectif était de comparer l'efficacité d'extraction des composés bioactifs selon le milieu de culture.

Les souches testées étaient *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* S1.

Les résultats ont révélé que les métabolites antifongiques sont extraits qu'avec le solvant butanol. Les extraits obtenus à partir des milieux ISP2 et Bennett ont présenté une activité antifongique notable, avec des diamètres de zones d'inhibition de 15 mm contre *Candida albicans* S1 et de 14 mm contre *Candida albicans* ATCC 10231.

Les résultats sont illustrés dans les figures 10 et 11.

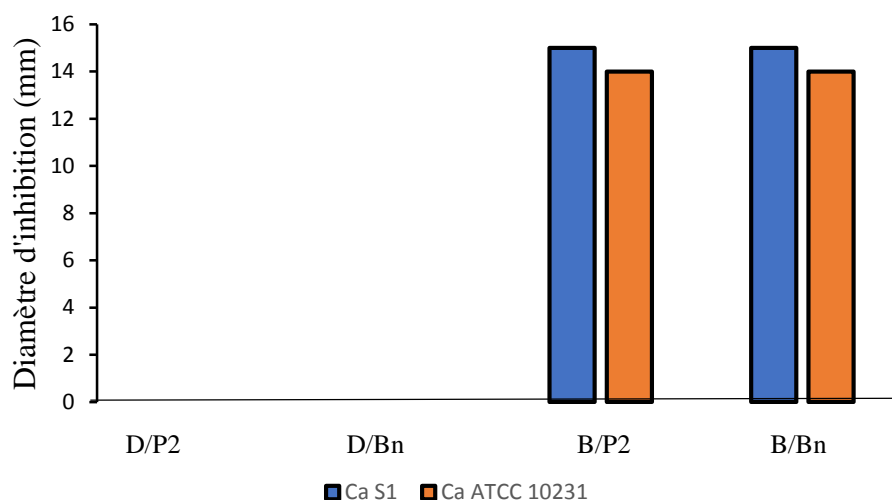


Figure 10. Activité anti-*Candida albicans* des extraits organiques de la souche S18.

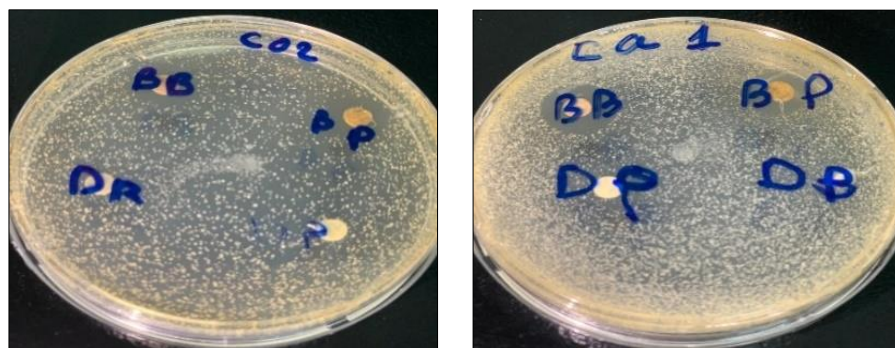


Figure 11. Teste d'antibiogramme des extraits organiques des solvants contre *C. albicans* S1 et *C. albicans* ATCC 10231.

1.5. Etude de la stabilité des activités anti-*Candida albicans*

1.5.1. Stabilité en fonction du pH

Les résultats de l'influence du pH sur les activités anti-*Candida* de S18 sont présentés dans la figure 10. L'activité du filtrat de la souche S18 contre la souche de *Candida albicans* S1 est perdue totalement aux pH 3 et 12. Elle a diminué au pH 9 (15 mm d'inhibition) et au pH 5 (9mm) comparativement au témoin pH 7 (23 mm).

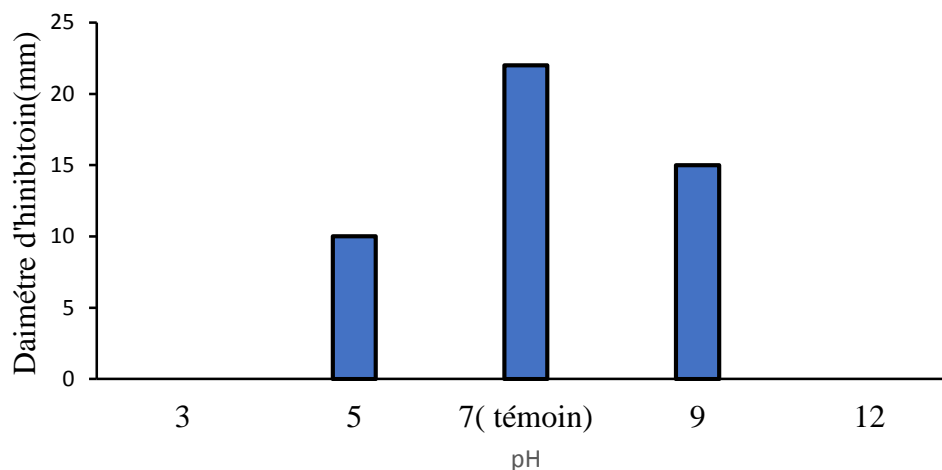


Figure 12 Influence du pH sur l'activité anti-*Candida albicans* du filtrat de l'isolat S18.

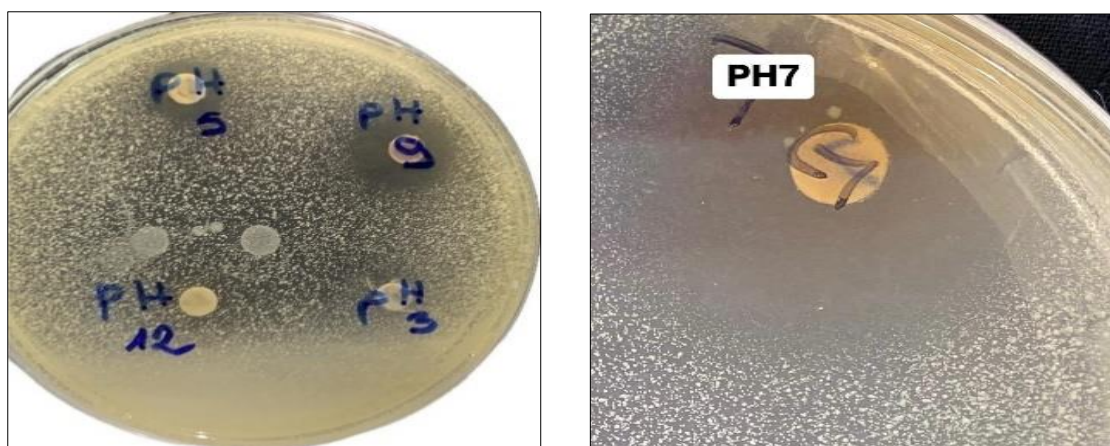


Figure 13. Activité anti-*Candida albicans* du filtrat de l'isolat S18.

1.5.2. Stabilité en fonction de la température

Après traitement thermique du filtrat de culture de la souche S18, les résultats ont montré une disparition totale de l'activité aux températures de 70°C, 100°C, 120°C, ainsi qu'à la température de congélation de -4°C. Toutefois, une diminution partielle de l'activité a été observée à 50°C, avec une zone d'inhibition réduite à 9 mm, comparativement au témoin (23 mm à pH 7). Ces résultats sont présentés dans la figure 11.

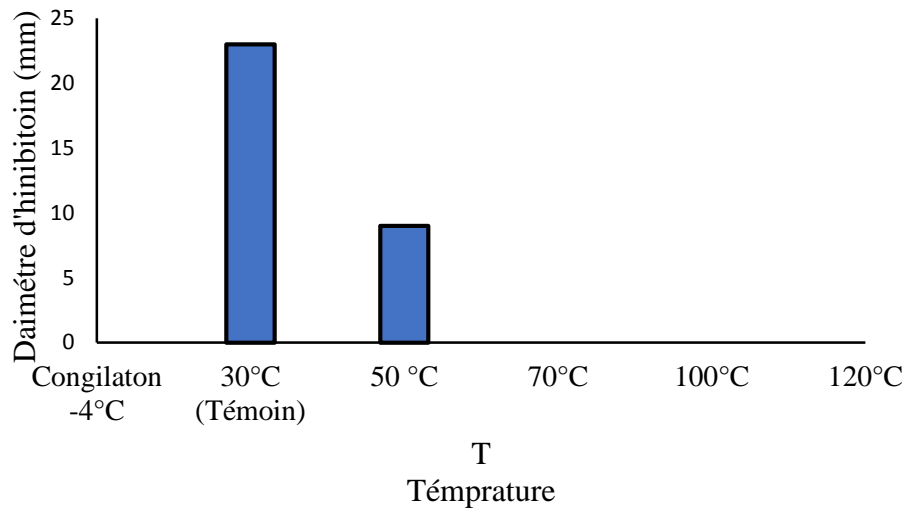


Figure 14. Influence de la température sur l'activité anti-*Candida albicans* du filtrat de l'isolat S18

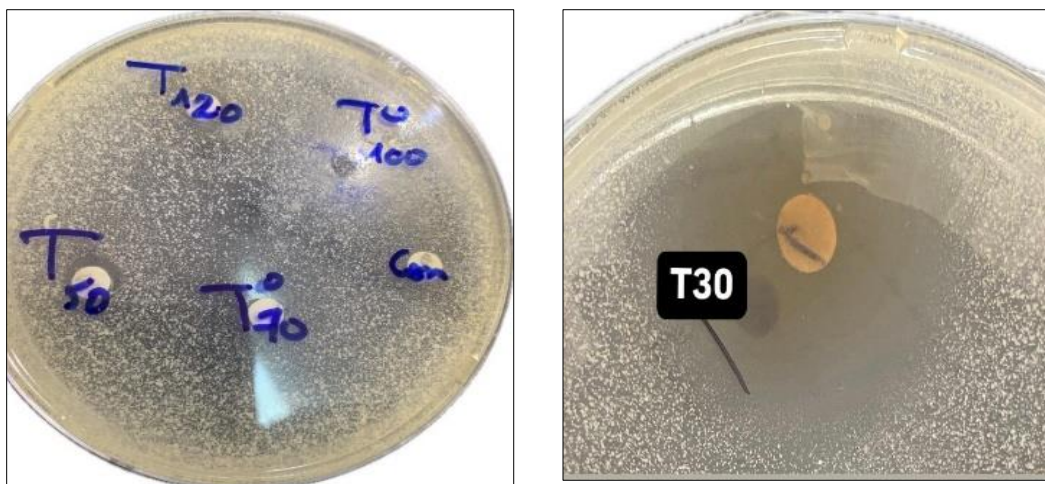


Figure 15. Activité anti-*Candida albicans* du filtrat de l'isolat S18.

1.5.3. Stabilité en fonction de la lumière

Les résultats relatifs à l'influence de la lumière sur l'activité anti-*Candida* de la souche S18 sont présentés dans la figure 12. Une légère diminution de la zone d'inhibition a été observée après exposition à différents éclairages : celle-ci passe de 23 mm pour le témoin à 21 mm après exposition à la lumière, et à 19 mm en condition d'obscurité.

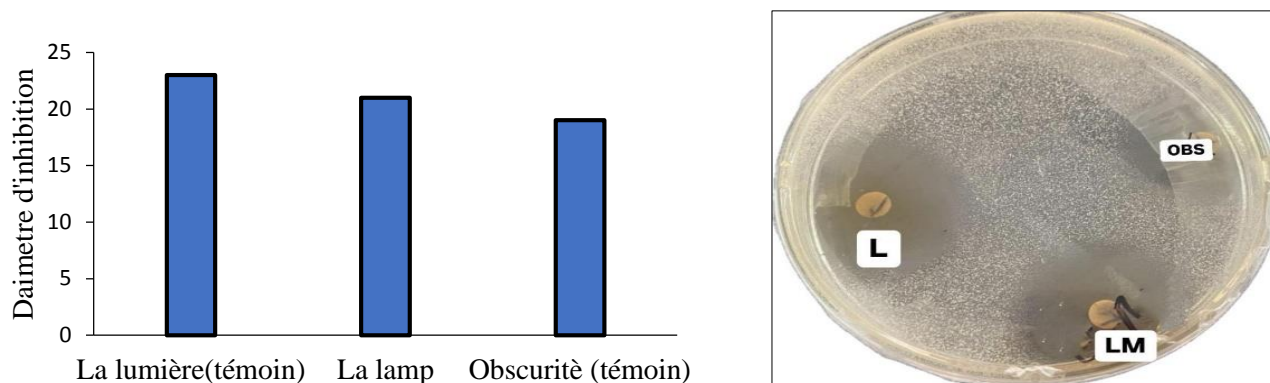


Figure 16. Influence de la lumière sur l'activité anti-*Candida albicans* du filtrat de l'isolat S18.

1.4. Détection des fractions actives

1.4.1. Semi purification par CCM

Afin de séparer les composés actifs, la semi-purification de l'extrait butanolique a été effectuée par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant deux systèmes de solvants : AM et BAE. Environ dix taches ont été délimitées sous UV à 365nm pour chaque système de solvant.

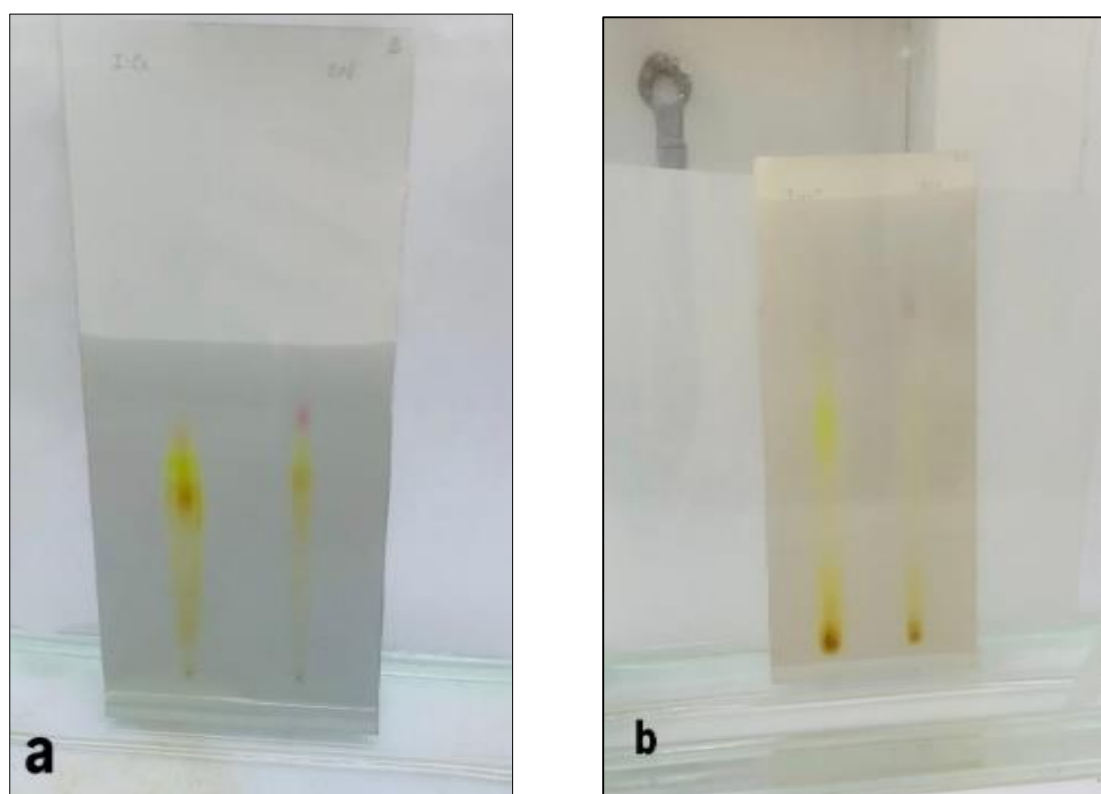


Figure 17. Séparation des fractions actives par CCM

a : système BAE ; b : système AM.

1.4.2. Révélation microbiologique des chromatogrammes

La révélation microbiologique des chromatogrammes obtenus après CCM en utilisant les deux systèmes de solvants AM et BAE a été réalisée avec la souche test la plus sensible *Candida albicans* S1. Les résultats obtenus ont permis de détecter une seule tache active contre cette souche, observée uniquement dans l'extrait provenant du milieu ISP2, bien que son apparence diffère selon le système de solvant utilisé. En effet, dans le système BAE, cette tâche a été délimitée auparavant sous UV à 365 nm par une fluorescence jaune avec un rapport frontal (Rf) de 0,55. Tandis que dans le système AM, la tache active apparaît verte sous UV avec un Rf de 0,41 (figure 16).

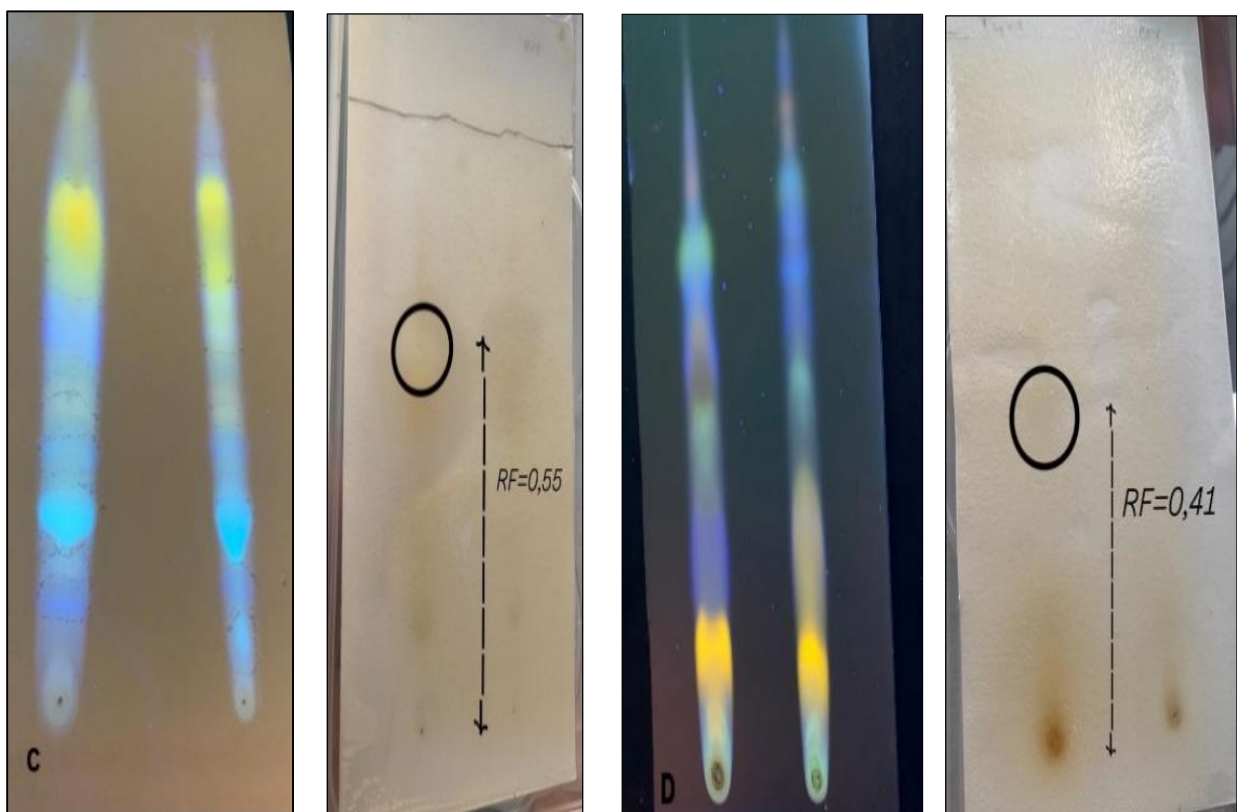


Figure 18. Bioautographie de l'extrait butanol du filtrat de culture ISP2 et Bennett de S18.

2. Discussion

La souche d'*actinomycetota* S18 a été isolée à partir d'un sol saharien de la région de Ghardaia. Il faut rappeler que les sols Sahariens algériens sont riches en genres d'actinomycetota, des plus abondants à savoir *Streptomyces* aux plus rares, voire même très rares dans le monde. C'est le cas des genres *Nocardiopsis*, *Saccharothrix*, *Streptosporangium*, *Spirillospora*, *Planomonospora*, *Planobispora*, etc. (**Boudjella, 1994; Sabaou et al., 1998**). L'étude de la morphologie de cette souche a montré qu'elle pourrait appartenir au genre *Streptomyces*. Ce genre constitue 80 à 95% des Actinomycetales dans divers types de sols et autres substrats de par le monde (**Goodfellow et Williams, 1983**).

Le choix des milieux de culture ISP2 et Bennett pour la production des métabolites actifs contre *Candida albicans* est basé sur des études antérieures ayant confirmé la performance de ces deux milieux pour la croissance des *Actinomycetota* et la production des antibiotiques. **Badji (2006)**, a évalué dix milieux de culture parmi les plus utilisés pour la production d'antibiotiques par les *Actinomycetota*, notamment l'ISP2, à base d'extraits de malt, de levure et de glucose, ainsi que le milieu Bennett, composé de glucose, de peptone de caséine, d'extraits de viande et de levure. Il a conclu que l'ISP2 et le Bennett sont les milieux les plus performants pour la production des antifongiques. Il est important de souligner que la nature et la concentration de certains composés présents dans le milieu de culture exercent une influence significative sur la production de métabolites secondaires à activité biologique. Les recherches menées par **Gesheva et al. (2005)** ont démontré que la nature des sources de carbone, d'azote, de phosphore, de potassium, de magnésium ainsi que la présence d'oligo-éléments jouent un rôle déterminant dans la synthèse de molécules antifongiques. Le solvant organique qui a révélé une capacité d'extraction pour les métabolites actifs de la souche S18 est le butanol. D'après **Buch (2001)**, la capacité d'un antibiotique à être extrait dépend étroitement de ses propriétés physico-chimiques, notamment de sa polarité. Ainsi, un composé peut être aisément extrait par un solvant donné, tout en étant pratiquement insoluble dans un autre de polarité différente. En général, les solvants polaires sont capables de dissoudre les composés ioniques et hydrophiles, tandis que les solvants apolaires, tels que le benzène ou le dichlorométhane, sont plus adaptés à l'extraction de composés hydrophobes (**Chastrette et Carretto, 1985**). Pour leur part, les solvants à polarité intermédiaire comme le diméthylformamide (DMF), le diméthylacétamide (DMA), le propylène-glycol ou encore le butanol sont souvent utilisés

pour l'extraction de molécules modérément polaires, telles que la nystatine et l'amphotéricine B (**Leclef et al., 1996**). L'évaluation de la stabilité de l'activité anti-*Candida* en fonction du pH a révélé que les molécules bioactives sécrétées par la souche S18 présentent une stabilité optimale autour de la neutralité (pH = 7), tandis que leur activité diminue significativement en milieu acide ou basique. Ces observations concordent avec les travaux de **Badji et al. (2006)**, qui ont rapporté une diminution marquée de l'activité antifongique produite par *Actinomadura sp.* AC104 en conditions acides, et une perte complète de cette activité à des pH supérieurs à 10. Ces mêmes remarques ont été signalées par **Lertcanawanichakul et Sahabuddeen (2023)**. Ces auteurs ont trouvé que les activités d'une souche *Streptomyces sp.* KB1 sont diminuées progressivement à partir de la neutralité soit vers l'acidité ou l'alcalinisation.

L'étude de la thermo-stabilité des composés anti-*Candida* a révélé une sensibilité marquée à des températures élevées, avec une perte complète de l'activité antifongique après autoclavage. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Oskay (2009)**, qui a étudié la stabilité thermique d'un antifongique produit par *Streptomyces sp.* KEH23. L'auteur a observé que le traitement thermique du surnageant de culture entraîne une inactivation totale de l'activité antifongique après autoclavage.

L'activité antifongique de la souche S18 apparaît un peu sensible à la lumière. En effet, selon **Koenig (1995)** et **Lortholary et al. (1998)**, plusieurs antifongiques, tels que l'amphotéricine B, la nystatine, la griséofulvine et la natamycine, présentent une sensibilité à la lumière entraînant une dégradation partielle. Ces observations soulignent l'importance de prendre des précautions lors des étapes d'évaporation et de séchage des extraits, notamment en évitant d'exposer ces derniers à des températures élevées supérieures à 50 °C. Par ailleurs, il est recommandé de ramener le pH des filtrats à une valeur neutre immédiatement après la fin de la production afin de préserver leur stabilité. Un nombre identique de taches actives a été observé avec les deux systèmes de solvants, AM et BAE, pour les extraits de la souche S18, soit une tache active révélée sur chaque système. Toutefois, les taches obtenues avec le système AM se sont avérées mieux séparées et plus nettes comparativement à celles observées sur BAE. Ces résultats corroborent ceux rapportés par **Aouiche et al. (2013)** ainsi que par **Toumatia (2014)**, qui ont également conclu que le système AM constitue le meilleur éluant pour une séparation optimale des composés bioactifs.

CONCLUSION

L'objectif de ce travail était d'extraire et d'étudier la stabilité des métabolites actifs anti-*Candida albicans* produits par la souche *Actinomyces* S18, qui a montré une activité antifongique significative selon la méthode de puits. Les résultats ont montré que cette souche atteint une production maximale de métabolites actifs anti-*Candida albicans* au 7^e jour d'incubation, avec une production plus importante sur le milieu ISP2 comparé au milieu Bennett. Le butanol s'est révélé être le solvant d'extraction le plus efficace.

L'étude de la stabilité en fonction du pH a montré une diminution marquée de l'activité antifongique lorsque le pH s'éloigne de la neutralité, qui correspond au pH optimal. Cette activité s'est également avérée sensible aux températures élevées et basses, ainsi que légèrement affectée par l'exposition à la lumière.

Après séparation par chromatographie sur couche mince (CCM), les extraits obtenus à partir des milieux ISP2 et Bennett ont montré la présence de plusieurs taches sous UV. Cependant, une seule tache s'est avérée active, que ce soit avec le système de solvant AM ou BAE. Il est à noter que la séparation était meilleure avec le système AM.

Sur la base de ces résultats, la souche S18 peut être considérée comme une ressource naturelle prometteuse pour la découverte de nouveaux composés capables de répondre aux défis croissants liés à la résistance de *Candida albicans* aux traitements conventionnels.

Dans cette perspective, il est important de poursuivre les travaux sur cette souche. Les prochaines étapes recommandées sont :

- Identifier la souche au niveau moléculaire.
- Identifier la structure chimique des molécules isolées à l'aide de techniques telles que la spectrométrie de masse (SM) et la résonance magnétique nucléaire (RMN).
- Évaluer le spectre d'activité antifongique sur d'autres espèces de *Candida* ou d'autres champignons pathogènes.
- Tester la cytotoxicité des composés sur des cellules eucaryotes afin d'évaluer leur potentiel thérapeutique.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

- Aguilar, C., Alwali, A., Mair, M., Rodriguez-Orduña, L., Contreras-Peruyero, H., Modi, R., ... & Parkinson, E. I. (2024). *Actinomycetota* bioprospecting from ore-forming environments. *Microbial Genomics*, 10(5), 001253.
- Aouiche A., Sabaou N., Meklat A., Zitouni A., Mathieu F, et Lebrihi A. (2012). Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp. PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology* 22 (1): 42–51.
- Aouiche, A., Sabaou, N., Meklat, A., Zitouni, A., Mathieu, F., & Lebrihi, A. (2012). Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp. PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. *Journal de mycologie médicale*, 22(1), 42-51.
- Badji B., Riba A., Mathieu F., Lebrihi A. et Sabaou N. (2005). Antifungal activity of a saharan *Actinomadura* strain against various pathogenic and toxinogenic fungi. *Journal de Mycologie Médicale* 15 (4): 211–219
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., ... & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 80(1), 1-43.
- Belghit, S. (2016). *Actinomycètes des sols sahariens algériens, antagonistes de Candida albicans* : Isolement, taxonomie et caractérisation de leurs antibiotiques (Doctoral dissertation, Ecole normale supérieure de Kouba-Mohamed Bachir El Ibrahimi-).
- Betina V. (1973). - Bioautography in paper and thin layer chromatography and its scope in the antibiotic field. *J. Chromato.*, **78**, 41-51
- Bouali, H., Hamza, K., Bouras, N., Aouiche, A., Meklat, A., Mokrane, S., ... & Sabaou, N. (2017). Effet de milieux de culture sur la croissance et la production de chloramphenicol chez deux souches de *Saccharothrix* sp. pal 54 et pal 42 isolées d'un sol de la palmeraie de Ghardaïa. *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 7(1), 71-83.
- Boudjelal, F., Zitouni, A., Bouras, N., Spröer, C., Klenk, H. P., Smaoui, S., & Mathieu, F. (2023). Rare Halophilic *Nocardiopsis* from Algerian Saharan Soils as Tools for Biotechnological Processes in Pharmaceutical Industry. *BioMed Research International*, 2023(1), 1061176.
- Boujdella H., 2007. – Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des Streptosporangium des sols sahariens. Caractérisation des principaux antibiotiques secrétés par ces derniers. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Institut National Agronomique El-Harrach. 188p.

- Boudjella H., Lamaril L., Bouti. K. et Sabaou. N., (2014). Activité antilevurienne d'une souche d'actinobactérie appartenant au genre *streptosporangium* et isolée d'un sol saharien. *Algerian journal of arid environment*.vol 2. Pp : 3-18
- Buch, A. (2001). Etude thermodynamique et cinétique de l'extraction liquide-liquide du Nickel (II) par la 2-Ethylhexanal Oxime et un mélange de 2-Ethylhexanal Oxime et d'acide Di2-(Ethylhexyl) phosphorique. Université Pierre et Marie Curie-Paris VI. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00011562/>.
- Chastrette, M. et Carretto J. (1985). Étude statistique des effets de solvant. III. Calcul et interprétation de paramètres empiriques de polarité à partir de propriétés physicochimiques des solvants purs. *Canadian journal of chemistry* 63 (12): 3492–3498.
- Cowen, L. E., Sanglard, D., Howard, S. J., Rogers, P. D., & Perlin, D. S. (2015). Mechanisms of antifungal drug resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(7), a019752.
- Donald, L., Pipite, A., Subramani, R., Owen, J., Keyzers, R. A., and Taufu, T. (2022). *Streptomyces*: still the biggest producer of new natural secondary metabolites, a current perspective. *Microbiol. Res.* 13, 418–465. doi: 10.3390/microbiolres13030031
- Euzeby J.P. (2025). List of bacterial names with standing in nomenclature, *Streptomycetaceae*. <https://lpsn.dsmz.de/genus/euzebya>
- Gesheva, V., Ivanova V., et Gesheva R.. (2005). Effects of nutrients on the production of AK111-81 macrolide antibiotic by *Streptomyces hygroscopicus*. *Microbiological Research* 160 (3): 243–248.
- Gnat, S., Łagowski, D., Nowakiewicz, A., & Dyląg, M. (2021). A global view on fungal infections in humans and animals: infections caused by dimorphic fungi and dermatophytoses. *Journal of Applied Microbiology*, 131(6), 2688-2704.
- Haas, D. (2015). Métabolisme secondaire de *Streptomyces ambofaciens*: exploration génomique et étude du groupe de gènes dirigeant la synthèse du sphydrofurane (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).
- Harir, M., Bellahacene, M., Fortas, Z., García-Arenzana, J. M., Veloso, A., & Rodríguez-Couto, S. (2017). Isolation and characterization of actinobacteria from Algerian Sahara soils with antimicrobial activities. *International journal of molecular and cellular medicine*, 6(2), 109.
- Hasnaa, A., Assia, M., Sara, M., Soukaina, A., Iman, A., Jamal, M., & Mohammed, M. (2018). Isolation and phenotypic characterization of *actinomycetes* from Rabat neighborhood soil and their potential to produce bioactive compound. *African Journal of Microbiology*
- Hazarika, S. N., & Thakur, D. (2020). *Actinobacteria*. In *Beneficial microbes in agroecology* (pp. 443-476). Academic Press.

- Hulin A., Deguillaume A. M., Bretagne S. et Bézie Y. (2005). Bon usage des antifongiques dans le traitement des candidoses et aspergilloses invasives. *Journal de Pharmacie Clinique* 24 (3): 125–138.
- Khodja, F. I., Hamini-Kadar, N., Gacem, M. A., & Kihal, M. (2023). In vitro antifungal and phosphate solubilizing properties of secondary metabolites produced by rare *Streptomyces* sp. T002.
- Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., ... & Boiron, P. (2005). Isolation of *actinomycetes* producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north–east of Algeria. *Journal de Mycologie Médicale*, 15(1), 45–50.
- Kullberg, B.J., Sobel, J.D., Ruhnke, M., Pappas, P.G., Viscoli, C., Rex, J.H., et al. (2005). Voriconazole versus a regimen of amphotericin B followed by fluconazole for candidaemia in non-neutropenic patients: a randomised non-inferiority trial. *Lancet*, 366(9495), 1435–1442.
- Koenig H. Guide de mycologie médicales. Collection Ellipses. 1995.
- Kuse, R., Lewis, R. E., Wiederhold, T., Perfect, J., Donnelly, S., The Liposomal AmB Study Group, & The Mycoses Study Group. (2007). Efficacy and safety of liposomal amphotericin B versus amphotericin B deoxycholate for invasive fungal infections in immunocompromised patients: A randomized, controlled, double-blind trial. *Clinical Infectious Diseases*, 44(2), 180–189. <https://doi.org/10.1086/510385>
- Lagane, C. (2007). Rôle de l'IL-13 et des ligands de PPAR-gamma dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida Albicans*. Implication de PPAR-gamma (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Leclef B., Cerfontaine P., Nicolas J.M., Wantier H., Trouet A. (1996). - Preparation of liposome and lipid complex compositions. *Euro. Pat.*, 16, 121-126.
- Lertcanawanichakul M, Sahabuddeen T. (2023). Characterization of *Streptomyces* sp. KB1 and its cultural opti-mization for bioactive compounds production. *PeerJ* 11:e14909 <http://doi.org/10.7717/peerj.14909>
- Lortholary O., Tod M. et Dupont B. 1998. Antifongiques, *Encycl. Med. Chir. Maladies Infectieuses*, 1–21.
- Macias-Paz, I. U., Pérez-Hernández, S., Tavera-Tapia, A., Luna-Arias, J. P., Guerra-Cárdenas, J. E., & Reyna-Beltrán, E. (2023). *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. *Revista Argentina de microbiologia*, 55(2), 189-198.
- Melouka, B. (2020). Étude de l'activité antifongique des souches d'*Actinomycetes* isolés à partir des sols sahariens (Doctoral dissertation).

- Mir, M. A., Jan, S., Hamdani, S. S., Malik, U. A., & Alshehri, B. (2022). Human pathogenic microbes (bacterial and fungal) and associated diseases. *Hum. Pathog. Microbes*, 1-30.
- Mohanty, A., Rohilla, R., Meena, S., Bora, M., Singh, A., & Kaistha, N. (2021). Epidemiology of mycotic infections: Experience from a tertiary care center of Uttarakhand, India. *Trop J Pathol Microbiol*, 7(3), 93-8.
- Monniot, C. (2012). Les protéines à ancre GPI de *Candida albicans* dans l'interaction avec l'hôte : de l'étude de domaines solubles à la caractérisation de la protéine Rbt1 (Doctoral dissertation, AgroParisTech).
- Mora-Duarte, J. Robert Betts, M.D., Coleman Rotstein, M.D., Arnaldo Lopes Colombo, M.D., Luis Thompson-Moya, M.D., Juanita Smietana, B.S., Robert Lupinacci, M.S., Carole Sable, M.D., Nicholas Kartsonis, M.D., and John Perfect, M.D. (2002). Comparison of Caspofungin and Amphotericin B for Invasive Candidiasis. *The new England journal of medicine*. 347, 2020-2029.
- Nasir, G. A., Mahmood, H. M., & Khudhair, I. A. (2022). Actinomycetes general characteristics and their role in soil, plant, and human health.
- Oren, A., and Garrity, G. M. (2021). Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 71:5056. doi: 10.1099/ijsem.0.005056
- Oskay M. (2009). Antifungal and antibacterial compounds from *Streptomyces* strains . *African Journal of Biotechnology* 8 (13).
- Pandey, A., Chandra, N., Srivastava, A., Kumar, D., & Kumar, S. (2018). Antimicrobial metabolites producing soil microorganisms: an update. *Indian Journal of Applied Microbiology*, 21(1), 46-57.
- Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D. R., Clancy, C. J., Marr, K. A., Ostrosky-Zeichner, L., ... & Sobel, J. D. (2016). Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases*, 62(4), e1-e50.
- Parte, A., Whitman, W. B., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., ... & Suzuki, K. I. (Eds.). (2012). *Bergey's manual of systematic bacteriology: volume 5: the Actinobacteria*. Springer Science & Business Media.
- Rammali, S. (2022). Contribution à la caractérisation moléculaire de nouvelles souches de *Streptomyces* productrices de métabolites antimicrobiens, antioxydants et anticancéreux isolées d'écosystèmes telluriques extrêmes marocains.
- Rante, H., Manggau, M. A., Alam, G., Pakki, E., Erviani, A. E., Hafidah, N., ... & Ali, A. (2024). Isolation and identification of Actinomycetes with antifungal activity from karts ecosystem in

- Maros-Pangkep, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 25(2). *Research*, 12(8), 186-191.
- Reboli, A. C., Rotstein, C., Pappas, P. G., Chapman, S. W., Kett, D. H., Kumar, D., Betts, R., Wible, M., Goldstein, B. P., Schranz, J., Krause, D. S., & Walsh, T. J. (2007). Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *New England Journal of Medicine*, 356(24), 2472-2482. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa066906>
- Rex, J. H., Bennett, J. E., Sugar, A. M., Pappas, P. G., Van der Horst, C. M., Edwards, J. E., Washburn, R. G., Scheld, W. M., Karchmer, A. W., Dine, A. P., & The Candidemia Study Group, & The National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. (1994). A randomized trial comparing fluconazole with amphotericin B for the treatment of candidemia in patients without neutropenia. *New England Journal of Medicine*, 331(20), 1325-1330. <https://doi.org/10.1056/NEJM199411173312001>
- Saker, R. (2018). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes (Doctoral dissertation).
- Sitterlé, E. (2018). La candidose cutanéomuqueuse chronique: un modèle d'étude de l'adaptation génomique chez *Candida albicans* (Doctoral dissertation, Thèse. de doctorat, Université Sorbonne Paris Cité]. HAL).
- Smaoui, S. (2010). Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse-INPT).
- Tamo, S. B. (2020). *Candida* Infections: clinical features, diagnosis and treatment. *Infect Dis Clin Microbiol*, 2(2), 91-102.
- Toumatia O., Yekkour A., Goudjal Y., Riba A., Coppel Y., Mathieu F., Sabaou N. et Zitouni A. (2015). Antifungal properties of an actinomycin D-producing strain, *Streptomyces* sp. IA1, isolated from a Saharan soil. *Journal of basic microbiology* 55 (2): 221–228.
- Ullah, S., Muhammad, Z. S., Jehan, S., Zia, S., Hussain, Z., Hussain, S. A., ... & Ullah, H. (2022). Soil *Actinomycetes* molecular characterization for secondary metabolites production. *Journal of advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 40-44.
- Zamir, R., Mazhar, S., Shafique, H., & Yasmin, R. (2023). Screening of *Actinomycetes* Isolated from soil and their Antimicrobial Activity against Plant Pathogens. *Scientific Inquiry and Review*, 7(3), 82-94.