

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Sciences Biologiques"

Spécialité : "Microbiologie Appliquée"

Présenté et soutenu à huis clos par

- BOUKRAA Ibtissem
- GUENNOUN Nassima
- RAOUIA Sarra

Thème

Evaluation de l'activité antifongique du PEG sur des champignons pathogènes

JURY:

- | | |
|----------------------------------|---------------|
| - Présidente : Dr. BENGUAR R. | Grade « MCB » |
| - Promoteur : Dr. BENSAID M O. | Grade « MCA » |
| - Co-promoteur : Dr. YEZLI W. | Grade « MCA » |
| - Examinatrice : Dr. MEDJEBER N. | Grade « MCB » |

Année universitaire : 2019 - 2020



Remerciements

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à **Dieu** qui nous a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.*

وَمَا تَوْفِيقِي إِلَّا بِاللَّهِ

*Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à notre **Promoteur : Dr. BENS Aid M. O**, pour ses conseils, ses encouragements,, sa patience, sa compétence, sa gentillesse, ses qualités humaines et scientifiques resteront pour nous un exemple, qui nous ont permis de bien mener ce travail. Le suivi et l'orientation dont nous avons pu bénéficier. Nous sommes constamment impressionnés de constater à quel point il nous a poussé pour atteindre nos buts et d'avoir identifié et stimulé nos potentiels.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à notre **Co-promoteur : Dr. YEZLI W**. Veuillez trouver ici l'expression de nos profonds sentiments de respect pour le soutien que vous n'aviez cessé de nous porter.*

*Nos remerciements vont au présidente de jury **Dr. BENGUIAR R**. merci de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.*

*Nos vifs remerciements s'adressent aussi à **Dr. MEDJEBER N**, qui a accepté d'examiner notre travail avec bienveillance et nous en sommes très honoré.*

*Un remerciement spécial à notre responsable de spécialité **Dr. HOCINE, L.**, pour sa disponibilité et sa sympathie.*

*Un grand merci à l'équipe du laboratoire de Microbiologie **Mlles KHEIRA, ZAHRA**, pour leur gentillesse et serviabilité.*

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*Mes très chers parents, **Mohamed** et **Naïma** qui ont toujours été là pour moi , J'ai vécu dans l'admiration de votre grande personnalité et de votre bonté. Vous êtes pour moi l'exemple de la réussite et du grand cœur. Puisse ce travail symboliser le fruit de vos longues années de sacrifices consentis pour mes études et mon éducation. Puisse Dieu, le tout puissant, vous protéger et vous accorder meilleure santé et longue vie afin que je puisse vous rendre un minimum de ce que je te dois...*

*A Mes grand parents que Dieu les garde pour toujours. Ma très chère sœur **Yousra** et Mes chers frères : **Salah eddine** et **Farouk***

J'implore Dieu qu'il vous apporte le bonheur et vous aide à réaliser vos vœux. Je vous souhaite une vie pleine de joie...

A Mon trînomme et toutes leurs familles

*Enfin, toutes mes amies et mes cousines que j'aime tant, **Sabrîne**, **Rabab**, **Yasmine** et **Fatîma**, **Kaouter**, **Amîna**, **Zahîa**, **Wassîma**, **Mena**..*

Vous êtes pour moi plus que des amies ! , Je ne saurais trouver une expression témoignant de ma reconnaissance et les sentiments que je vous porte. Je vous dédie ce travail en témoignage de notre amitié que j'espère durera toute la vie.

Ibtîsem



Dédicace

*Au nom d'ALLAH clément et miséricordieux
et que la salut d'ALLAH soit sur son prophète MOHAMMED.*

*Je dédie ce travail en premier lieu aux êtres, les plus
chers au monde mes parents, **Abbes** et **Houda** , Quoi que je fasse je
ne pourrais leur rendre ce qu'ils ont fait pour moi, si je suis arrivée là
c'est bien grâce a eux que dieu les bénisse, et leur accorde longue vie
et les protège.*

*A mes très chers frères **Houari**, **Ismail**, **Ali** et mes adorables sœurs*

***Amel**, et **Ahlem** pour leurs aide et leur soutien.*

*A mes oiseaux **Abdrrahmen**, **Hana**, **Ritaj** ,**Rafif**, **Ishak**,*

***Hadjer**, **Isam** et **Ahmed**.*

*A toute ma famille et tous mes amis qui occupent une place
particulière dans mon cœur spécialement*

***Yasmin** et **Safia**.*

*A **Ibtissem** et **Sarra** chers amie avant d'être trinôme, Merci
pour les très bons moments qu'on avait partagés
ensemble.*

*Puisse dieu vous donne santé, bonheur courage et
surtouts réussite.*

Nassima



Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chers et qui m'ont permis de vivre ce jour,

*A mes chers parents, Ma mère **Amina** et Mon père **Abdelkader**, guides affectueux et attentifs, en reconnaissance pour leurs charges de support et positivité et pour tous leurs sacrifices, confiance, amour, tendresse, et prières tout au long ces longues années. Puisse Dieu vous accorder sa sainte miséricorde, santé et longue vie, afin que je puisse vous combler à mon tour.*

*A mes chers frères, **Yacine**, **Youcef** et **Mohammed**, et mes chères sœurs **Iman** et **Hadjer** pour leur appui et encouragements permanents, et aussi leur soutien moral. J'implore Dieu qu'il vous apporte bonheur et vous aide à réaliser vos vœux. Je vous souhaite une vie pleine de joie.*

A tous les membres de ma famille, petits et grands mais plus spécialement à ma chère grand-mère maternelle, Que ce travail soit témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux. Puisse dieu vous procurer bonheur et prospérité.

*A mes Amies et sur tout **Marwa**, **Ilhem**, **kheira** et **Yousra**. Je vous dédie ce travail en témoignage de notre amitié que j'espère durera toute la vie.*

*A mes Collègues de la promotion de la microbiologie appliquée 2020 sans oublier mes chers trinômes **Ibtissem** et **Nassima** , pour leurs passion et leurs compréhension tout au long ce projet , A tous les moments qu'on a passé ensemble, à tous nos souvenirs ! Je vous dédie ce travail, Et Merci pour tous les moments formidables qu'on a partagés.*

*A tous mes enseignants qui ont contribué à ma formation pendant ces 5 années et sur tout Madame **MOULAY** et Monsieur **BENAISSA**.*

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment ! Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible, Merci d'être toujours là pour moi.

Sarra



TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES TABLEAUX.....	i
LISTE DES FIGURES.....	ii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	iii

INTRODUCTION

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : CHAMPIGNONS PATHOGENES

I.CHAMPIGNONS PATHOGENES.....	3
I. 1. Champignons phytopathogènes	3
I.1. 1. Description du genre <i>Fusarium</i>	3
I. 1. 2. Pathogénicité du genre <i>Fusarium</i>	3
I. 1. 3. Fongicides agricoles	4
I.2. Champignons pathogènes humains	5
I.2.1. Description du genre <i>Candida</i>	5
I.2.2. Pathogénicité du genre <i>Candida</i>	5
I.2.3. Traitement conventionnelle	6

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE POLYETHYLENE GLYCOL

II. GÉNÉRALITÉS SUR LE POLYETHYLENE GLYCOL	8
II. 1. Présentation du PEG	8
II.2. Propriétés du PEG	8
II.3. Domaines d'application du PEG	9
II.4. Intérêt du PEG en microbiologie	9

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

III. MATERIEL ET METHODES	10
III.1. Objectif du travail	11
III.2. Lieu et période du travail	11
III.3. Matériel utilisé	11
III.3.1. Matériel biologique	11
III.3.2. Milieux de culture	13
III.3.3. Produits et appareillage	13
III.4. Méthodes	15
III.4.1. Protocole expérimental	15
III.4.2. I.4.2 Caractérisation par spectroscopie infrarouge FTIR du Polyéthylène glycol PEG 20000	16
III.4.3. Détermination <i>in-vitro</i> de l'activité antifongique du PEG sur les souches fusariennes	17
III.4.3.1. Préparation des souches mycéliennes, confirmation de la pureté, repiquage	17
III.4.3.2. Préparation des solutions mères	19
III.4.3.3. Conditions expérimentales	20
III.4.3.4 Etude statistique	21
III.4.3.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale fongicide (CMF)	21
III.4.4. Détermination <i>in-vitro</i> de l'activité antifongique du PEG sur la souches de <i>Candida</i>	21
III.4.4.1. Préparation de l'inoculum, identification, repiquage et standardisation	22

III.4.4.2. Préparation des solutions mères	24
III.4.4.3. Conditions expérimentales	24
III.4.4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	25

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge FTIR du Polyéthylène glycol PEG 20000	29
IV.2. Détermination <i>in-vitro</i> de l'activité antifongique du PEG sur les souches fusariennes	31
IV.2. Détermination <i>in-vitro</i> de l'activité antifongique du PEG sur la souche <i>Candida sp</i> ...	33
IV.2.1 Préparation de l'inoculum, identification	33
Discussion générale.....	34
Conclusion.....	39
Références bibliographiques.....	40
Annexes.....	48

Liste des Tableaux

Tableau n°01:	Quelques applications Industrielles du PEG	9
Tableau n° 02:	Code, espèce et numéro d'accession des souches utilisées.	12
Tableau n° 03:	Observations et description des caractères macroscopiques des souches utilisés.....	12
Tableau n° 04:	Appareillage, verreries et produits utilisés	14
Tableau n°05:	Attribution des bandes d'absorption infrarouge du spectre du PEG (PM=20000 g.mol ⁻¹)	30
Tableau n° 06:	Zones de croissance de la souche <i>Fusarium redolens</i> avec les taux d'inhibition en absence et en présence du PEG, du fongicide et de la combinaison PEG-Fongicide	32

Liste des Figures

Figure n° 01 :	Symptômes causés par <i>Fusarium</i> spp.	4
Figure n° 02 :	Candidose buccale (muguet)	6
Figure n° 03 :	Représentation schématique de la structure du PEG	8
Figure n° 04 :	Photographie de la souche <i>Candida sp</i> utilisé dans notre étude	13
Figure n° 05 :	Photographies des produits utilisés durant notre étude	14
Figure n° 06 :	Schéma du protocole expérimental	15
Figure n° 07	Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier	16
Figure n° 08 :	Illustration de la technique du drapeau (Scotch)	18
Figure n° 09:	Observations microscopiques du mycélium et des différentes conidies produites par les espèces de <i>Fusarium</i>	19
Figure n° 10 :	Méthode de mesure des zones de croissance mycélienne	21
Figure n° 11 :	Frottis de <i>Candida sp</i> fixé et coloré au bleu de méthylène	22
Figure n° 12 :	Cellule de Malassez	23
Figure n° 13 :	Illustration de la méthode de diffusion par puits suivie	25
Figure n° 14 :	Illustration de la réparation des solutions à tester avec des dilutions en cascade	26
Figure n° 15 :	Chaine de polymère PEG à 100 monomères modélisé	29

Figure n° 16 :	Spectre infrarouge (FTIR) expérimentale et théorique de transistance d'un échantillon de PEG– 20000 pur	30
Figure n° 17:	Croissance in-vitro de la souche <i>Fusarium redolens</i> en fonction de l'agent incorporé dans le milieu PDA après 1,3 jrs d'incubation à 28°C ..	31
Figure n° 18:	Observation microscopique de <i>Candida sp</i> aux objectifs *40 ; *100	33

Liste des abréviations

AMB: Amphotéricine B

C : *Candida*

C: Concentration

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CMF: Concentration Minimale Fongicide

COVID-19: Coronavirus disease 2019

DMSA: Acide dimercaptosuccinique

F : *Fusarium*

FAO: Food & Agriculture Organisation

FB: Les Fumonisine de type B

FCA: Fluconazole

FDA: Food & Drug Administration

FICI: Facteur de l'Index de la Concentration Inhibitrice

FTIR: (Ang) Fourier Transformée Infra-Rouge

IR: Infra-Rouge

Ic: Taux d'Inhibition

KBr: Bromure de Potassium

NP: Nanoparticule Polymérique

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

PA: principe actif

PEG: polyéthylène glycol

PPm: partie par million

PDA: Potato Dextrose Agar

PLGA: Poly Lactic –co- Glycolic Acid

PEG-g-PLA: Acide polylactique polyglycolique PEGylé

SLN : (Ang) Nanoparticules Lipidique Solide

SNA: Synthetisher Nahrstoffarmer Agar

Sp. : Espèce non identifié

spp. : Espèces du genre

TCT: Les trichothécènes

UFC: Unité Formant Colonie

VRZ: Variconazole

ZEN : La zéaralénone

Introduction

Les champignons pathogènes sont responsables d'infections généralisées et représentent actuellement une véritable menace de santé mondiale, avec deux millions de cas déclarés potentiellement mortels chaque année (**Petosa et al., 2018**). Bien qu'on dispose aujourd'hui de médicaments antifongiques, les mycoses systémiques restent très difficiles à contrôler en raison du nombre limité de principes réellement efficaces, de leur toxicité et du leur coût très élevé associé à l'émergence des souches résistantes (**Prescott et al., 2013 ; Rex et al., 1995**).

Les plantes cultivées constituent une autre cible des champignons pathogènes, Ils sont à l'origine de pertes de rendement, une dévalorisation de la qualité des récoltes et sont susceptibles de générer des toxines. La FAO estime qu'entre 20 et 40% de la production agricole mondiale est détruite chaque année par les parasites, l'équivalent de 220 milliards de dollars par an. L'emploi de produits chimiques forme à l'heure présente la technique la plus utilisée pour combattre les moisissures nuisibles (**Magan et Olsen, 2004**). D'autre part, l'utilisation inconsidéré et excessif de ces produits a aboutis à la contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cibles telles que la faune auxiliaire et l'apparition des microorganismes résistants (**Khelil, 1977**).

Face à ces différents obstacles d'ordre financier, résistance et toxicité que présente l'emploi des antifongiques actuellement disponibles, il est indispensable de rechercher de nouvelles molécules à la fois efficaces, non toxiques et moins coûteuses.

Le polyéthylène glycol est l'un des polymères les plus couramment utilisés dans les communautés biotechniques et biomédicales grâce à ses caractères hydrosolubles, non toxiques et biodégradables. L'activité antimicrobienne de cette molécule est l'une des propriétés qui ont été insuffisamment étudiée. Cependant, un effet antibactérien a été signalé dans quelques études (**Larry, 2005, Hench, Julian R. Jones (eds.); Nalawade et al., 2015 ; Carreira et al., 2007**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail dont le but est d'étudier l'effet antifongique du polyéthylène glycol et d'explorer son spectre d'action sur différentes souches fongiques pathogènes. Au meilleur de nos connaissances et recherche documentaire, aucune étude à ce jour a mis l'accent sur l'élaboration de nouvelles alternatives aux antifongiques usuels à base du polyéthylène glycol.

La première partie de notre travail est consacrée à la description de données bibliographiques relatives aux champignons pathogènes « le *Fusarium* » et « le *Candida* » et finalement au polymère étudié dans ce travail « le polyéthylène glycol ». La seconde partie est consacrée à l'étude expérimentale, elle est basée sur les étapes suivantes :

- ✓ Caractérisation par spectroscopie infrarouge (FTIR) du polyéthylène glycol.
- ✓ Identification morphologique, macroscopique et microscopique des souches utilisées.
- ✓ Evaluation in-vitro du potentiel antifongique du PEG.

La troisième partie renferme la présentation, la comparaison et la discussion des résultats obtenues.

Enfin, ce travail est clôturé par une conclusion générale et la mise en évidence des perspectives de recherche.

Partie I

Étude bibliographique

I.1. Champignons phytopathogènes

Les champignons phytopathogènes sont des eucaryotes hétérotrophes susceptibles de provoquer des maladies sur les plantes cultivées et des altérations sur les récoltes, réduisant ainsi leur qualité par la présence de mycotoxines, ce qui cause des pertes financières importantes. Le genre *Fusarium* figure parmi les champignons phytopathogènes les plus fréquents (Regnault-Roger *et al.*, 2005)

I.1.1. Description du genre *Fusarium*

Le *Fusarium* est un genre de moisissures appartenant à la division des ascomycètes, il tire son nom du latin « fusus » en raison de la forme en fuseau de ses spores, il comprend environ 65 espèces (Smahi, 2008).

Ce champignon possède une structure filamenteuse avec des cloisons transversales disposées régulièrement à l'intérieure des hyphes à l'extrémité desquels apparaissent par reproduction asexuée les chlamydospores. Toutefois la production d'ascospores peut avoir lieu par reproduction sexuée (Leclerc *et al.*, 1983).

Il produit des métabolites secondaires mycotoxinogènes dangereuses pour l'Homme et le bétail, ces fusariotoxines sont réparties en trois grandes familles : les trichothécènes (TCT), la zéaralénone et ses dérivés (ZEN) et les fumonisines de type B (FB) (Gonzalez *et al.*, 1999).

I.1.2. Pathogénicité du genre *Fusarium*

La fusariose désigne la maladie causée par *Fusarium*, un contaminant cosmopolite, rencontré dans le sol, l'air et l'eau. Le parasite fréquent des céréales, fruits, riz, canne à sucre et du coton (Guillaume, 2006).

Selon Blancard *et al.* (2003), le développement de cette maladie dans les plantes passe généralement par les étapes suivantes :

✓ **Sources de l'inoculum :** Ce champignon est maintenu dans le sol grâce aux débris végétaux et à ses chlamydospores aux parois épaisses et résistantes. Son aptitude à la vie saprophytique favorise sa colonisation et sa survie sur divers composés organiques.

✓ **Pénétration, invasion :** après germination de ses chlamydospores, le *Fusarium* pénètre dans les organes végétaux soit par l'intermédiaire de blessures naturelles, soit via

diverses altérations. Une fois dans la plante, il gagne les vaisseaux et les envahit de son mycélium.

✓ **Sporulation, dissémination** : Le champignon produit des chlamydospores et des microconidies dans les vaisseaux et sur les tissus colonisés. La dissémination peut certainement avoir lieu par le matériel agricole souillé, par la terre contaminée et par les débris végétaux. Les poussières de sol contenant les chlamydospores sont aisément disséminées par les courants d'air ainsi que par les éclaboussures d'eau.



Figure n°1: Symptômes causés par *Fusarium* spp. a) Jaunissement et flétrissement des feuilles basses. b) Brunissement des vaisseaux des parties basses de la tige. c) Système racinaire réduit et pourri (Blancard, 2009).

I.1.3. Fongicides agricoles

Les fongicides forment une voie de lutte opérationnelle contre les maladies dominantes des plantes cultivées, on note des fongicides de surfaces qui ont un effet préventif, et des produits curatifs susceptibles de bloquer les champignons durant leur période d'incubation. La dispersion des fongicides peut se faire d'une face du limbe foliaire à l'autre (translaminaire), dans le xylème (apoplastique), dans le phloème (symplastique) soit dans les deux (ambimobile) (Regnault-Roger *et al.*, 2005)

Les Fongicides assurent leur action par différents mécanismes, ils peuvent influencer les processus respiratoires (les strobilurines), ou bien inhiber la biosynthèse de stéroïdes (fénaïmole), il y a aussi des fongicides anti-microtubules (carbendazime) (Leroux, 2003a).

Le spectre d'action d'un fongicide correspond aux champignons phytopathogènes susceptibles d'être contrôlés, les espèces peu ou pas sensibles sont naturellement résistantes, tant que la résistance acquise implique un changement génétique chez une espèce sensible entraînant une réduction d'activité du fongicide (**Leroux, 2003b**).

I.2. Champignons pathogènes humains

Les champignons peuvent être responsables des mycoses superficielles ou profondes chez l'Homme le plus souvent opportunistes. On compte aujourd'hui plus de 400 espèces fongiques incriminées en pathologies humaines dont les levures du genre *Candida* sont les plus fréquemment rencontrées, elles représentent près de 83% de toutes les levures isolées chez l'Homme (**ANOFEL, 2014 ; Koing, 1995**).

I.2.1. Description du genre *Candida*

Le *Candida* est un champignon levurien pathogène aérobique, membre de la flore normale du tractus digestif, de l'appareil respiratoire, du vagin et de la bouche, qui peut provoquer chez l'Homme et l'animal des maladies dénommées globalement candidoses. (**Larpen, 1990 ; Larpen, 1997 ; Prescott et al., 2003**).

Sur le plan taxonomique, le genre *Candida* est classé parmi les Ascomycètes, il comprend plus de 200 espèces de levures non pigmentées, non capsulées donnant des colonies blanches, crémeuses, lisses ou plus moins rugueuses, sur gélose Sabouraud après 24-48h d'incubation à 37°C (**Krick et al., 2008; Bourouda, 2010; Koing, 1995; Agbo-Godeau et Guedj, 2005; Anane et Khalfallah, 2006**).

Sur le plan microscopique, ces levures présentent trois formes, La forme végétative (blastospore), la forme de pseudo mycélium (cellules allongée) et la forme d'un mycélium vrai (champignon filamenteux) (**Lagane, 2007**).

Chez cette levure la reproduction est faite de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (**Graser et al., 1996**).

I.2.2. Pathogénicité du genre *Candida*

La candidose est une mycose due à des champignons dimorphes du genre *Candida*, on incrimine plus de 20 espèces de *Candida* capables d'infecter les humains, plus particulièrement *C. albicans* et *C. glabrata*. Contrairement aux autres champignons

pathogènes, ces deux organismes représentent une partie du microbiote normal du corps. Chez les individus sains, ils ne provoquent pas de maladies parce que leur développement est inhibé par d'autres microbiotes et par les mécanismes de résistance de l'hôte. Mais, si l'équilibre du microbiote normal et de l'immunocompétence est perturbé, ces champignons peuvent se multiplier rapidement et provoquer une candidose.

La plupart des infections affectent la peau ou les muqueuses ceci résulte du fait que ce sont des aérobies stricts et que ces surfaces présentent des conditions de développement adéquates. Ils atteignent généralement la peau lorsqu'elle est endommagée ou très humide (Willey *et al.*, 2018).

Au niveau clinique, les candidoses sont classées en deux groupes, **les candidoses superficielles** (qui sont à l'origine de lésions cutanéomuqueuses inflammatoires) et **les candidoses profondes** (ou systémiques définies par la présence d'un *Candida* dans le sang détecté par une hémoculture positive) (ANOFEL, 2014).



Figure n° 2 : Candidose buccale (muguet) (ANOFEL, 2014)

I.2.3. Traitement conventionnelle

Les candidoses sont généralement traitées par des médicaments antifongiques, ces composés sont regroupés en 4 classes principales (échinocandines, polyènes, azolés, 5-fluorocytosine) qui agissent soit au niveau de la paroi fongique, soit sur la membrane fongique ou soit au niveau de l'acide nucléique exerçant un effet toxique sur les mycètes causant l'infection (Aoun, 2014 ; CNPM, 2019).

Le fluconazole est un antifongique hydrosoluble qui a été largement utilisé pour traiter un large éventail d'infections à *Candida*, il appartient à la classe des azolés, le mécanisme d'action de ces composés réside essentiellement dans l'interférence avec la biosynthèse de

l'ergostérol, un composant majeur de la membrane fongique (l'équivalent du cholestérol dans la cellule de mammifère), cette interférence provoque des anomalies de perméabilité membranaire (**Bryskier, 2005**).

II.1. Présentation du polyéthylène glycol

Le polyéthylène glycol (ou PEG), est un polymère synthétique largement utilisé grâce à ses propriétés hydrosolubles et biocompatibles, il s'agit d'un polyéther neutre linéaire ou ramifié avec de nombreux poids moléculaires (de quelques centaines jusqu'à 20 000g/mol), fabriqué à partir de monomères d'éthylène glycol (C₂H₄O) (**Larry, 2005, Hensch, Julian R. Jones (eds.) ; Harris, 1992**).

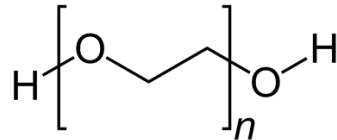


Figure n°3 : Représentation schématique de la structure du PEG (**Aoun, 2014**)

II.2. Propriétés du PEG

Les PEG possèdent une variété de propriétés pertinentes, parmi ces propriétés (**Harris, 1992 ; Kawai, 2005 ; Hermanson, 2008**) :

- Soluble à la fois dans l'eau et dans de nombreux solvants organiques.
- Non toxique ; Approuvé par la FDA et bio éliminable par filtration rénale.
- Hémato compatible et faiblement immunogène.
- Non polluant et dégradable par plusieurs microorganismes.

Lorsque le PEG est attaché à d'autres molécules, il n'influence pas leur activité et permet :

- D'améliorer leur solubilité.
- De réduire leur immunogénicité et antigénicité.
- De protéger les peptides et les protéines de la dégradation protéolytique.
- De déplacer les molécules à travers les membranes cellulaires, en facilitant l'endocytose.

II.3. Domaines d'application du PEG

Les PEG sont aujourd'hui utilisés dans de nombreux secteurs industriels, leurs caractères physicochimiques et biologiques sont rapidement révélés intéressants pour la fabrication de produits alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques ou encore de textile, de cuir, pour la préservation du bois, etc. (Nina Balès, 2014). Le tableau suivant présente les principales applications des PEG :

Tableau n° 01 : Quelques applications industrielles du PEG

Domaine/Secteur	Applications utiles
Alimentaire	Additif alimentaire (E1521/SIN1521) ; Antimoussant, Support, Emulsifiant, Agent d'enrobage, Epaisissant (Codex Alimentarius, adopté 1995, dernière révision 2019)
Médicale	Conservation d'organes ; assurer la pression oncotique, effet immunoprotecteur (Badet et al, 2006)
Biomédicale/ Biotechnique	Précipitation des protéines, des virus et des acides nucléiques (Zalipsky & Harris, 1997)
Pharmaceutique	-Excipient pharmaceutique : Solubilité améliorée du Principe Actif, libération contrôlée, protection de la dégradation en milieu biologique et longévité dans la circulation sanguine (Zalipsky & Harris, 1997) -Principe actif : laxatif osmotique (Macrogol) (Dumont, A. et al., 2010)
Cosmétique	Gélifiant, Epaisissant, Emulsifiant, Humectant, Facilite l'absorption des composés du produit par la peau (Virginie Gerber, 2013)

II.4. Intérêt du PEG en microbiologie

Les PEG reçoivent actuellement une attention particulière dans le domaine de la microbiologie, ils font l'objet de nombreuses études dont certaines ont prouvé que :

- Le PEG empêche l'adhésion bactérienne ce qui permet son utilisation comme polymère de revêtement des implants afin de prévenir leur infection (**Sarita, 2019**).
- Le PEG est un agent bactéricide puissant qui peut être utilisé en association avec les antibiotiques pour réduire les concentrations administrées et limiter la prévalence de l'antibiorésistance (**Nalawade et al., 2015**).

- L'encapsulation des antifongiques par le PEG a permis d'améliorer leur solubilité, de les protéger de la dégradation enzymatique et phagocytaire, par conséquent, moins de médicament sera nécessaire pour avoir la même efficacité (**Aoun, 2014**).
- Le PEG est également utilisé dans la transformation des protoplastes fongiques pour l'obtention d'hybrides somatiques (**Liu & Friesen, 2012**).

Chapitre III

Matériel & Méthodes

III.1. Objectifs du travail

L'objectif principal de cette étude consiste à estimer l'activité antifongique du polyéthylène glycol (PEG) à l'égard de souches fongiques pathogènes et déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et/ou de la concentration minimale fongicide (CMF) des souches qui ont montré une certaine sensibilité. Pour répondre à cet objectif général nous allons :

- Comparer l'activité antifongique *in-vitro* du PEG à celle d'un fongicide classique (trifloxystrobine 50%) sur quatre souches fongiques phytopathogènes soient le *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. redolens*, *F. equiseti* et déterminer l'effet de l'association PEG-fongicide à l'égard de ces souches.
- Comparer l'effet antifongique *in-vitro* du PEG à celui d'un médicament antifongique de référence (fluconazole (FCA)) sur *Candida* sp. et étudier l'effet de l'association PEG-FCA à l'égard de cette souche.

III.2. Lieu et période du travail

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire de la Microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Ibn Khaldoun, Tiaret. L'étude s'est étalée du 08/03/2020 jusqu'au 12/03/2020, et s'est arrêtée à cause de la pandémie Covid-19.

III.3. Matériel

III.3.1 Matériel biologique

Les souches de *Fusarium* appartiennent à la mycothèque du Laboratoire de Microbiologie Appliquée, Université Ahmed Ben Bella, Oran 1. Elles étaient utilisées pour déterminer le potentiel antifongique du PEG sur les moisissures nuisibles et étudier l'effet de la combinaison PEG-Fongicide. Les informations sur l'origine de chaque souche sont représentées dans le Tableau n° 02, leur observation et description dans le Tableau n° 03.

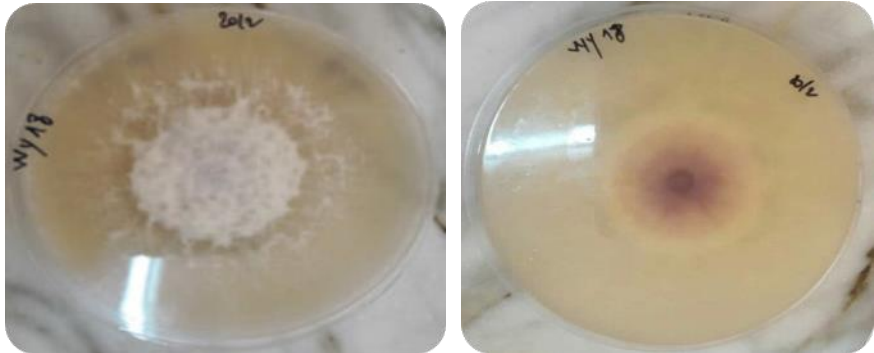
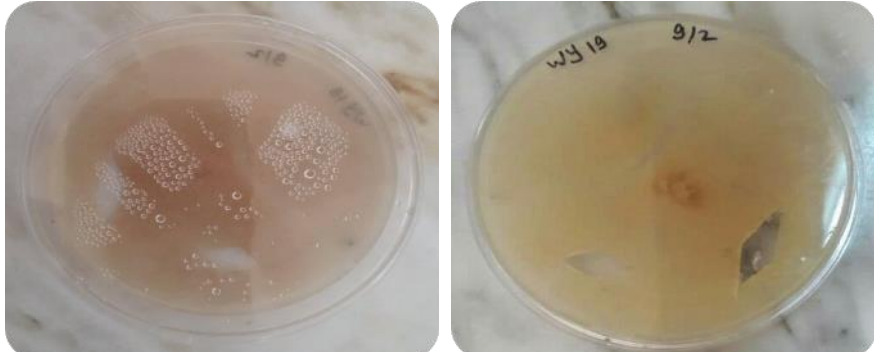
Une souche de *Candida* sp. d'origine clinique a été obtenue auprès de laboratoire d'analyses médicales de Dr. BOUZIANE (Tiaret), cette souche est issue d'un prélèvement vaginal, elle était utilisée comme souche cible pour évaluer l'activité antifongique du PEG et étudier l'effet de son association avec le FCA. Cette souche est entretenue par repiquages successifs et conservée à +4°C (Figure n° 04).

Nous avons choisi de travailler sur des souches de moisissures phytopathogènes et une souche levurienne pathogène humaine pour donner une idée sur le spectre d'activité antifongique de notre produit.

Tableau n° 02 : Code, espèce et numéro d'accèsion des souches utilisées.

Code	Espèce	GenBankAccession n°
WY2	<i>Fusarium solani</i>	MG973089
WY6	<i>Fusarium redolens</i>	MG973092
WY18	<i>Fusarium oxysporum</i>	MG973096
WY19	<i>Fusarium equiseti</i>	MG017437

Tableau n° 03 : Observations et description des caractères macroscopiques des souches utilisées.

Souches fusariennes	Aspect
 <p style="text-align: center;"><i>Fusarium oxysporum</i></p>	Un mycélium aérien blanc, peu dense, floconneux. Revers incolore violet au centre
 <p style="text-align: center;"><i>Fusarium equiseti</i></p>	Un thalle à croissance moyenne, mycélium aérien avec des amas floconneux de couleur crème à brun jaunâtre. Revers couleur pêche, évoluant vers le brun sombre.



 <p style="text-align: center;"><i>Fusarium solani</i></p>	<p>Un mycélium aérien plus ou moins diffus ou dense et floconneux avec un thalle blanc. Revers brun.</p>
 <p style="text-align: center;"><i>Fusarium redolens</i></p>	<p>une décoloration pâle, à beige de la gélose avec un mycélium aérien relativement plat, velu (brin).</p>



Figure n° 4 : Photographie de la souche *Candida sp.* utilisée dans notre étude.

III.3.2. Milieux de culture

Deux milieux ont été utilisés durant cette étude ; le milieu PDA est utilisé pour la culture et les tests antifongiques des souches de *Fusarium* ; et le milieu Sabouraud est utilisé pour la souche de *Candida* (Annexe 1).

III.3.3. Produits et appareillage

- Polyéthylène glycol (PEG) : afin de réaliser cette étude, deux poids moléculaires de polyéthylène glycols (PEG3400 et PEG20000) de pureté 99.999% provenant de chez Sigma-Aldrich ont été utilisés.
- Médicament antifongique : fluconazole à 150mg, commercialisé en pharmacies.

- Fongicide : le fongicide utilisé est commercialisé sous le nom Flintrifloxystrobine 50%. (Annexe 2).



Figure n° 05 : Photographies des produits utilisées durant notre étude.

- Les autres produits, les verreries ainsi que les appareils sont mentionné dans le tableau IV.

Tableau n°04 : Appareillage, verrerie et produits utilisés.

Appareillages	Produits	Autres
- Microscope optique «OPTIKA»	- Bleu de méthylène	- Bec Bunsen
- Vortex «TECHNO KARTELL»	- Eau distillée stérile	- Boîtes de Pétri
- Incubateur «MEMMERT 854 SCHWABACH WGERMANY»	- Hypochlorite de sodium (Eau de javel)	- Ance de platine
- Autoclave «WOLF WESKZEUG VORRICHLUNGSUN 7340 GEISLINGEN»	- Eau physiologique	- Pince de platine
- Agitateur «IKAMAG»		- Pissettes
- Bain marie «MEMMERT»		- Portoir de tube a essais
- Balance magnétique «KERN 440-45N »		- Tubes à essai
- Four Pasteur «HERAEUS»		- Flacons
-Micropipette «EASY+40 Labbox »		-Béchers
- Balance de précision		- Éprouvettes
- Spectromètre FTIR		- Pipette Pasteur
- Lame de Malassez		- Ruban adhésif
		- Pied à coulisse

III.4. Méthodes

III.4.1. Protocole expérimental

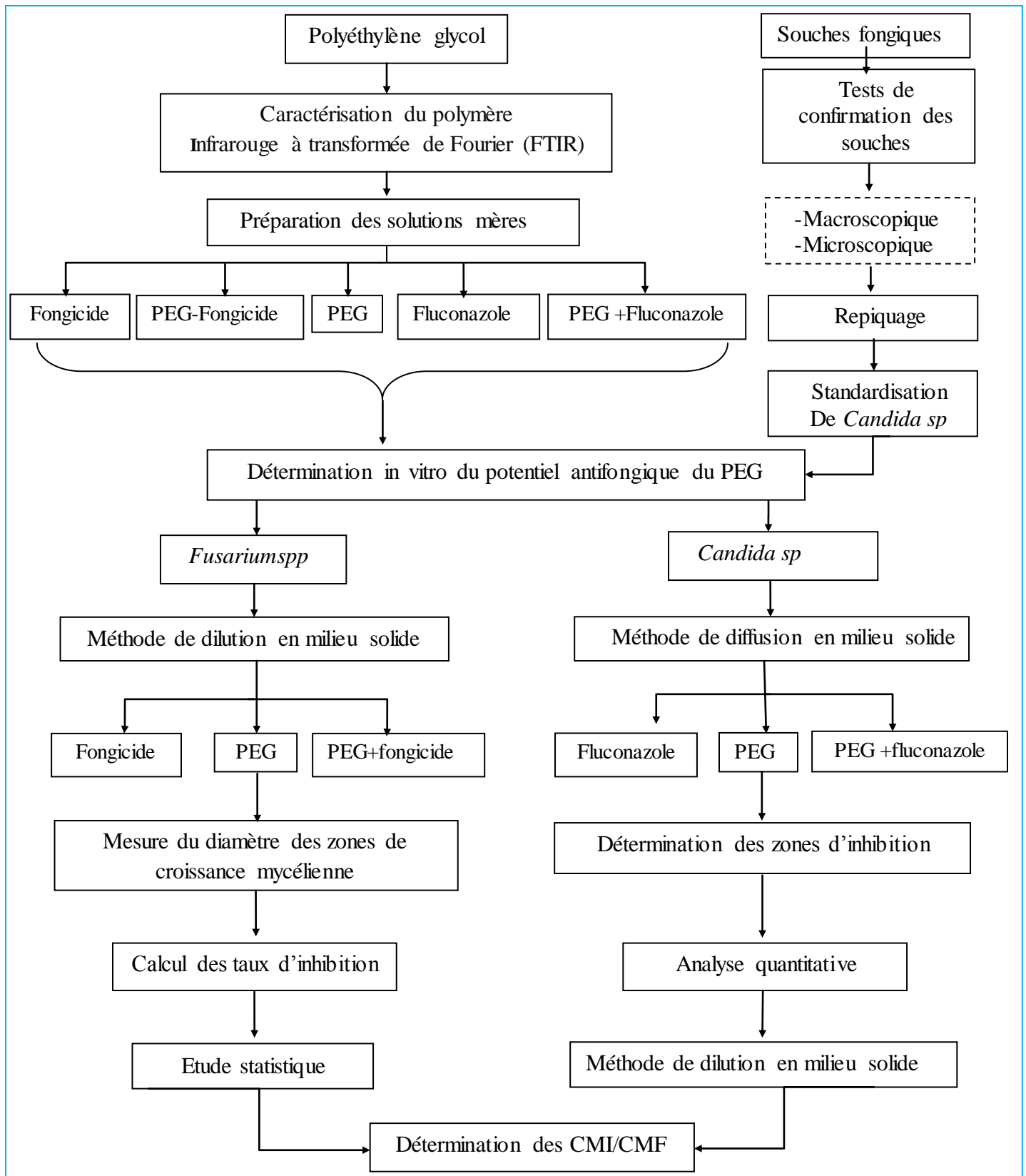


Figure n°06 : Schéma du protocole expérimental

III.4.2 Caractérisation par spectroscopie infrarouge FTIR du PEG 20000

- **Principe**

La spectroscopie par transmission infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), est une méthode traditionnellement utilisées pour les analyses qualitatives comme l'identification des polymères. Cependant, la FTIR peut se révéler un outil quantitatif très utile (**Bergeron, Carl., 2011**).). Elle est considérée comme la meilleure méthode de spectroscopie infrarouge. Le principe est d'exposer l'échantillon à une gamme de rayonnements électromagnétiques de l'IR moyen. Lorsque le rayonnement IR passe à travers un échantillon, une partie du rayonnement est absorbée par l'échantillon et une partie passe (est transmise). Le signal résultant au niveau du détecteur est un spectre représentant une «empreinte digitale» moléculaire de l'échantillon. L'utilité de la spectroscopie infrarouge vient du fait que différentes structures chimiques (molécules) produisent différentes empreintes spectrales (**Thermo Fisher scientific, 2013**).

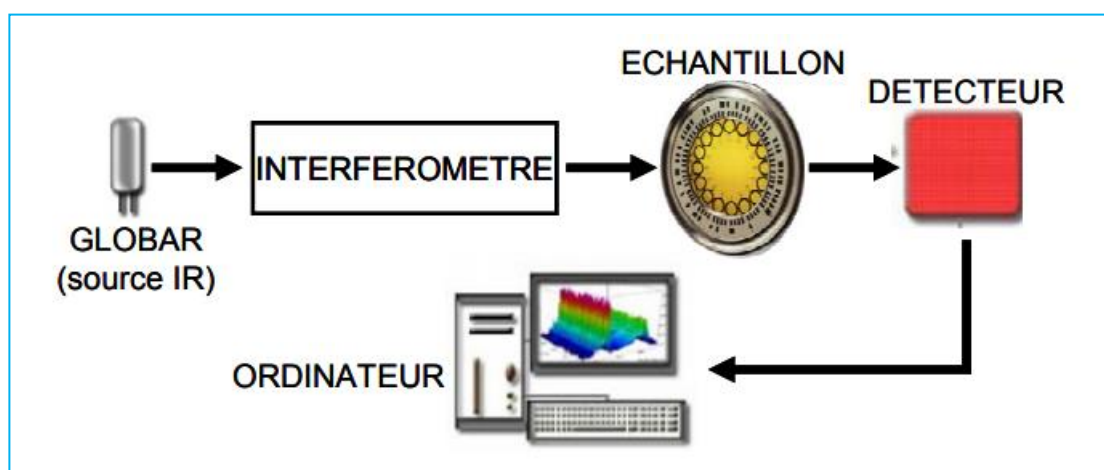


Figure n°07 : Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (**Essendoubi, 2007**)

- **Description du protocole**

-Préparation de l'échantillon en pastille de KBr : l'échantillon du PEG en poudre est incorporé à un support qui n'absorbe pas dans l'IR moyen, ici le bromure de potassium (KBr) est utilisé. Un mélange homogène à environ 1% de poudre PEG/poudre KBr est préparé puis finement broyé. Il est déposé dans un moule puis soumis à une très forte pression dans une presse hydraulique. Il est ensuite extrait du moule sous la forme d'une pastille.

-Acquisition des spectres d'absorption FTIR : le porte-échantillon contenant la pastille KBr/PEG est placé dans le compartiment de mesure du spectrophotomètre sur le trajet du faisceau incident. Le signal enregistré par le détecteur prend en compte, non seulement

l'absorption du rayonnement IR par le produit à étudier, mais aussi par l'air présent dans le compartiment de mesure et éventuellement par le KBr s'il n'est pas complètement anhydre. Il faut donc enregistrer un spectre de bruit de fond de l'air (éventuellement d'une pastille de KBr pure), qui sera ensuite soustrait du spectre obtenu avec la pastille contenant l'échantillon. Cela permet de se débarrasser des absorptions parasites (Auclair Jean Jacques, 2019).

- **Lecture**

La transformée de Fourier convertit la sortie du détecteur en un spectre interprétable avec des motifs qui fournissent des informations structurales. La lecture s'effectue par la comparaison du spectre infrarouge de transmittance (FTIR) obtenu expérimentalement de l'échantillon PEG-20000 avec le spectre théorique trouvé dans une banque de données.

III.4.3 Détermination *in-vitro* de l'activité antifongique du PEG sur les souches fusariennes

➤ Principe

Le test de l'influence du PEG comparativement au fongicide, ainsi que celui de la combinaison PEG-fongicide sur les souches de *Fusarium* spp. a été réalisé *in-vitro* par la méthode de dilution en milieu solide. Cette technique consiste à incorporer le composé antimicrobien aux différentes concentrations dans un milieu gélosé (PDA). L'activité antifongique est révélée par la réduction des diamètres de la croissance mycélienne par rapport au témoin sans aucune addition. Ces diamètres vont permettre le calcul du taux d'inhibition (Ic%). La détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne de chaque souche fongique permet de définir, pour chaque substance à tester, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF). Cette dernière correspond à la plus petite concentration à partir de laquelle aucune croissance mycélienne n'est observée dans les nouvelles boîtes de Pétri où les explants ont été réensemencées (Orsotet *al.*, 2016 ; Karkachi, 2013).

III.4.3.1 Préparation des souches mycéliennes, confirmation de la pureté, repiquage

➤ Confirmation de la pureté des souches mycéliennes

Pour la confirmation de l'identité de nos souches fongiques, qui sont déjà identifiées et référencées, une observation de l'aspect macroscopique des colonies sur milieux de culture et une observation microscopique ont été réalisées.

-Etude des caractères macroscopique

Les caractères macroscopiques sont étudiés par préférence sur un milieu PDA car les milieux trop riches en sucre et en peptone entraînent des phénomènes de pléomorphisme, les colonies peuvent perdre leur aspect caractéristique et ne pas sporuler (**Guiraud, 1998**). Les caractères culturaux ainsi étudiés sont :

- La vitesse de croissance ;
- La couleur des colonies et la variation des couleurs en fonction du temps ;
- La structure du thalle ;
- La couleur de l'envers des colonies, la couleur et changement de couleur du milieu ;
- La présence de gouttes de transpiration sur le mycélium aérien (exsudat) et les odeurs.

-Etude des caractères microscopiques

L'observation microscopique s'effectue par la technique du drapeau (technique de scotch). Cette technique consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de méthylène (**Chabasse et al, 2002**).

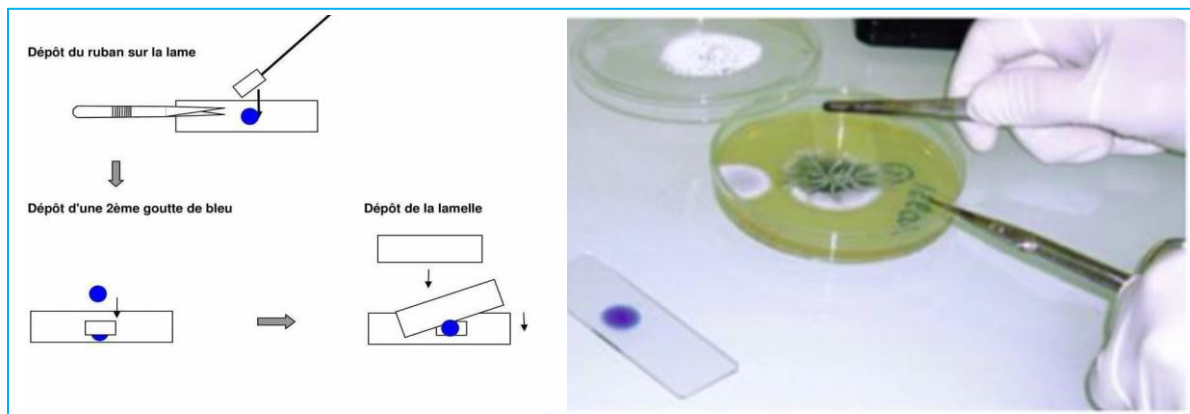


Figure n° 08 : Illustration de la technique du drapeau (Scotch).

Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements x40, x100. Elles doivent permettre de décrire :

- Hyphes cloisonnés ou non ;
- Mycélium diffus, épais, coloré, incolore ;
- Présence et type de spores sexuelles : oospore, zygosporé, ascospores et basidiospores ;
- Présence de spores asexuées : type et apparence ;
- Agencement des conidiophores et sporangiophores.

Remarque : Cette étape n'a pas été réalisée à cause de la pandémie **Covid-19**, qui nous a obligées de quitter le laboratoire et de se baser sur des observations microscopiques des mêmes souches appartenant à notre Co-promoteur le Dr. Yezli (Figure n°09)

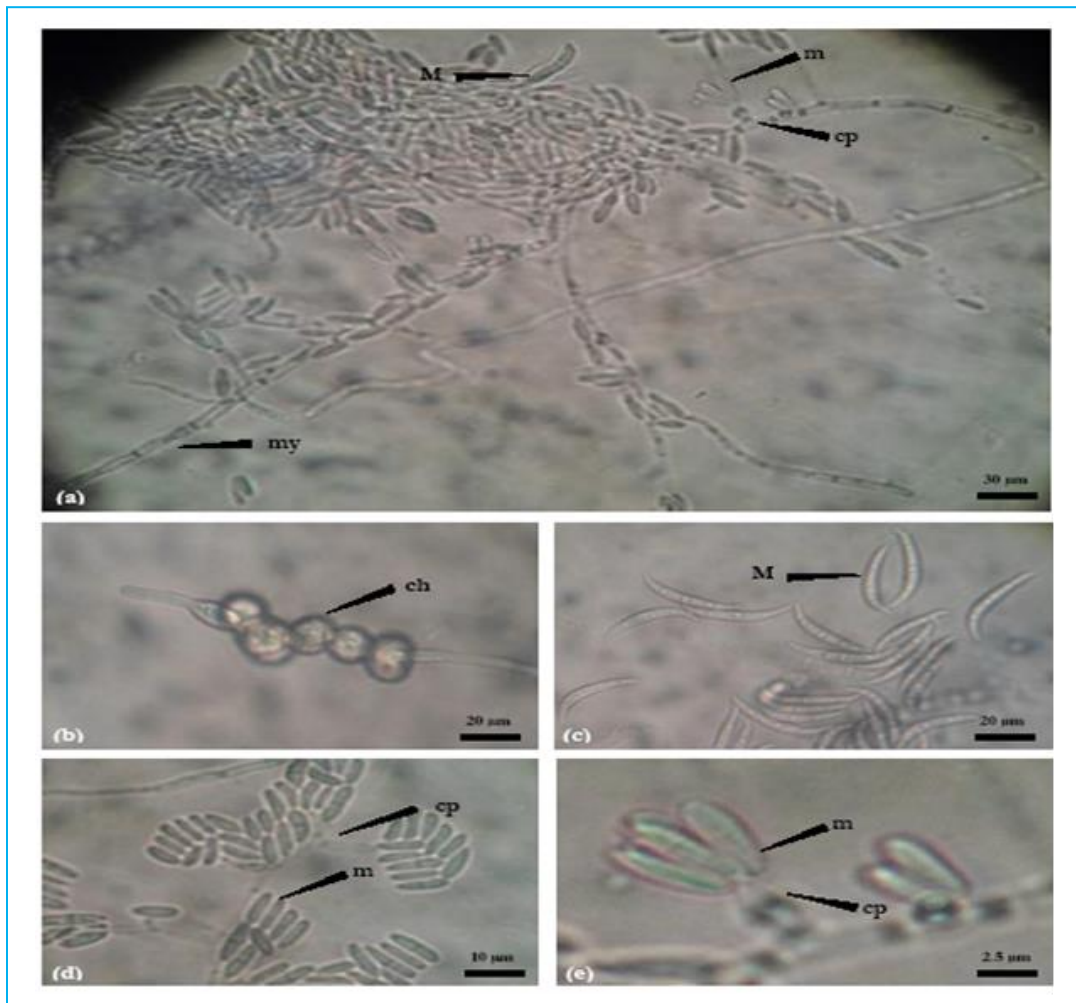


Figure N° 09 : Observations microscopiques du mycélium et des différentes conidies produites par les espèces de *Fusarium*. (a) mycélium cloisonné, macroconidies et microconidies ; (b) chlamydozoospores intercalaires en file ; (c) macroconidies à trois cloisons ; (d) microconidies bicellulaires ; (e) microconidies unicellulaires regroupées en fausse tête, produites par une monophialide reposant sur un microconidiophore. **M** : macroconidie ; **m** : microconidie ; **cp** : conidiophore ; **ch** : chlamydozoospore ; **my** : mycélium (Yezli, 2017).

➤ Repiquage

Un simple repiquage est réalisé sur milieu PDA en suivant la méthode de cylindres d'agar. L'incubation est faite à 28°C pendant 15 jours.

III.4.3.2 Préparation des solutions mères

➤ Solution du PEG

Afin de tester l'activité antifongique du PEG, une solution mère à 5.10^4 ppm était préparée en dissociant 750mg de la poudre du PEG 3400 g/mol dans 15 ml d'eau distillée stérile, du même pour PEG 20 000 g/mol, à partir de ces solutions les prélèvements seront réalisés pour l'incorporation du PEG dans le milieu PDA.

➤ **Solution du fongicide**

Pour la préparation des témoins positifs, 750 mg du fongicide était dissoute dans 15ml d'eau distillée stérile, afin d'obtenir une solution à 5.10^4 ppm.

➤ **Solution PEG-Fongicide**

Pour évaluer l'effet de l'association PEG-fongicide, Un volume de 2ml de la solution du fongicide est mélangé avec 2ml de chacune des solutions du PEG (3400 et 20000), la concentration finale du mélange est de 5.10^4 ppm.

III.4.3.3 Conditions expérimentales

Les milieux de culture PDA (Potato Dextrose Agar) ont été stérilisés à l'autoclave à une température de 121 °C, sous une pression de 1 bar pendant 15 minutes. Après refroidissement du milieu, à environ 45 °C, des volumes de 20, 40, 80 et 160 µl des solutions mères ont été incorporés au milieu PDA contenue dans des tubes de 20ml pour obtenir les concentrations de 50, 100, 200 et 400 ppm. Les milieux PDA additionnés de différentes solutions à tester ont été homogénéisés et versés dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre puis laissés solidifier.

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, des rondelles mycéliennes de 6 mm de diamètre ont été prélevées de la marge des colonies et déposées au centre géométrique des boîtes de Pétri préalablement préparées, ces boîtes ont été ensuite scellées avec du film adhésif et mises en incubation à l'étuve à la température de 28 °C, Un témoin sans fongicide a été réalisé dans les mêmes conditions de culture. Les essais ont été répétés trois fois pour chaque concentration et pour chaque souche fongique.

La mesure de la croissance radiale moyenne du mycélium a été réalisée tous les trois jours, jusqu'au recouvrement total de la surface du milieu de culture dans la boîte de Pétri témoin, soit quinze jours après la mise en culture. Les mesures de la croissance radiale du mycélium ont été effectuées selon deux droites perpendiculaires tracées au bas de chaque boîte de Pétri et qui se coupent en un point au milieu du disque mycélien. L'effet des fongicides sur la croissance du champignon a été déterminé à partir du taux d'inhibition (I_c) de la croissance mycélienne calculé par la formule suivante (Equation III.1) (**Karkachi, 2013 ; Hmouni et al., 1996**) :

$$I_c (\%) = \frac{(D_0 - D_c)}{D_0} \times 100 \quad (\text{Equation III.1})$$

I_c: taux d'inhibition.

D₀: diamètre de la croissance mycélienne dans les boîtes du témoin négatif (sans fongicide).

D_c: diamètre de la croissance du champignon à une concentration (c) du fongicide.

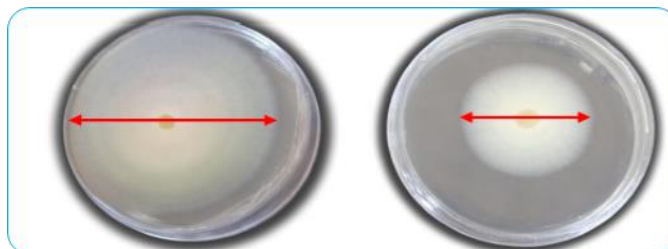


Figure N°10 : Méthode de mesure des zones de croissance mycélienne.

III.4.3.4. Etude statistique

A partir de l'équation de régression linéaire, entre les logarithmes décimaux des concentrations des fongicides et les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne, transformés en valeurs, les concentrations réduisant 50 % (CI50) et 95% (CI95) de la croissance mycélienne ont été déterminées. (Karkachi, 2013)

III.4.3.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale fongicide (CMF)

La détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne de chaque souche fongique a permis de définir, pour chaque agent à tester, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF). La CMI correspond à la concentration qui donne 100% d'inhibition. Elle peut être déterminée graphiquement à l'issue de l'étude statistique dans le cas où aucune concentration testée n'a donné un taux d'inhibition égale à 100%. La CMF correspond à la plus petite concentration à partir de laquelle aucune reprise de croissance mycélienne n'est observée dans les nouvelles boîtes de Pétri où les explants ont été réensemencées après avoir déterminé la CMI (Isidore *et al.*, 2019)

III.4.4 Détermination *in-vitro* de l'activité antifongique du PEG sur la souche *Candida sp*

- **Principe**

Le pouvoir antifongique du PEG, du fluconazole (FCA) et de la combinaison PEG-FCA a été déterminé qualitativement selon la méthode de diffusion par puits. Le principe est

basé sur la migration de l'agent antimicrobien par diffusion dans la gélose, la présence d'une activité inhibitrice se manifeste par l'apparition d'une auréole claire autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibition. Cette méthode permet d'avoir une idée préliminaire sur la capacité d'une substance à inhiber la croissance microbienne (Srfi *et al.*, 2013 ; Abdallah *et al.*, 2019 ; Khebichat, 2013)

III.4.4.1 Préparation de l'inoculum, identification, repiquage et standardisation

- **Identification**

Afin de confirmer l'identité de notre souche ; une identification macroscopique basée sur l'aspect de colonies et une identification microscopique à l'état fixée ont été réalisées.

L'examen macroscopique permet d'observer la taille, la forme, la couleur et l'aspect des colonies. Les cultures sont réalisées sur milieu Sabouraud, les levures du genre *Candida* poussent à 25-30°C voir 37°C après 24-48h donnant des colonies blanches et crémeuses de 1-3 mm de diamètre. Suivant l'espèce en question, leur texture peut être pâteuse, lisse, brillante, sèche, ridée ou terne (ANOFEL, 2019; Najah, 2012; Bourouda, 2010)

L'observation microscopique est réalisée à l'état fixée en faisant couler une solution de bleu de méthylène sur un frottis correctement fixé. Le temps de contact est de 1 minute. La lame est ensuite rincée à l'eau, séchée puis observée à l'immersion (Denis *et al.*, 2016).



Figure n°11 : Frottis de *Candida* sp. fixé et coloré au bleu de méthylène.

Le *Candida* sp. présente 3 formes microscopiques ; La forme végétative (blastospore), la forme de pseudo mycélium (cellules allongée) et la forme d'un mycélium vrai (champignon filamenteux) (Lagane, 2007). Sur le milieu Sabouraud (milieu riche), on n'observe que des formes levures (blastospores) (Cardinale, 2001).

- **Repiquage**

La souche a été conservée à +4°C au laboratoire de la faculté. A l'utilisation la souche a étéensemencée sur milieu Sabouraud par la méthode des stries de manière à obtenir des colonies isolées, puis incubée à 28°C pendant 48h, l'inoculum est préparé à partir de cette culture jeune (Srfi, A., *et al.*, 2013).

- **Standardisation**

L'inoculum est préparé par mise en suspension dans du sérum physiologique (annexe 4) stérile de l'équivalent de 5 colonies bien isolées de 1mm de diamètre. Après homogénéisation de la suspension au vortex, la détermination de la concentration de notre suspension est réalisée par comptage direct à la cellule de Malassez (Figure N°12).

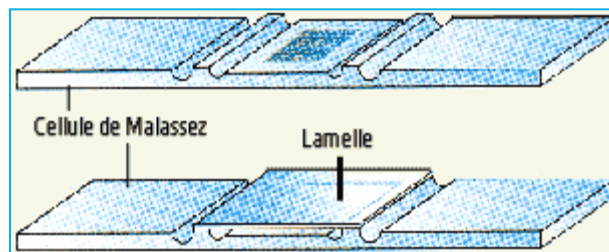


Figure N°12 : Cellule de Malassez (ElMansouri et Moutaj, 2013)

Une cellule de Malassez est une lame spéciale quadrillée qui permet le comptage de différents types de cellules. Pour réaliser le remplissage de la cellule, il faut :

- Humidifier les glissières latérales sur lesquelles va reposer la lamelle ;
- Déposer la lamelle sur les rebords, celle-ci doit adhérer par un "effet ventouse" ;
- Placer l'extrémité de la pipette contre la lamelle et délivrer par capillarité le liquide en évitant tout débordement vers les rigoles.

La cellule est composée de 100 rectangles et le comptage est réalisé sur 10 rectangles, le volume total de la lame est de 1 mm³. La concentration microbienne est calculée selon la formule suivante (Equation III.2) (El Mansouri et Moutaj, 2013):

$$C \text{ (en cellule/ml)} = \frac{\text{Nombre de cellules dans 10 rectangles}}{10 \times \text{volume total de la cellule en ml (10}^{-3}\text{)}} \times 100 \text{ (Equation III.2)}$$

L'inoculum de *Candida* doit correspondre à une concentration de 1.5 jusqu'à 2 .10⁶ UFC/ml, cette concentration est ajustée soit par addition de sérum physiologique soit par ajout de colonies supplémentaires (Srfi. *et al.*, 2013).

III.4.4.2 Préparations des solutions mères

- **Solution du PEG**

Les solutions du PEG (3400 et 20000g/mol) à une concentration de 50mg/ml préalablement préparées ont été utilisées pour tester *in-vitro* l'effet du PEG sur *Candida sp.*

- **Préparation du témoin positif**

Un témoin positif a été réalisé pour prouver la sensibilité de notre souche fongique et pour pouvoir effectuer une étude comparative entre l'activité du PEG et celle d'un antifongique classique. Pour cela on a dissocié une gélule de fluconazole dans un volume d'eau distillée de manière à obtenir une solution à 50mg/ml du médicament.

- **Mélange PEG-FCA**

Afin de déterminer l'effet de l'association PEG-fluconazole, une solution à 50mg/ml du mélange était préparée.

III.4.4.3 Conditions expérimentales

Dans des boîtes de Pétri de 90mm de diamètre, 20 ml du milieu Sabouraud à l'état liquide est coulé aseptiquement, et laissé refroidir à température ambiante pendant 24 heures pour une meilleure solidification du milieu. L'ensemencement par inondation est fait à partir de la suspension lévurienne préalablement préparée. Après avoir rejeté l'excès de liquide, la boîte de pétri est maintenue inclinée à 45°, et le liquide de l'inoculum collecté est aspiré à la micropipette. Un séchage pendant 30 minutes à 37° dans l'étuve, avec la boîte ouverte (ou semi-ouverte) est nécessaire avant la création des puits dans la gélose. Dans chaque boîte de Pétri, Un puits de 6 mm de diamètre est créé au centre de la boîte à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Ces derniers ont été remplis à l'aide d'une micropipette avec 20 µl de chaque solution mère. Dans les boîtes témoins, les puits sont remplis par 20 µl de solvant seul (eau distillée). Les essais sont réalisés en triple. Le produit antifongique, le PEG et la combinaison PEG-FCA sont laissés à pré diffuser 30 minutes à température ambiante, puis placés à l'étuve à 28 °C pendant 48 heures. Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition, ont été mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. (Srfi *et al.*, 2013).

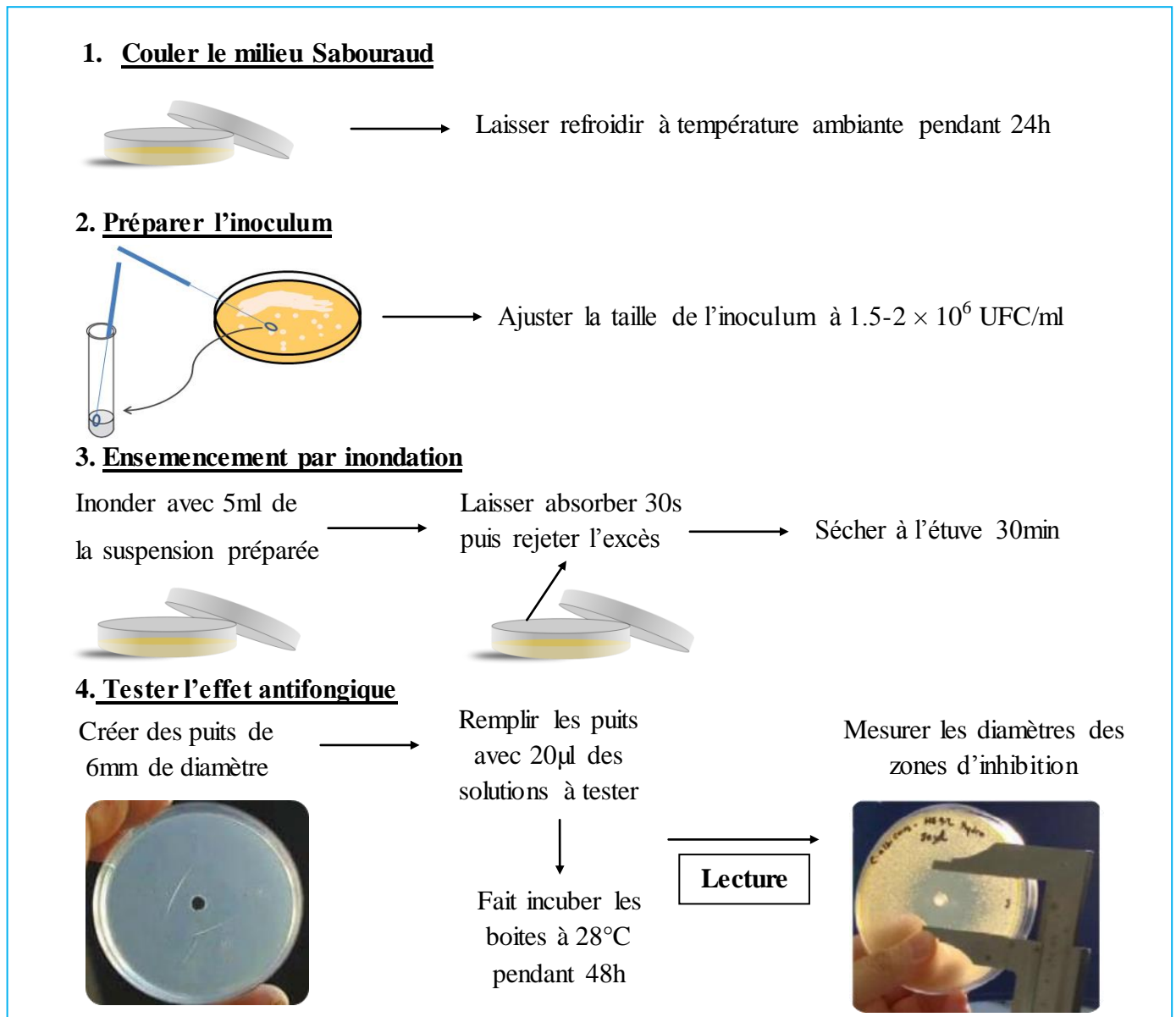


Figure N°13 : Illustration de la méthode de diffusion par puits suivie

III.4.4.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

- **Principe**

L'activité antifongique du PEG, FCA et de la combinaison PEG-FCA sur *Candida sp* a été évaluée quantitativement par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMIs) en suivant la méthode de dilution en milieu solide. L'agent antimicrobien est incorporé dans la gélose aux différentes concentrations. La CMI est définie comme la plus petite concentration de la substance antimicrobienne testée pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin négatif (Klančnik *et al.*, 2010 ; NCCLS, 1999 ; Khebichat, 2013).

• Mode opératoire

L'incorporation des différentes solutions mères au milieu Sabouraud se fait selon la méthode de référence décrite par la NCCLS en suivant les étapes ci-dessous :

-Préparer une série de dilution des solutions de FCA, PEG, PEG-FCA (31.2mg/ml, 62.5mg/ml, 125mg/ml 250mg/ml, 500mg/ml).

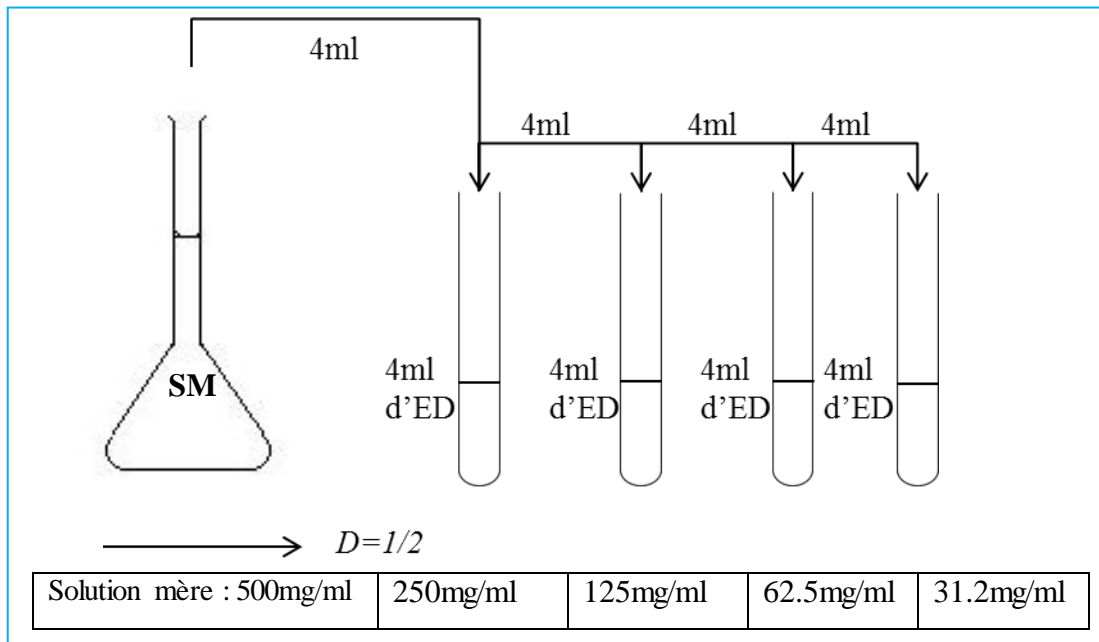


Figure N°14 : Illustration de la préparation des solutions à tester avec des dilutions en cascade.

-Ajouter 2ml de chaque solution à tester à 18ml du milieu Sabouraud maintenu en surfusion afin d'atteindre les concentrations de 3.12mg/ml, 6.25mg/ml, 12.5mg/ml, 25mg/ml, 50mg/ml du FCA, PEG, PEG-FCA dans le milieu, homogénéiser immédiatement le mélange et verser dans les boîtes de Pétri de 90mm de diamètre. Laisser refroidir. Répéter l'essai 3 fois.

-Déposer sur la surface des boîtes de Pétri des spots de 2 μ l de l'inoculum de *Candida sp* standardisé à 10⁸ cellules/ml.

-Incuber les boîtes préparées pendant 24h à 37°C (NCCLS, 1999 ; Khebichat, 2013 ; Carreira *et al.*, 2007).

• Lecture

La CMI est définie à partir de la première boîte de la gamme dépourvue de croissance microbienne (NCCLS, 1999 ; Khebichat, 2013).

- **Effet de l'association PEG-FCA**

Selon **El Alama *et al.*, (2017)**, Une synergie entre l'antifongique et le PEG est détectée par la présence d'une croissance fongique dans les boîtes du PEG et de l'antifongique, et l'absence de croissance dans les boîtes contenant le mélange des deux substances à la même concentration ou à des concentration plus faibles que les deux substances séparées. Cette dernière peut être évaluée en calculant un facteur appelé «facteur de l'Index de la Concentration Inhibitrice» ou «FICI ». Ce facteur est calculé par la formule suivante (Equation III.3):

$$FICI = \frac{CMI \text{ de l'antifongique dans le mélange}}{CMI \text{ de l'antifongique seul}} + \frac{CMI \text{ du PEG dans le mélange}}{CMI \text{ du PEG seul}} \text{ (Equation III.3)}$$

La synergie est considérée comme positive (présence de synergie) si $FICI \leq 1$ et négative (absence de synergie) si $FICI > 1$.

Chapitre IV

Résultats & Discussion

IV.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge FTIR du PEG 20000

La caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) des bandes d'absorptions infrarouges de notre homopolymère PEG ($M_n=20000 \text{ g.mol}^{-1}$) est obtenu par un spectrophotomètre Nicolet OMNIC FTIR en utilisant des pastilles en KBr enregistré sur la région entre 400 et 4000 cm^{-1} . Le spectre obtenu est représenté sur la figure (N°16). Un calcul de modélisation moléculaire est effectué sur une chaîne de 100 monomères (Figure N°15) pour prédire les différents modes de vibration expérimentales, dont le spectre est représenté sur la même figure (N°16). Le modèle théorique utilisé est basé sur la mécanique moléculaire en utilisant le champ de forces PCFF (Polymer Consistent Force field) en les combinant avec les relations de Kramers-Krönig (**King, 2002**) et les relations de Pankove (**Pankove & Kiewit, 1972**) selon le modèle décrit sur la littérature (**Soldera & Monterrat, 2002**).

On peut constater qu'une bonne concordance est enregistrée entre les deux spectres (expérimentale et théorique). Cela atteste que le modèle utilisé pour le calcul est très adapté pour prédire les spectres FTIR des polymères. La comparaison des deux spectres (expérimentale et calculé) révèle que la quasi-totalité des modes de vibrations prédit théoriquement sont présents expérimentalement à l'exception du mode très faible 1965 cm^{-1} qui est présent seulement expérimentalement.

Les positions et les attributions des différentes bandes d'absorption en termes de modes de vibration du spectre du PEG sont données dans le Tableau n°4. Plusieurs études nous ont permis de faire l'attribution des bandes du PEG (**Bergeron, Perrier, Potier, & Delmas, 2012**; **Li, Hsu, & Science, 1984**; **Pucić & Jurkin, 2012**; **Yoshihara, Tadokoro, & Murahashi, 1964**).

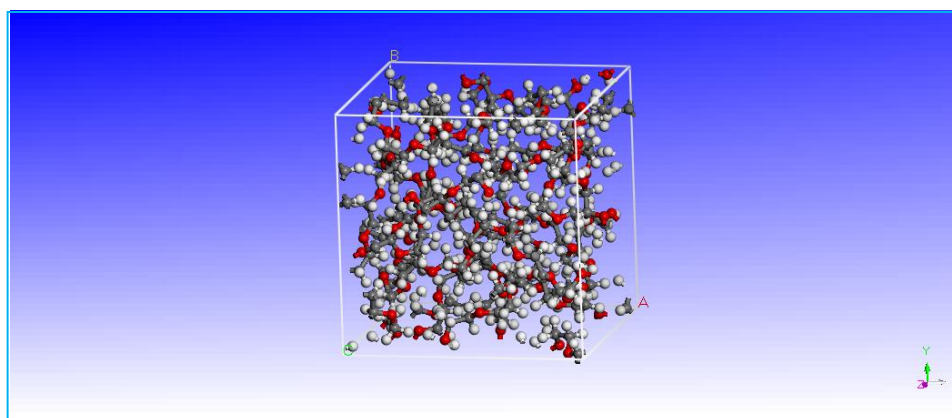


Figure N°15 : chaîne de polymère PEG à 100 monomères modélisé

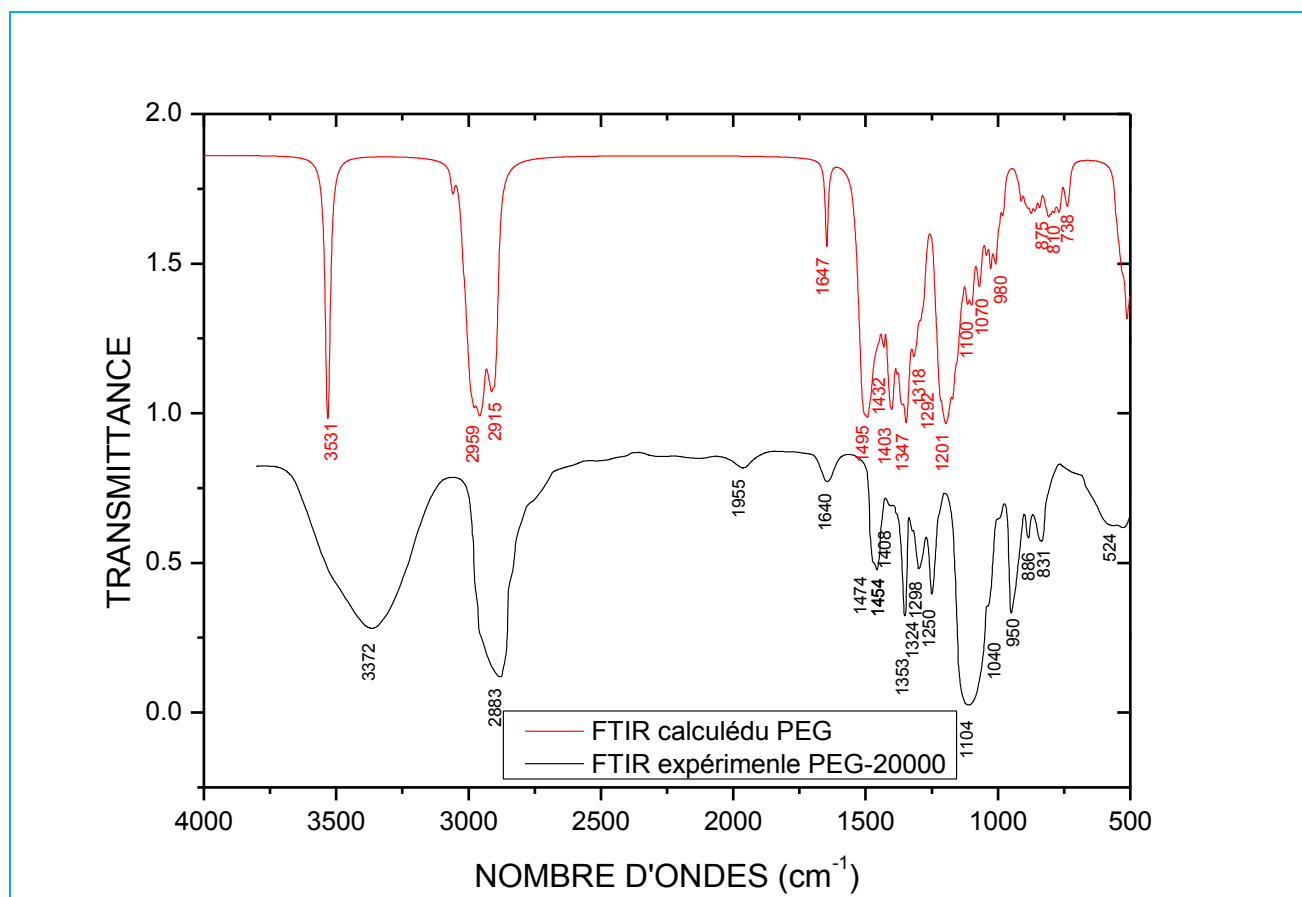


Figure N°16 : Spectre infrarouge (FTIR) expérimentale et théorique de transmittance d'un échantillon de PEG-20000 pur.

Tableau n°05 : Attribution des bandes d'absorption infrarouge du spectre du PEG (PM=20000 g.mol⁻¹)

Fréquences (cm ⁻¹) expérimentales	Fréquences (cm ⁻¹) calculées	Attributions
3372	3531	$\nu(\text{O-H})$
2883	2959/2915	$\nu_a(\text{CH}_2)$ out of plane
1965	-	$\gamma_r(\text{CH}_2)_s + \nu_s(\text{C-O-C})$
1640	1647	$\delta_a(\text{CH}_2)$
1474	1495	$\delta_a(\text{CH}_2)$
1454	1432	$\delta_a(\text{CH}_2) + \delta_s(\text{CH}_2)$
1408	1403	$\gamma_w(\text{CH}_2)_a$
1353	1347	$\gamma_w(\text{CH}_2)_s$
1324	1318	$\gamma_w(\text{CH}_2)_a$
1298	1292	$\gamma_t(\text{CH}_2)_a + \gamma_t(\text{CH}_2)_s$
1250	1201	$\gamma_t(\text{CH}_2)_a$
1104	1100	$\nu_a(\text{C-O-C})$
1040	1070	$\nu_s(\text{CH}_2) + \nu_a(\text{C-O-C})$
950	980	$\gamma_r(\text{CH}_2)_a + \nu_a(\text{C-O-C})$

886	875	$\gamma_r(\text{CH}_2)_a$
831	810	$\gamma_r(\text{CH}_2)_a$
524	738	$\delta_a(\text{CH}_2)$

- ν pour le mode élongation (*stretching*)
- δ pour le mode déformation (*bending*)
- γ_r pour le mode balancement (*rocking*)
- γ_w pour le mode agitation (*wagging*)
- γ_t pour le mode torsion (*twisting*)

Le signe (s) représente une vibration symétrique par contre le signe (a) représente une vibration asymétrique.

IV.2. Détermination *in-vitro* de l'activité antifongique du PEG sur les souches fusariennes

- Après 1 et 4 jours d'incubation, les résultats de l'observation de la souche *Fusarium redolens* ont montré une réduction importante de la zone de croissance mycélienne dans la boîte contenant le PEG en solution par rapport au fongicide et à la combinaison PEG-Fongicide à une concentration de 400ppm (0.4mg/ml) ainsi qu'au témoin sans aucun agent (figure N°17).

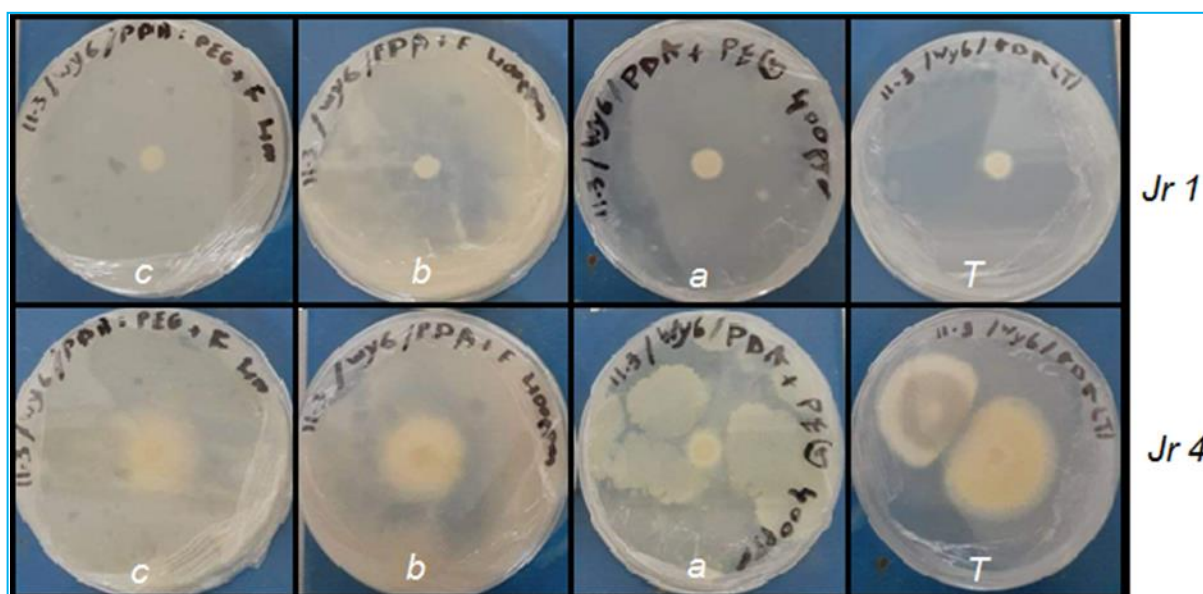


Figure N°17 : Croissance *in-vitro* de la souche *Fusarium redolens* en fonction de l'agent incorporé dans le milieu PDA après 1, 4 jours d'incubation à 28°C

T : témoin (sans aucun agent), **a :** PEG seul à 400ppm, **b :** fongicide seul à 400ppm
c : combinaison PEG-Fongicide à 400ppm

- Après les 4 jours d'incubation, nous avons mesuré les diamètres de la croissance mycélienne de la souche *F. redolens* sur les diverses solutions testées à une concentration

de 400ppm, les taux d'inhibition sont également calculés dont les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°06 : Zones de croissance de la souche *Fusarium redolens* avec les taux d'inhibition en absence et présence du PEG, du fongicide et de la combinaison PEG-Fongicide.

Agent	Témoin	PEG	Fongicide	PEG-Fongicide
Zones de croissance mycélienne (mm)	39	12	29	22
Taux d'inhibition (%)	-	69.23	25.64	43.58

L'essai préliminaire réalisé indique que le PEG possède un meilleur effet inhibiteur contre la souche de *Fusarium redolens* comparativement au fongicide, ainsi qu'à la combinaison PEG-Fongicide avec un taux d'inhibition de 69.23% pour le PEG contre 25.64% pour le fongicide et 43.58% pour la combinaison PEG-Fongicide. Toutefois la combinaison PEG-fongicide a montré un effet antifongique supérieur à celui du fongicide seul.

Les résultats obtenus nous ont permis d'avoir une idée préliminaire que le PEG présente un effet antifongique comparable voir supérieur à celui du fongicide et qu'il améliore également l'efficacité du fongicide. Cela pourrait être dû à une synergie d'action entre les deux composés. Toutefois la probabilité d'erreur est très importante car un seul essai a été réalisé.

IV.3 Détermination *in-vitro* de l'activité antifongique du PEG sur la souche *Candida sp*

IV.3.1 Préparation de l'inoculum, identification :

- L'aspect macroscopique des colonies de *Candida sp.* d'une culture de 24 et de 48 heures sur gélose Sabouraud à 37°C a démontré des colonies blanches, crémeuses et lisses.
- L'observation microscopique de *Candida sp* à l'état fixée avec une simple coloration au bleu de méthylène a démontré des cellules ovoïdes (blastospores) (Figure n°18).

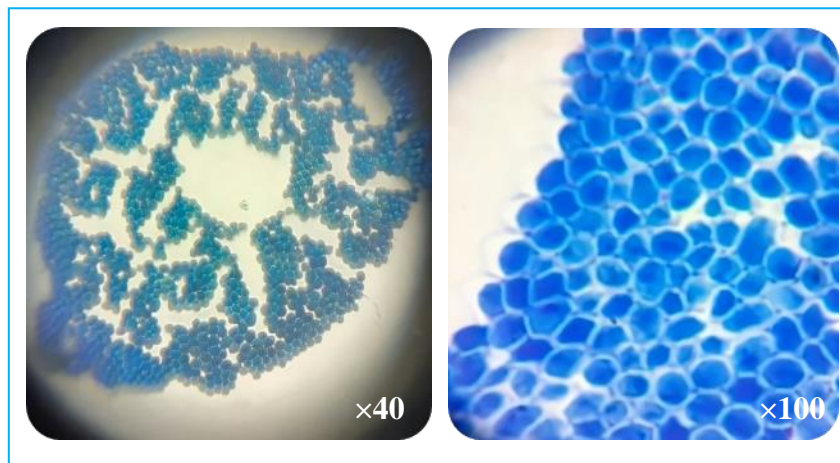


Figure N°18 : Observation microscopique de *Candida sp* aux objectifs (x40) et(x100)

IV.4. Discussion générale

Les champignons pathogènes représentent une véritable menace pour la santé humaine, pour l'agriculture et l'alimentation. Ils contribuent considérablement à la morbidité et à la mortalité humaine mais aussi aux pertes de rendement et à la dépréciation de la qualité des récoltes. Bien qu'on dispose aujourd'hui de plusieurs familles chimiques fongitoxiques en médecine humaine ainsi qu'en protection des cultures, le contrôle des maladies fongiques reste extrêmement difficile, d'une part du fait de la toxicité des molécules réellement efficaces et du leur coût élevé et d'autre part lié à l'émergence des souches résistantes aux antifongiques usuels. De cette façon, il est important que de nouvelles substances antifongiques plus efficaces, non toxiques et moins coûteuses soient développées (**Prescott et al, 2013 ; Rex et al, 1995 ; Khelil, 1977**).

En fait, les difficultés résultant du développement de nouveaux composés antifongiques ne doivent pas être sous-estimées. Ces difficultés concernent les champignons eux-mêmes et le territoire qu'ils envahissent. La présence d'une épaisse paroi cellulaire de polysaccharide dans les micromycètes empêche la pénétration intracellulaire d'un certain nombre de molécules. La structure déjà évoluée de la cellule fongique (eucaryote), explique également la toxicité d'un certain nombre d'agents antifongiques pour l'organisme hôte. De plus, la majorité des champignons ne sont pas des parasites obligatoires mais des organismes opportunistes (**Bryskier, 2005**).

Ces différents obstacles posent un problème critique aux professionnels de la santé. En réponse à ce défi, diverses stratégies sont exploitées pour le développement d'agents antimicrobiens efficaces. La nanotechnologie est devenue une stratégie intéressante pour améliorer l'efficacité des médicaments antifongiques classiques et améliorer les résultats cliniques en diminuant l'émergence de la résistance aux médicaments, en réduisant les doses et en évitant la toxicité pour l'hôte avec des résultats prometteurs *in-vitro* et *in-vivo* (**Souza& Amaral, 2017 ; Lakshminarayanan et al., 2018**).

Les nanoparticules polymériques sont préparées à partir de divers polymères d'origine naturels ou synthétiques ou une combinaison des deux à la fois. Ces polymères présentent un ensemble de propriétés idéales telles que : la solubilité dans l'eau et dans divers solvants organiques, une toxicité minimale, une diminution de l'émergence de résistants aux médicaments et une production à faible coût (**Lakshminarayanan et al., 2018**).

Dans une approche très intéressante, **Aoun**, a étudié l'efficacité antimycosique de quelques principes actifs (PA) couramment utilisés en clinique soit le voriconazole (VRZ) et l'amphotéricine B (AMB) enrobés dans des nanoparticules polymériques (NP) de PEG-g-PLA (un copolymère composé du PEG et du polylactide) comparativement à celle des formulations classiques. Les résultats ont montré que les valeurs de CMI50 de VRZ/NP sur la plupart des souches de *Candida spp* testées sont 9 fois plus faibles que pour le variconazole seul, ainsi pour les valeurs de CMI50 de la formulation NP/AMB sont 2 fois plus faible que les valeurs du principe actif (PA) en solution et les valeurs de CMI50 d'AMB à l'égard des souches d'*Aspergillus fumigatus* sont 3 fois plus faibles que pour l'AMB en solution. Cependant les NP vides (sans PA) ne présentent pas de toxicité importante sur les souches analysées. Toutefois, la viabilité cellulaire n'est pas à 100%. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Peng et al.**, qui ont également étudié l'efficacité du variconazole libre par rapport aux NP PLGA chargés de variconazole *in-vitro* sur une souche de *Candida albicans* et *in-vivo* sur des souris infectées. Leurs résultats ont démontré sur une période de 7 jours, la formulation de PLGA avait une meilleure efficacité que le variconazole libre à la fois *in-vitro* et *in-vivo* (**Aoun, 2014 ; Peng et al., 2008**).

D'autre part, l'effet antifongique de l'hydrogel contenant les nanoparticules de fluconazole revêtues du PEG sous forme de FCA-PEG-NP a été testé *in-vitro* par **Abdellatif et al., (2019)**, l'activité antifongique résultante était significativement plus élevée que celle de l'hydrogel pur contenant du médicament seul. Cette activité antifongique plus élevée de la formulation d'hydrogel FCA pourrait être attribuée à la plus grande solubilité dans l'eau du médicament sous forme de nanoparticules et au pouvoir pénétrant des molécules de PEG qui ont recouvert les nanoparticules de fluconazole, et donc, une diffusion plus élevée dans la paroi fongique (**Abdellatif et al., 2019**).

Par contre les nanoparticules contenant du kétoconazole ou du clotrimazole ont présenté une valeur très élevée de CMI. Ce qui permet leur utilisation que pour une thérapie topique car l'administration systémique peut présenter une certaine toxicité (**Cassano et al., 2016**).

La formulation développée par **Tang et al., (2014)**, dans laquelle, l'AMB a été encapsulé dans les NP de PLGA en association avec ϵ -caprolactone. Dans cette combinaison, les auteurs ont rapporté le même effet fongicide sur *C. albicans* comme pour le médicament libre (**Tang et al., 2014**). La formulation proposée était moins toxique et causait une mortalité plus faible que l'AMB libre, prouvant le potentiel des nanoparticules polymériques à

protéger contre la cytotoxicité en préservant la même efficacité fongicide (**Amaral et al., 2009**).

L'efficacité accrue des molécules antimicrobiennes attachées aux NP est soutenue par les travaux de **Radwan et al., (2017)**, qui ont étudié des nouvelles formulations de nanoparticules (NP) de copolymère d'acide poly(lactique) poly(glycolique) (PLGA-PEG) PEGylé d'AMB *in-vitro* sur une souche de *C.albicans* et *in-vivo* sur un groupe de rats. Les résultats ont montré que la CMI d'AMB chargée dans les NPs PLGA-PEG contre *C. albicans* a été réduite de deux à trois fois par rapport à l'AMB libre, ces formulations ont montré également une toxicité minimale et une meilleure efficacité par rapport à l'amphotéricine B (Fungizone®). Ceci était en bonne corrélation avec les résultats trouvés par le groupe **Amaral et al., (2009)**, qui ont développé une formulation nanostructurée pour l'amphotéricine B au sein du PLGA fonctionnalisé avec de l'acide dimercaptosuccinique (DMSA). Dans cette étude, les auteurs ont noté que l'administration intrapéritonéale de la formulation était capable de provoquer le même effet thérapeutique dans le modèle murin infecté par la levure *Paracoccidioidesbrasiliensis* par rapport au désoxycholate de sodium Amphotéricine B. Cependant, le grand avantage de cette formulation de nanoparticules polymériques de l'amphotéricine B, qu'elle était donnée aux animaux chaque 3jours, contrairement à la formulation conventionnelle qu'elle était administrée quotidiennement (**Amaral et al., 2009 2010**). Des études supplémentaires menées par le même groupe de recherche ont montré que les nanoparticules d'amphotéricine B PLGA étaient également comparables à l'Amphotéricine B (Ambisome®) dans le traitement de la paracoccidioïdomycose murine. De plus, les deux études n'ont signalé aucun effet secondaire indésirable chez les animaux à la dose utilisée (**Souza et al., 2015**).

Compte tenu des données de littérature disponible actuellement, nous pouvons dire que l'effet de véhiculer les principes actifs antifongiques dans les nanoparticules polymériques a prouvé son efficacité. Cependant, l'effet antimicrobien de ces polymères ou les soi-disant « excipients » en pharmaceutique est sous-étudié et les études menées jusqu'à présent sont limitées à quelques espèces de bactéries et de *Candida* spp.

Dans ce contexte, l'activité antimicrobienne du polyéthylène glycol comparativement au ciprofloxacine, au métronidazole et aux véhicules natrosol avec différentes associations et concentrations a été évalué *in-vitro* contre vingt-trois souches microbiennes comprenant deux souches lévuriennes de *Candida albicans* et *Candida tropicalis*. Les résultats ont montré que

le véhicule polyéthylène glycol était capable d'éliminer 100% des micro-organismes testés avec une CMI de 40%. Les associations ciprofloxacine / polyéthylène glycol et métronidazole / polyéthylène glycol était plus efficaces que les antibiotiques seuls pour réduire les bactéries et les levures testées. Un autre avantage de l'association ciprofloxacine / polyéthylène glycol était l'action efficace sur des levures résistantes aux formulations traditionnelles. Cela suggère que l'action antimicrobienne démontrée a été exercée par le polymère. Les auteurs ont contribué cette action à la propriété hydrophile du polyéthylène glycol, en éliminant l'eau des milieux de culture, ce qui aboutit à une diminution de l'activité d'eau (A_w) empêchant ainsi tout développement microbien (Carreira *et al.*, 2007). De ce fait, l'effet inhibiteur du PEG à l'égard de *Fusarium redolens* pourrait être attribué à la propriété hydrophile du PEG.

Une autre étude menée par Liu *et al.* (2015) sur l'effet des polymères de nylon-3 à l'égard de *Candida sp.* Les résultats ont révélé une activité forte et sélective du nylon-3 contre les souches de *C. albicans* résistantes aux médicaments dans les biofilms, comme en témoignent l'inhibition de la formation de biofilms et la destruction de *C. albicans* dans les biofilms matures. Le meilleur polymère de nylon-3 (poly- β NM) possède un effet supérieur au fluconazole. Ce polymère est légèrement moins efficace que l'amphotéricine B (AMB) pour deux souches testées, mais le polymère présente un effet supérieur chez une souche résistante à l'AMB (Liu *et al.*, 2015). Des études complémentaires menées par le même groupe ont montré que de nouveaux copolymères binaires contenant la sous-unité hydrophobe TM (tétraméthyle) couplée à l'unité cationique MM (monométhyle) (MM-TM) présentent une bonne activité contre *Candida spp.* et une excellente activité contre *Cryptococcus spp.* en tant qu'agent autonome. Le polymère MM-TM présente une forte activité synergique avec les médicaments azolés contre *C. albicans* et *A. fumigatus*, même contre certaines souches résistantes aux azolés (Rank *et al.*, 2017).

La recherche sur d'autres micro-organismes a également soutenu les avantages des polymères. L'étude citée précédemment menée par le groupe Carreira *et al.*, (2007), a prouvé que le PEG a inhibé la croissance de toutes les souches testées incriminant les espèces bactériennes de *Staphylococcus spp.*, *Escherichia spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella sp.* En 2017, une autre étude *in-vitro* portée chez quatre souches bactériennes a montré que le polyéthylène glycol présente une activité bactéricide à l'égard des souches de *S. mutans* et d'*E.coli* (Carreira *et al.*, 2007 ; Nalawade *et al.*, 2015).

Remarque : L'étude expérimentale s'est arrêtée le cinquième jour en raison de la fermeture des laboratoires suite à la pandémie du Coronavirus. C'est pour cela nous avons été obligées de réaliser une synthèse bibliographique des études antérieures pouvant avoir lien avec notre thème. Toutefois, il est important de noter que peu d'études ont été portées sur le développement de nouveaux agents antifongiques à base de polymères non toxiques.

Conclusion

L'évaluation de l'activité antifongique du polyéthylène glycol (PEG) est incluse dans le développement de la recherche. La création de nouvelles solutions et des outils, à fin de protéger l'Homme et la production, face à la menace des maladies causées par les champignons pathogènes. Dans la partie réalisée de ce travail, la caractérisation du polyéthylène glycol 20000 g.mol⁻¹ a été réalisée par spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier (FTIR). La comparaison des deux spectres (expérimentale et théorique) révèle que la quasi-totalité des modes de vibrations prédit théoriquement sont présents.

Ensuite, l'effet du PEG, du fongicide et de la combinaison PEG-fongicide a été déterminé *in vitro* à l'égard de *Fusarium* spp. par la méthode de dilution en milieu solide. Cette étude préliminaire a révélé que le taux d'inhibition de la croissance mycélienne obtenu avec le PEG est supérieur à celui du fongicide et de la combinaison PEG-Fongicide. D'après ces résultats, nous suggérons que le PEG possède un meilleur effet inhibiteur contre *Fusarium* spp., comparativement au fongicide seul ainsi qu'à la combinaison PEG-fongicide.

Malheureusement notre travail s'est arrêté suite à la pandémie Covid-19 avant d'accomplir les autres expériences, mais selon l'essai préliminaire réalisé et les données de littérature actuellement disponibles, nous pouvons suggérer que le PEG possède un effet antifongique intéressant.

Ce travail est donc une première approche sur l'activité antifongique du polyéthylène glycol qui est peu étudié malgré ces propriétés biodégradables, biocompatibles et non toxiques. À cet effet, ce travail s'inscrit dans la recherche et le développement des substances biologiquement actives, possédant l'effet antifongique souhaitable

Comme complément à la présente étude, les points suivants nous semblent pertinents :

- Elargir l'étude sur d'autres champignons responsables de maladies.
- Utiliser une combinaison avec d'autres antifongiques.
- Réaliser des tests *in-vivo* pour prouver l'efficacité du PEG.
- Etudier les mécanismes par lesquels le PEG exerce son effet antifongique.
- Etudier l'effet synergique entre le polymère et les antifongiques.

Références bibliographiques

- **Abdallah, R., Frikha, D., & Sassi, Smes (2019).** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines in vitro évaluation des activités antibactériennes et antifongiques des algues marines. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*, 38.
- **Abdellatif, A. A., El-Telbany, D. F. A., Zayed, G., & Al-Sawahli, M. M. (2019).** Hydrogel Containing PEG-Coated Fluconazole Nanoparticles with Enhanced Solubility and Antifungal Activity. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, 14(2), 112-122.
- **Agbo-Godeau, S., et Guedj, A. (2005).** Agbo-Godeau, S., & Guedj, A. (2005). Mycoses buccales. *EMC-Stomatologie*, 1(1), 30-41.
- **Amaral, A. C., Bocca, A. L., Ribeiro, A. M., Nunes, J., Peixoto, D. L., Simioni, A. R., ... & Tedesco, A. C. (2009).** Amphotericin B in poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) and dimercaptosuccinic acid (DMSA) nanoparticles against paracoccidioidomycosis. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 63(3), 526-533.
- **Anane, S., & Khalfallah, F. (2007).** Biological diagnosis of systemic candidiasis: difficulties and future prospects. *Pathologie-biologie*, 55(5), 262-272.
- **André Bryskier, A. (2005).** Antimicrobial agents: antibacterials and antifungals. ASM press.
- **Aoun, V. (2014).** Développement de nouvelles formulations d'antifongiques et évaluation de l'activité sur *Candida* spp. et *Aspergillus* spp.
- **Association française des enseignants de parasitologie et mycologie (ANOFEL). (2014).** Association Française des Enseignants de parasitologie et mycologie. ©UMVF, Université Médicale virtuelle Francophone.
- **Association française des enseignants de parasitologie et mycologie (ANOFEL). (2019).** *Parasitoses et mycoses: des régions tempérées et tropicales 6 édition*. Elsevier Masson.
- **Auclair Jean Jacques (2019),** Spectrométrie IR et UV Appliquée à quelques molécules d'intérêt biologique , Mise à jour: 18/12/2019, Disponible sur [\[En ligne\], http://jean-jacques.auclair.pagesperso-orange.fr/ftirUV/protocole.htm](http://jean-jacques.auclair.pagesperso-orange.fr/ftirUV/protocole.htm) Consulté : 6/6/2020
- **Badet, L., Eugene, M., Hauet, T., & Barrou, B. (2006).** L'utilisation des liquides de conservation en transplantation rénale. *Progrès en urologie (Paris)*, 16(1), 25-31.

- **Bergeron, Carl. (2011)**, Etude de la morphologie fine du poly oxyde d'éthylène en fonction de la température par FTIR, Chimie, Mémoire, Université du Québec à Montréal, page 44-136.
- **Bergeron, C., Perrier, E., Potier, A., & Delmas, G. (2012)**. A Study of the Deformation, Network, and Aging of Polyethylene Oxide Films by Infrared Spectroscopy and Calorimetric Measurements. International Journal of Spectroscopy. <https://doi.org/10.1155/2012/432046>
- **Blancard, D., Lot, H., & Maisonneuve, B. (2003)**. Maladies des salades: identifier, connaître, maîtriser. Editions Quae.
- **Blancard, D. (2009)**. Les maladies de la tomate: identifier, connaître, maîtriser. Quae..
- **Booth, C., Waterson, JM. (1964)**. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. CMI. Ferry Lane. Kew. England.
- **Booth, C. (1978)**. Fusariumequiseti.[Descriptions of Fungi and Bacteria]. IMI descriptions of fungi and bacteria, (58).
- **Bourouda, N. (2010)**. Place de l'antifongigramme dans la prise en charge des infections fongiques (Doctoral dissertation).
- **Cardinale, V. (2001)**. Les candidoses vaginales récidivantes à *Candida albicans*. Thèse de doctorat en pharmacie. Université HenriPoincaré- Nancy, France .
- **Carreira, C. D. M., Santos, S. S. F. D., Jorge, A. O. C., & Lage-Marques, J. L. (2007)**. Antimicrobialeffect of intracanal substances. Journal of Applied oral science, 15(5), 453-458.
- **Cassano, R., Ferrarelli, T., Mauro, M. V., Cavalcanti, P., Picci, N., & Trombino, S. (2016)**. Preparation, characterization and in vitro activities evaluation of solid lipid nanoparticles based on PEG-40 stearate for antifungal drugs vaginal delivery. Drug delivery, 23(3), 1037-1046.
- **Chabasse, D., & Bouchara, J. P. De gentile L., Brun S., Cimmon B., Penn P. (2002)**. Cahier de formation les moisissures d'intérêt médicale..
- **Collège Nationalde Pharmacologie Médicale (CNPM). (2019)**. Antifongiques : les points essentiels. Consulté le 25/05/2020, disponible sur :

<https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antifongiques-les-points-essentiels>

- **Codex Alimentarius, Normes alimentaires internationales, CODEX STAN 192-1995, adopté en 1992, dernière révision 2019**, Norme générale pour les additifs alimentaires.
- **Denis, F., Cattoir, V., Martin, C., Ploy, M. C., & Poyart, C. (2016)**. Bactériologie médicale: techniques usuelles. Elsevier Masson.
- **Dumont, A., Chambin, O., Pillon, F., & Bardou, M. (2010)**. De nombreux laxatifs disponibles à l'officine. *Actualités Pharmaceutiques*, 49(492), 12-16.
- **El Alama, H., El Aissami, A., Benmoussa, A., Said, A. A. H., Arahou, M., & El Alaoui-Faris, F. E. (2017)**. Cinétique des interactions huile essentielle-antifongique Kinetics of the essential oil-antifungal interactions. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
- **El Mansouri, K., & Moutaj, R. (2013)**. Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat en Médecine. Rabat. Maroc
- **Essendoubi, M. (2007)**. Identification et typage par (micro) spectroscopie IRTF des levures du genre *Candida* d'origine clinique (Doctoral dissertation, Reims).
- **Gonzalez, P, Barrosso, G & Labarere, J. (1999)**. Molecular gene organisation and secondary structure of the mitochondrial large subunit ribosomal RNA from the cultivated Basidiomycota *Agrocybe aegerita*: a 13 kb gene possessing six unusual nucleotide extension and eight introns. *Nucleic Acids Research* 27(7), 1754 - 1761.
- **Gräser, Y., Volovsek, M., Arrington, J., Schönian, G., Presber, W., Mitchell, T. G., & Vilgalys, R. (1996)**. Molecular markers reveal that population structure of the human pathogen *Candida albicans* exhibits both clonality and recombination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(22), 12473-12477.
- **Guillaume, V. (2006)**. Fiches de mycologie. De Boeck Supérieur.
- **Guiraud, J. P. (1998)**. La microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. Paris.
- **Harris, J. M. (1992)**. Introduction to biotechnical and biomedical applications of poly (ethylene glycol). In *Poly (ethylene glycol) Chemistry* (pp. 1-14). Springer, Boston, MA.
- **Hermanson, G. T. (2008)**. *Bioconjugate Techniques*, ; Pierce Biotechnology. Thermo Fisher Scientific: Rockford, IL.

- **Hmouni, A., Hajlaoui, M. R., & Mlaiki, A. (1996).** Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. EPPO bulletin, 26(3-4), 697-705.
- **Isidore, S. A., Kouabenan, A. B. O., Etienne, O. K., & Noël, Z. G. (2019).** Étude botanique, tri phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits de feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll. Arg.
- **Karkachi, N. (2013).** Evaluation de l'effet de Triazoles vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*. Thèse de doctorat en biologie, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. Oran, Algérie
- **Kawai, F. (2005).** Biodégradation des polyéthers (polyéthylène glycol, polypropylène glycol, polytétraméthylène glycol et autres). Biopolymères en ligne: Biologie • Chimie • Biotechnologie • Applications , 9.
- **Khebichat, A. (2013).** Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des cendres de bois du chêne vert «Kourriche ou Ballout » (*Quercus ilex*). Mémoire de master en biologie. Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, Algérie
- **Khelil M.A., 1977-** Influence de la chaleur utilisée comme moyen de lutte contre le bruché du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleopterae: Bruchidae) sur les différents états et stades de développement. Mémoire d'Ingénieur en Agronomie, INA El Harrach.
- **King, F. W. (2002).** Efficient numerical approach to the evaluation of Kramers-Kronig transforms. *Journal of the Optical Society of America B*. <https://doi.org/10.1364/josab.19.002427>
- **Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B., Možina, S.S., (2010).** Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of microbiological methods* 81, 121-126
- **Koing, H., (1995).** Mycoses exotiques, histoplasmoses. *Guide de Mycologie médicale. Ellipses/éditions marketing SA, Paris, 223.*
- **Krick P.M., Cannon P.F., Minter D.W and Stalpers J.A. (2008).** Ainsworth, G. C. *Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi*. Cabi.
- **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).

- **Lakshminarayanan, R., Ye, E., Young, D. J., Li, Z., & Loh, X. J. (2018).** Recent advances in the development of antimicrobial nanoparticles for combating resistant pathogens. *Advanced healthcare materials*, 7(13), 1701400.
- **Larpent J.P.(1990).** Biotechnologie des levures. Edition ; MASSON .Paris. pp 495.
- delaboratoire.2dition : Technique et documentation Lavoisier, Paris. Pp 427
- **Larpent J.P. (1997).** Microbiologie alimentaire. Technique de laboratoire. Éd: Technique et documentation Lavoisier, Paris. pp 427
- **Larry, L. (2005). Hench, Julian R. Jones (eds.),** Biomaterials, artificial organs and tissue engineering.
- **Leclerc, H., Izard, D., Husson, M.O., Wattre, P & Jakubczak E (1983).** Microbiologie Générale. Editions Doin.
- **Leroux p (2003a).** Modes of action of agrochemicals against plant pathogenic organisms. *Comptes rendus biologies*, 326(1), 9-21.
- **Leroux (2003b).** Résistances des champignons phytopathogènes aux fongicides: Ce que l'on sait sur elles et les moyens de les gérer. *Phytoma, la défense des végétaux*, (566), 36-40.
- **Li, X., Hsu, S. L., & Science, P. (1984).** An Analysis of the Crystallization Behavior of Poly (e t h y l e n e Oxide) / Poly(methyl Methacrylate) Blends by Spectroscopic and Calorimetric Techniques. *Journal of Polymer Science*, 22, 1331–1342.
- **Liu, R., Chen, X., Falk, S. P., Masters, K. S., Weisblum, B., & Gellman, S. H. (2015).** Nylon-3 polymers active against drug-resistant *Candida albicans* biofilms. *Journal of the American Chemical Society*, 137(6), 2183-2186.
- **Liu, Z., & Friesen, T. L. (2012).** Polyethylene glycol (PEG)-mediated transformation in filamentous fungal pathogens. In *Plant fungal pathogens* (pp. 365-375). Humana Press.
- **Magan N. & Olsen M., 2004-** Mycotoxines dans les aliments: détection et contrôle. Éditions Woodhead.
- **Najahi, M. (2012).** Résistance au fluconazole de 68 souches de levures genre *Candida* isolées des services de réanimation du chu de rabat. Thèse de doctorat en pharmacie. Rabat, Maroc (27)
- **Nalawade, TM, Bhat, K. et Sogi, SH (2015).** Activité bactéricide du propylène glycol, de la glycérine, du polyéthylène glycol 400 et du polyéthylène glycol 1000 contre des micro-organismes sélectionnés. *Journal de la Société internationale de médecine dentaire préventive et communautaire*, 5 (2), 114.

- **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). (1999).** Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, June 1999. Approved Standard; NCCLS document M31-A2,
- **Nina Balès. (2014).** LES PEGS, DESS DE COSMETOLOGIE, UQAC, Université de Québec à Chicoutimi
- **Orsot, B. A. M. B., Soro, S., Kone, D., & Zirihi, G. N. (2016).** Étude ethnobotanique et évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des extraits de l'écorce de *Zanthoxylum gillettii* (de Wild Waterman) sur deux souches phytopathogènes de *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Applied Biosciences*, 98, 9309-9322.
- **Pankove, J. I., & Kiewit, D. A. (1972).** Optical Processes in Semiconductors. *Journal of The Electrochemical Society*. <https://doi.org/10.1149/1.2404256>
- **Peng, H. S., Liu, X. J., Lv, G. X., Sun, B., Kong, Q. F., Zhai, D. X., ... & Li, H. L. (2008).** Voriconazole into PLGA nanoparticles: Improving agglomeration and antifungal efficacy. *International journal of pharmaceutics*, 352(1-2), 29-35.
- **Petosa, C., Govin, J., & Mietton, F. (2018).** Champignons pathogènes-Un nouvel espoir de traitement des infections généralisées. *médecine/sciences*, 34(2), 123-125.
- **Prescot-M ,Harley-P et Klein-A (2003).** Churchill, G. A., Airey, D. C., Allayee, H., Angel, J. M., Attie, A. D., Beatty, J., ... & Bleich, A. (2004). The Collaborative Cross, a community resource for the genetic analysis of complex traits. *Nature genetics*, 36(11), 1133.
- **Prescott, Willey, Sherwood, Woolverton. (2013).** Microbiologie 4e édition. DE BOECK, P839
- **Pucić, I., & Jurkin, T. (2012).** FTIR assessment of poly(ethylene oxide) irradiated in solid state, melt and aqueous solution. *Radiation Physics and Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2011.12.005>
- **Radwan, MA, AlQuadeib, BT, Šiller, L., Wright, MC et Horrocks, B. (2017).** Administration orale de nanoparticules d'amphotéricine B: activité antifongique, biodisponibilité et toxicité chez le rat. *Administration de médicaments*, 24 (1), 40-50.
- **Rank, L. A., Walsh, N. M., Liu, R., Lim, F. Y., Bok, J. W., Huang, M., ... & Hull, C. M. (2017).** A cationic polymer that shows high antifungal activity against diverse human pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(10), e00204-17.

- **Regnault-Roger, C., Fabres, G., &Philogène, B. J. R. (2005).** Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement.
- **Rex, JH, Rinaldi, MG et Pfaller, MA (1995).** Résistance des espèces de *Candida* au fluconazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39 (1), 1.
- **Sarita, 2019,** Research on Polyethylene Glycol, CrosslinkedPolyethylene Glycol &Polyethylene Glycol ChitosanConjugateCoating for Biomedical Application. *International Journal of Recent Technology and Engineering (IJRTE)*. Vol 8, Issue-2S11.
- **Smahi, A. (2008).**Controlebiologique de la fusariosevasculaire de la Tomatecausée par *Fusariumoxysporum* f. sp. *licopersici* (Doctoral dissertation, Thèse de Magister. Universitéd'Oran, Algérie).
- **Soldera, A., & Monterrat, E. (2002).** Mid-infrared optical properties of a polymer film: Comparison between classical molecular simulations, spectrometry, and ellipsometry techniques. *Polymer*, 43(22), 6027–6035. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(02\)00467-6](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(02)00467-6)
- **Souza, A. C., &Amaral, A. C. (2017).**Antifungal therapy for systemic mycosis and the nanobiotechnology era: Improving efficacy, biodistribution and toxicity. *Frontiers in microbiology*, 8, 336.
- **Souza A. C. O., Nascimento A. L., de Vasconcelos N. M., Jerônimo M. S., Siqueira I. M., Santos R-L., et al. . (2015).** Activity and in vivo tracking of Amphotericin B loaded PLGA nanoparticles. *Eur. J. Med. Chem.* 95, 267–276. 10.1016/j.ejmech.2015.03.022
- **Srifi, A., Rahmouni, B., Boudida, E. H., Alaoui, K., Cherrah, Y., Idrissi, A. I., ... &Lmimouni, B. (2013).** Étude phytochimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de quatre espèces du genre *Nepeta* du Maroc. *Phytothérapie*, 11(3), 161-171.
- **Tang, X., Zhu, H., Sun, L., Hou, W., Cai, S., Zhang, R., & Liu, F. (2014).**Enhanced antifungal effects of amphotericin B-TPGS-b-(PCL-ran-PGA) nanoparticles in vitro and in vivo. *International journal of nanomedicine*, 9, 5403.
- **ThermoFisher scientific (2013).** Introduction to Fourier transform infrared spectroscopy [En ligne],Disponible sur:https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/BR50555_E_0513M_H_1.pdf , Consulté: 6/6/2020
- **Tivoli, B. (1988).** Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement.pp.211-222. fihal-00885091

- **Virginie Gerber, 2013, Végane - Le guide pratique, Lulu.com.**
https://books.google.dz/books?id=xFoKBgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=ar&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- **Wiley. J M, Sherwood. L M, Woolvertoon.C J, Perscott L.M, (2018).**Les maladies humaines dues aux champ et aux protistes . Chapitre 40. microbiologie de prescott , 5^{ème} édition de BoekSuperieur 2018, Rue de bosquet,7,B-1348 Louvain-la-Neuve. Pages 922-
- **Yoshihara, T., Tadokoro, H., & Murahashi, S. (1964).** Normal vibrations of the polymer molecules of helical conformation. IV. Polyethylene oxide and polyethylene-d4 oxide. *The Journal of Chemical Physics*, 41(9), 2902–2911.
<https://doi.org/10.1063/1.1726373>
- **Zalipsky, S., & Harris, J. M. (1997).** Introduction to chemistry and biological applications of poly (ethylene glycol).

Annexes

Annexe N°1

COMPOSITION DU MILIEU PDA (pH 6,5)	
Pomme de terre.....	200 g
Dextrose/ saccharose.....	20 g
Agar agar.....	20 g
Eau Distillée.....	1000 ml

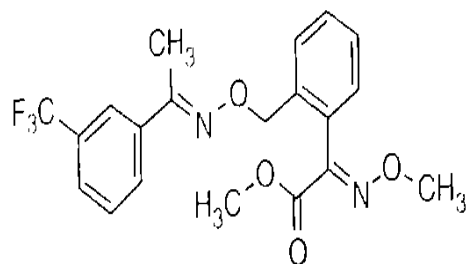
Annexe n° 02

COMPOSITION DU MILIEU SNA (Synthetischer Nährstoffärmer Agar) (GERLACH, NIRENBERG, 1982)	
K_2HPO_4 :	1,0 g
KNO_3 :	1,0 g
$MgSO_4$:	0,7g
H_2O :	0,5 g
KCl :	0,5 g
Glucose :	0,2 g
Saccharose :	0,2 g
Agar :	20,0 g
H_2O distillée ou osmosée :	1000 ml

Annexe N° 3

Description du Trifloxystrobine

Trifloxystrobine est un fongicide de la famille des strobilurines, ces molécules organique de synthèse sont des analogues structuraux de substances naturelles (strobilurine A) produites par divers champignons lignicoles, Ces strobilurines sont efficaces sur de nombreux basidiomycètes, ascomycètes et oomycètes, classé parmi les fongicides affectant les processus respiratoires plus précisément il inhibe le complexe mitochondrial III, et forme une excellente action préventive avec des doses d'utilisation (50 à 250g. Ha⁻¹).présentent des transferts translaminaires ou être redistribuées à l'extérieur en phases vapeur.



Trifloxystrobine

Annexe N° 4

COMPOSITION ET PREPARATION DE L'EAU PHYSIOLOGIQUE A 8,5‰	
NaCl	8,5 g
Eau distillée	1000 ml

Dissoudre complètement le NaCl dans l'eau distillée. Stériliser dans l'autoclave

Abstract

The purpose of this study is to assess the antifungal activity of polyethylene glycol (PEG-3400 and 20,000 g.mol⁻¹) on pathogenic fungi *Candida* sp. and *Fusarium* spp. First, the characterization of the polymer was carried out by infrared spectroscopy to transform Fourier (FTIR). The comparison of the two spectra (experimental and calculated) reveals that almost all of the theoretically predicted vibrational normal modes are present.

The evaluation of the antifungal activity of PEG on *Fusarium* spp. was carried out by the solid dilution technique. Only one preliminary test is carried out including a solution of PEG, the fungicide and the PEG-fungicide combination, all at a concentration 400 ppm (0.4 mg / ml), This preliminary study revealed that inhibition rate of mycelial growth of this strain was 69% for PEG-3400; 25.64% for the fungicide; and 43.58% for the PEG-Fungicide combination at a concentration of 400 ppm.

The agar diffusion method is chosen for the evaluation of the antifungal activity of PEG against the *Candida* sp. Species, compared to that of fluconazole and the PEG-fluconazole combination. Unfortunately, our work was stopped following the pandemic before performing the other experiments, but according to the studies that were reported in the general discussion, the PEG has a considerable antifungal effect.

Key words: PEG, *Fusarium*, *Candida*, antifungal, fungicides, synergistic effect

Résumé

La présente étude a pour but d'évaluer l'activité antifongique du polyéthylène glycol (PEG-3400 et 20000 g.mol⁻¹) à l'égard de souches fongiques pathogènes de *Candida* sp. et de *Fusarium* spp. En premier lieu la caractérisation du polymère a été réalisée par la spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier (FTIR). La comparaison des deux spectres (expérimentale et calculé) révèle que la quasi-totalité des modes de vibrations prédit théoriquement sont présents.

L'évaluation de l'activité antifongique du PEG, sur les souches de *Fusarium* spp., a été réalisée par la technique de dilution en milieu solide. Un seul essai préliminaire a été réalisé

dont une solution de PEG, du fongicide et de la combinaison PEG-fongicide, tous a une concentration 400 ppm (0.4 mg/ml), Cette étude préliminaire a révélé que le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de cette souche était de 69 % pour le PEG-3400 ; 25.64 % pour le fongicide ; et 43.58% pour la combinaison PEG-Fongicide à une concentration de 400 ppm.

La méthode de diffusion sur gélose a été choisie pour l'évaluation de l'activité antifongique du PEG contre l'espèce de *Candida sp.*, comparée à celle du fluconazole et à la combinaison PEG-fluconazole, Malheureusement notre travail s'est arrêté suite à la pandémie Covid-19 avant d'accomplir les autres expériences, mais d'après les données bibliographiques disponibles, le PEG possède un effet antifongique considérable.

Mots clés : PEG, *Fusarium*, *Candida*, antifongique, fongicides, effet synergique

الملخص :

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للفطريات للبولي إيثيلين جليكول (PEG-3400 و 20000 جم. مول -1) على الفطريات المسببة للأمراض *Candida sp.* و *Fusarium spp.* لتحقيق الغرض تمت أولاً عملية توصيف البوليمر بواسطة التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء (FTIR). كشفت المقارنة بين الطيفين (الطيف المتحصل عليه تجريبياً والطيف المحسوب) عن وجود جميع أنماط الاهتزاز المتوقعة نظرياً تقريباً.

تم تقييم النشاط المضاد للفطريات للبوليمر (PEG) على سلالات الفوزاريوم بتتبع تقنية التخفيف وسط زراعي صلب. تم إجراء اختبار أولي واحد فقط تم فيه تجريب محلول البولي إيثيلين غليكول PEG و محلول مبيد الفطريات (Fongicide) والمزيج PEG-fongicide ، وكلها بتركيز 400 جزء في المليون (0.4 مجم / مل) ، كشفت النتائج الأولية أن معدل تثبيط النمو لهاته السلالة يقدر ب 69% لـ PEG-3400 ضد 25.64% لمبيد الفطريات و 43.58% للتركيبية التي تحتوي المبيد الفطريات و PEG بتركيز 400 جزء في المليون.

تم اختيار تقنية الانتشار على الوسط الزراعي الصلب لتقييم تأثير البولي إيثيلين غليكول (PEG) على خميرة المبيضات *Candida sp.* مقارنة بتأثير الفليكونازول (Fluconazole) المضاد للفطريات والتركيبية PEG-Fluconazole، لسوء الحظ لم نتمكن من تكمل أعمالنا التطبيقية جراء غلق المختبرات بسبب انتشار جائحة فيروس كورونا، استناداً للدراسات المتوفرة لحد الساعة حول تأثير البوليميرات و المركبات المطورة التي تعتمد عليها و طبقاً للنتائج الأولية المتحصل عليها يمكننا ان نتوقع تأثيراً قوياً مضاداً للفطريات للبولي إيثيلين غليكول (PEG).

الكلمات المفتاحية: *Candida* , PEG , *Fusarium* ، مضاد للفطريات ، مبيدات الفطريات ، تأثير التآزر