

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -

Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel-

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

*Département de Microbiologie
Appliquée et Sciences Alimentaires*



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية

و علوم التغذية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en :

MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE

Thème :

**Production des substances antibactériennes par
*Penicillium chrysogenum***

Membres du Jury :

Présidente : Dr. S. AMIRA

Promotrice : Dr. S. AKROUM

Examinatrice : Mme N. BENHAMADA

Réalisé par :

M^{elle} Hosna BOULAROUK

M^{elle} Siham MENHANE

M^{elle} Rania BOUILOUTA

Soutenu le : 14 / 09 / 2020

Année Universitaire : 2019/2020

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

Après avoir rendu grâce à Dieu le Tout Puissant et le Miséricordieux, nous tenons à remercier vivement tout ceux qui ont contribué, de près ou de loin, au succès de ce projet de fin d'étude.

En premier lieu, nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice, le Dr. AKROUM, pour son aide, sa patience, sa disponibilité et surtout pour ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions.

Nous remercions aussi les membres du Jury, la présidente Dr. AMIRA et l'examinatrice Mme BENHAMADA d'avoir accepté de participer à l'évaluation de ce travail et d'apporter leurs précieuses remarques afin de l'améliorer.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, département de Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires de l'Université de Jijel, qui ont participé à la réussite de nos études universitaires durant tout notre cursus universitaire.

Nous remercions nos chers parents, famille ; BOULAROUK, BOUILOUTA et MENHANE qui ont toujours été là pour nous soutenir, et nous remercions nos frères et sœurs pour leurs encouragements.

Nous voulons aussi exprimer notre reconnaissance pour nos amis et collègues qui nous ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ce mémoire.

À tous ces intervenants, nous présentons nos remerciements, notre respect et notre gratitude.

Dédicace

*Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et le courage
pour accomplir ce modeste travail que je dédie :*

*À mes chers parents que j'aime tellement, sans lesquels je ne serai jamais arrivée là où
j'en suis. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.*

*À mes deux frères Mohammed AMINE et BESSAM et mes sœurs RYMA et INES et toute
ma famille.*

À mes enseignants ainsi qu'à tous les étudiants de ma promotion.

*À mes chères amies Nesrine, Belkis, Lina, Fatima, Soumia et mon adorable cousine
Hadia*

À mes partenaires Rania et Siham

À tous ceux que j'aime.

*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.

Hosna

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arrivais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon chère père : Kamel.

À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a pas épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère : Sadjia.

À mon frère Mouhammed Saber et mes sœurs Meriem et Zineb qui n'ont cessées de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que dieu les protèges et leurs offre la chance et le bonheur.

À mes grandes mères, mes tantes que dieu leurs donne une longue et joyeuse vie.

À ma chérie Selma pour son encouragement, son soutien morale, son amour, que dieu te garde pour moi.

À tous les amies que je connais jusqu'à maintenant, mes collègues.

Sans oublier Hosna et Siham pour leur patience, compréhension tout au long de ce projet.

Rania

Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères mots que je dédie ce modeste travail à toute ma famille : loin et près, petit et grand.

À mon père (Abdelhak) et à ma mère (Sabah), lumière de mes jours, la source de mes efforts, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger. De tendresse et d'amour, sont les moindres sentiments que je puisse vous témoigner. Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi. Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie (amen).

À mon amie, ma sœur et ma belle Khadidja (Doraemon), pour leur amitié, leur amour et leur soutien dont elle a fait preuve pendant mes dernières années d'étude et toute la durée de ce travail et aussi que pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble. Merci beaucoup.

À ma sœur Malak et mes frères Mimou, Sifou et Charif, ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.

À tous mes professeurs, leur générosité et leur soutien m'oblige de leur témoigner mon profond respect et ma loyale considération.

À tous mes amis et mes collègues, mes amies surtout Sabrina, Loubna, Dounia, Yasmine..., ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie. Pour notre amitié et tous les bons moments passés et à venir, pour votre présence, Vos précieux conseils. A toute la promotion Microbiologie Appliquée et surtout Hosna et Rania pour leurs efforts et leurs patience pendant toute la durée de ce projet. Un très grand merci à tous et à toutes.

À tous ceux qui m'ont aidé lors de la réalisation de ce travail, merci à tous, et à tous ceux que j'ai oubliés, qu'ils m'en excusent.

Siham

Sommaire

Page

Liste des figures.....	I
Liste des abréviations.....	II
Introduction :	1
Chapitre I : <i>Penicillium chrysogenum</i> et substances à activité antibactérienne	
I. 1. <i>Penicillium chrysogenum</i> :	3
I. 1. 1. Définition de l'espèce :	3
I. 1. 1. 1. Aspect microscopique :	3
I. 1. 1. 2. Aspect macroscopique :	3
I. 1. 2. Ecologie :	4
I. 2. Les substances à activité antibactérienne :	5
I. 2. 1. Les pénicillines :	5
I. 2. 2. L'amoxicilline :	6
I. 2. 3. Les sorbicillinoïdes :	7
I. 2. 4. La chrysogénine :	8
I. 2. 5. La roquefortine C :	8
I. 2. 6. La géosmine :	9
I. 3. Les facteurs qui influencent la production des molécules antibactériennes :	10
I. 3. 1. Agitation :	10
I. 3. 2. Aération :	10
I. 3. 3. Humidité :	11
I. 3. 4. CO ₂ :	11
I. 3. 5. La composition du milieu :	12
I. 3. 5. 1. Les éléments nutritifs :	12
I. 3. 5. 2. Source de carbone :	12

I. 3. 5. 3. Source d'azote :.....	12
I. 3. 5. 4. Les minéraux :.....	13
I. 3. 6. pH :.....	13
I. 3. 7. Température :	13
I. 3. 8. Pression osmotique :	14
I. 3. 9. Les acides gras :	14
I. 4. Exemples de maladies traitées par antibiotiques de <i>P. chrysogenum</i> :.....	14
I. 4. 1. Utilisations de la pénicilline :.....	14
I. 4. 1. 1. Benzylpénicilline (pénicilline G) :.....	15
I. 4. 1. 2. La phénoxyéthylpénicilline « pénicilline V » :.....	15
I. 4. 1. 3. Antistaphylococcal pénicillines.....	15
I. 4. 1. 4. Pénicillines actives contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> :.....	15
I. 4. 1. 5. Pénicillines résistantes à la bêta-lactamase :.....	16
I. 4. 1. 6. Autres applications de la pénicilline :	16
I. 4. 1. 7. Maladies qui sont traitées avec la pénicilline :.....	17
I. 4. 1. 8. La pneumonie :.....	17
I. 4. 1. 9. L'angine :	17
I. 4. 1. 10. Infections d'origine dentaire :	17
I. 4. 1. 11. La syphilis oculaire :	18
I. 4. 1. 12. Les méningites :	18
I. 4. 2. Utilisations de sorbicillinoïdes :.....	18

Chapitre II : Optimisation de la production de la pénicilline

II. 1. Optimisation culturale de la production de la pénicilline :.....	20
II. 1. 1. Optimisation par la constitution des milieux :.....	20
II. 1. 2. Optimisation par les conditions physico-chimiques :.....	21
II. 1. 2. 1. pH :	22
II. 1. 2. 2. Température :.....	22
II. 1. 2. 3. Oxygénation :.....	22

II. 1. 2. 4. Précurseurs essentiels :	23
II. 1. 2. 5. Sources d'énergie :.....	23
II. 1. 2. 6. Antimousse :	24
II. 1. 3. Optimisation par lots alimentés en deux phases :	25
II. 2. Optimisation par des modifications génétiques :.....	25
II. 2. 1. Optimisation par mutations :.....	26
II. 2. 1. 1. Mutations physiques par irradiation UV :.....	26
II. 2. 1. 2. Mutations chimiques :.....	26
II. 2. 2. Optimisation par amplification des gènes par PCR :.....	27
Discussion :	28
Conclusion :	34
Références bibliographiques :	36

Listes des figures

	Page
Figure 1 : Caractères Morphologiques de <i>P. chrysogenum</i>	3
Figure 2 : Culture de <i>P. chrysogenum</i> sur le milieu CYA	4
Figure 3 : Structure de base de la pénicilline G	6
Figure 4 : Structure de base de la pénicilline V	6
Figure 5 : Structure de base de l'amoxicilline	7
Figure 6 : Structure de base de la sorbicilline	8
Figure 7 : Structure de base de la chrysogénine	8
Figure 8 : Structure de base de la roquefortine	9
Figure 9 : Structure de base de la géosmine	9
Figure 10 : Les gènes <i>pcbAB</i> , <i>pcbC</i> et <i>penDE</i>	27

Liste des abréviations

$\mu\text{g/ml}$	Microgramme par millilitre
$\mu\text{g/ml}$	Microgramme par millilitre
μM	Micromètre
CI ₅₀	Concentration Inhibitrice médiane
cm^{-3}	Centimètre cube
CMB	Concentration minimale bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CYA	Czapek Yeast Agar
DKP	Diketopiperazine
et al	et autres
g/l	Gramme par litre
g/ml	Gramme par millilitre
G25N	25% Glycerol Nitrate Agar
Kb	kilo-base
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien
MEA	Malt Extract Agar
ng/ml	Nanogramme par millilitre
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
<i>P</i>	<i>Penicillium</i>
PCR	Amplification en Chaîne par Polymérase
PDA	Potato Dextrose Agar
<i>sp</i>	Espèce

UI/ml	Unité Internationale par millilitre
UV	Ultra-Violet
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VP40	Protéine virale 40 kDa

Introduction

Les moisissures sont des champignons microscopiques qui ont des actions bénéfiques ou néfastes pour l'homme. Néanmoins, elles jouent un rôle primordial dans divers domaines d'applications biotechnologiques. Ces champignons filamenteux sont utilisés depuis plus d'un siècle comme usines cellulaires polyvalentes et très productives. Leur intérêt repose sur leurs activités biologiques dans la production d'une grande diversité de molécules synthétisées lors des métabolismes primaire et/ou secondaire. Ils sont de ce fait exploités par un très grand nombre d'industries : alimentaire, pharmaceutique, thérapeutique, médicale, biologique, cosmétologique, etc. Les molécules produites industriellement par les moisissures sont très nombreuses, les plus exploitées sont les peptides, les enzymes, les acides organiques, les protéines, les antibiotiques et les pigments. Les nouvelles recherches testent carrément leur exploration dans la production des matériaux durables qui peuvent remplacer les plastiques (Martín *et al.* 2011 ; Posch *et al.* 2012 ; Lopes *et al.* 2013 ; Quintanilla *et al.* 2015 ; Katayama *et al.* 2019 ; Wösten 2019).

Parmi les moisissures utilisées dans les industries nous pouvons citer les espèces d'*Aspergillus*, avec en particulier *A. niger* et *A. oryzae* qui jouent un rôle dominant dans la fermentation des aliments et la production à grande échelle des acides organiques, des composés bioactifs et de nombreuses enzymes comme la cellulase, l'amylase, l'invertase etc. Les espèces du genre *Rhizopus* sont aussi utilisées pour la production des enzymes et des vitamines ; de même la production des antibiotiques est très encouragée notamment par les espèces de *Penicillium* et de *Cephalosporium*. Les espèces les plus utilisées alors étant *P. chrysogenum* et *C. acremonium*. En industrie alimentaire, la plus grande avancée en mycologie appliquée consiste à utiliser des moisissures dans l'affinage des fromages. Ainsi, la couleur verte et l'odeur du roquefort proviennent de *P. roqueforti*. De même, la couleur blanche et l'aspect fondant du camembert et du brie sont dues à *P. camemberti* (Blackwell 2011 ; Böhm *et al.* 2013 ; Corrêa *et al.* 2014 ; Polli *et al.* 2016 ; Parck *et al.* 2017 ; Sun et Su 2019).

P. chrysogenum est un champignon filamenteux d'une importance médicale énorme. En raison de sa capacité à produire la pénicilline, le premier antibiotique antibactérien connu et décrit, il a été utilisé pour le traitement de diverses maladies infectieuses bactériennes. Ce champignon est omniprésent dans la nature, il a été isolé à partir de différents environnements tels que le sol, les grottes, l'air, les eaux marines, les arbres, les produits alimentaires biodétériorés et les plantes. De plus, il n'est pas exigeant à cultiver, ce qui le rend idéal pour des

utilisations industrielles (Erdal et Taskin 2010 ; Devi *et al.* 2012 ; Aitchekh *et al.* 2018 ; Xia *et al.* 2018 ; Parussolo *et al.* 2019 ; Sikandar *et al.* 2020 ; Soliman *et al.* 2020). Il est capable de produire une grande gamme de métabolites secondaires à partir des métabolites primaires. Plusieurs recherches ont démontré qu'il était une source de plusieurs antibiotiques β -lactam et de substances bioactives ayant des activités anti-inflammatoires et antibactériennes. Aussi, elles ont rapporté que *P. chrysogenum* a récemment été utilisé pour la production de différents substances naturelles telles que le pigment chrysogine, des protéines à activité antifongique, des enzymes extracellulaires etc. D'ailleurs, actuellement cette espèce est considérée comme le plus grand producteur des pigments naturels, principalement en raison des effets toxiques causés par les colorants synthétiques utilisés dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, textiles et cosmétiques (Gao *et al.* 2011 ; Houbraken *et al.* 2011 ; Ding *et al.* 2012 ; Lopes *et al.* 2013 ; Schmitz *et al.* 2013 ; Vasanthakumar *et al.* 2015 ; Salo *et al.* 2016 ; Özkale 2020 ; Salah *et al.* 2020).

Etant donné les avancées scientifiques réalisées sur *P. chrysogenum*, cette espèce est devenue un excellent champignon modèle pour étudier les mécanismes moléculaires de contrôle de l'expression des gènes des métabolites secondaires (Martín *et al.* 2011 ; Lopes *et al.* 2013 ; Alshannaq et Yu 2017 ; Martín 2017 ; Dirkmann *et al.* 2018).

L'optimisation de la production des métabolites secondaires par *P. chrysogenum* a été étudiée depuis longtemps et plusieurs méthodes ont été suggérées. Les premières ciblaient les conditions de culture de la moisissure et les secondes envisageaient des modifications génétiques plus ou moins importantes afin de créer des souches purement industrielles (Asnaashari *et al.* 2012 ; Weber *et al.* 2012a ; Böhm *et al.* 2013 ; Onyegeme-Okerenta *et al.* 2013 ; Afifi *et al.* 2014 ; Katayama *et al.* 2019 ; Wösten 2019 ; Wu *et al.* 2020).

Ce travail a été consacré à l'étude de l'utilisation de *P. chrysogenum* pour la production des métabolites à activité antibactérienne qui pourraient être envisagés pour des fins industrielles. Nous avons commencé par décrire ces métabolites et leurs avantages anti-infectieux, puis nous avons déterminé tous les moyens d'optimisation de ces productions qui ont été testées sur l'espèce jusqu'à aujourd'hui. Notre objectif consistait à apprécier les avancées scientifiques menées pour l'amélioration des souches productrices et l'évaluation des limites des techniques d'optimisations testées.

Chapitre I :

Penicillium chrysogenum et
substances à activité
antibactérienne

I. 1. *Penicillium chrysogenum* :

Penicillium est un genre de moisissures qui contient plus de 350 espèces. Il appartient à la classe des Deutéromycètes (champignons imparfaits), il est incapable d'effectuer la reproduction sexuée. *Penicillium* signifie en latin « pinceau », ceci fait référence au « pénicille » qui est sous cette forme. Le thalle est formé de filaments septés, souvent hyalins, et peut avoir différentes couleurs selon le milieu de culture. Les conidiophores ou verticilles peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches. *Penicillium* se reproduit en formant des chaînes de spores (ou conidies) à partir des phialides (Böhm *et al.* 2013 ; Pitt 2014 ; Visagie *et al.* 2014).

I. 1. 1. Définition de l'espèce :

I. 1. 1. 1. Aspect microscopique :

Du point de vue morphologique, *Penicillium chrysogenum* se caractérise par la présence des phialides qui sont portées par des métules. Ces dernières sont-elles soutenues par des verticilles représentant le conidiophore. Les pénicilles (têtes reproductives sous forme de pinceau) sont majoritairement terverticillés ou tétraverticillés (Figure 1). Les conidies de *P. chrysogenum* sont bleues à bleu-vertes, et la moisissure donne parfois un pigment jaune (Pitt 2014).

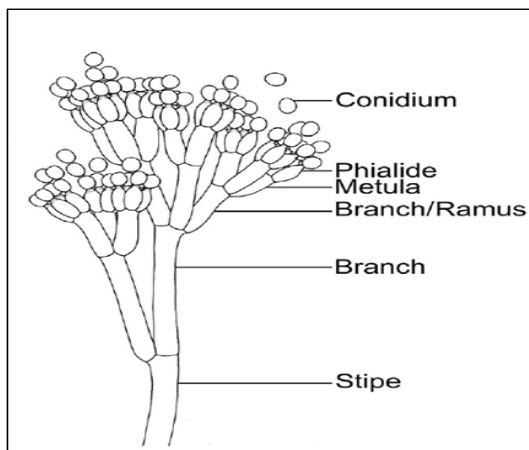


Figure 1 : Caractères Morphologiques de *P. chrysogenum* (Visagie *et al.* 2014).

I. 1. 1. 2. Aspect macroscopique :

La culture de *P. chrysogenum* se réalise fréquemment sur les milieux de routine, comme le MEA (Malt Extract Agar), CYA (Czapek Yeast Agar) et le G25N (25% Glycerol Nitrate Agar) qui permettent une bonne croissance, et une formation nette des verticilles et des phialides. La couleur, la forme et l'ornementation des structures mycéliennes sur ces milieux permettent de confirmer l'identification de l'espèce.

P. chrysogenum donne aussi une grande croissance sur d'autres milieux courants de la mycologie, comme le Sabouraud, le PDA (Potato Dextrose Agar) (Houbraken *et al.* 2012).

Sur le milieu CYA, les mycéliums donnent une taille comprise entre 35-45 mm de diamètre après 7 jours d'incubation à $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Ils sont divisés radialement, bas, veloutés et de couleur vert jaunâtre au centre, puis vert bleu. Le mycélium est entouré d'une marche blanche (Figure 2). Leur production conidiale est légère à modérée, de couleur gris-turquoise à vert terne. L'espèce donne un exsudat jaune ou brun jaune pâle à brillant avec la production de pigment soluble jaune ; ce qui donne à certains isolats une couleur jaune verte bien marquée (Pitt 2014 ; Bourzama *et al.* 2019).



Figure 2 : Culture de *P. chrysogenum* sur le milieu CYA (Alshehri *et al.* 2020).

Sur le milieu MEA, les mycéliums atteignent 25 à 40 mm de diamètre après 7 jours d'incubation. Les cultures sont généralement planes, basses et veloutées, parfois floconneuses au centre ou granuleuses. La production de conidies est modérée à forte, donnant des cellules gris-turquoises à vert terne (Pitt et Hocking 2009).

La culture sur le milieu G25N est caractérisée par la présence des mycéliums de 18 à 22 mm de diamètre, généralement divisés radialement et denses. Ils sont de couleur verte et ont un revers brun pâle, à brun jaune ou brun rougeâtre (Pitt et Hocking 2009).

I. 1. 2. Ecologie :

P. chrysogenum est une espèce ubiquiste qui a un très large éventail d'habitats. Elle se trouve généralement dans les régions tempérées et subtropicales, et dans la neige saisonnière hivernale dont elle montre la distribution la plus large. Elle est souvent isolée à partir des arbres (conifères) et des plantes (euphorbiacées, halophytes, vigne) où elle vit en phytopathogène. Elle se trouve aussi dans la poussière atmosphérique, les produits alimentaires (céréales), le sol

(cultivé ou non, sols salins, champs de tourbe, marécages, sédiments de rivière, rhizosphère) où elle fait partie de la flore naturelle. Ce mycète est très répandu, en raison de ses activités lignocellulosiques, amylolytiques et lipolytiques diversifiées (de Menezes *et al.* 2019 ; Phuengmaung *et al.* 2019 ; de Menezes *et al.* 2020).

I. 2. Les substances à activité antibactérienne :

P. chrysogenum a une activité antibactérienne non négligeable, grâce à la large gamme de métabolites secondaires qu'elle produit, comme les pénicillines, les roquefortines, la fungisporine (un tétrapeptide cyclique hydrophobe), les sidérophores, la chrysogénine, la chrysogine, les sorbicillinoïdes et la géosmine. De plus, cette espèce est supposée produire d'autres composés non détectés (Guzmán-Chávez *et al.* 2018). Les principaux métabolites à activité antibactérienne produits par l'espèce sont :

I. 2. 1. Les pénicillines :

P. chrysogenum joue un rôle important en biotechnologie en tant que principal producteur industriel de la pénicilline qu'il produit lors du métabolite secondaire. À ce jour, cette espèce est utilisée industriellement pour la production de la pénicilline, et cela à cause de son intérêt très important d'un point de vue économique. Ce type d'antibiotiques est fréquemment utilisé pour le traitement des infections souvent mortelles comme la méningite et la tuberculose. Les pénicillines sont susceptibles de se dégrader sous certaines conditions telles que l'acidité (Sigl *et al.* 2011 ; Ziemons *et al.* 2017 ; Balsalobre *et al.* 2019).

Les pénicillines agissent sur les bactéries en se liant aux protéines et en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, provoquant ainsi la lyse cellulaire. Les enzymes qui hydrolysent les liaisons transversales du peptidoglycane continuent de fonctionner, même si celles qui forment ces liaisons transversales s'arrêtent. L'activité des antibiotiques rend la paroi cellulaire de la bactérie sensible à la pression osmotique qui devient de plus en plus non compensée, entraînant finalement la mort des cellules, ce phénomène est qualifié de « cytolysse ». De plus, l'accumulation de précurseurs de peptidoglycane déclenche l'activation des hydrolases et des autolysines de la paroi cellulaire de la bactérie, qui digèrent davantage les peptidoglycane de la paroi cellulaire. La petite taille des pénicillines augmente leur puissance, en leur permettant de pénétrer dans toute la profondeur de la paroi cellulaire (Van Bambeke *et al.* 1999 ; Guzmán-Chávez *et al.* 2018).

Les pénicillines ont principalement un large spectre actif contre de nombreuses bactéries aérobies et anaérobies à Gram positif et à Gram négatif, y compris *Staphylococcus aureus*, les streptocoques tels que *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, les viridans streptocoques du groupe, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Bacteroides fragilis* etc. (Bush et Bradford 2016).

Les différentes pénicillines sont définies par la chaîne latérale dans le 6-amino, parmi les pénicillines produites par *P. chrysogenum* :

- Pénicilline G : elle se compose de deux parties essentielles, l'acide 6-amino-pénicillanique et une chaîne latérale qui, dans le cas de la pénicilline G, est une molécule benzylique (Figure 3) (Press *et al.* 2019).

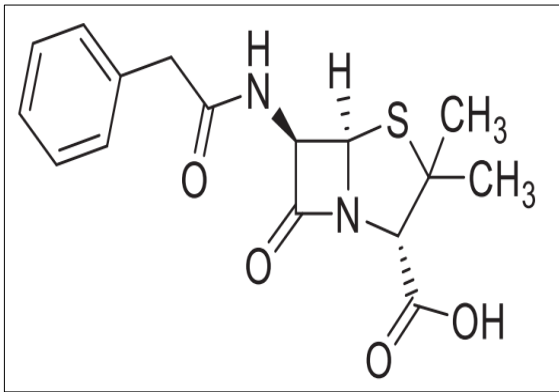


Figure 3 : Structure de base de la pénicilline G
(Press *et al.* 2019).

- Pénicilline V : elle a la chaîne latérale en C₆ composée de l'acide phénoxyacétique (Figure 4) (Press *et al.* 2019).

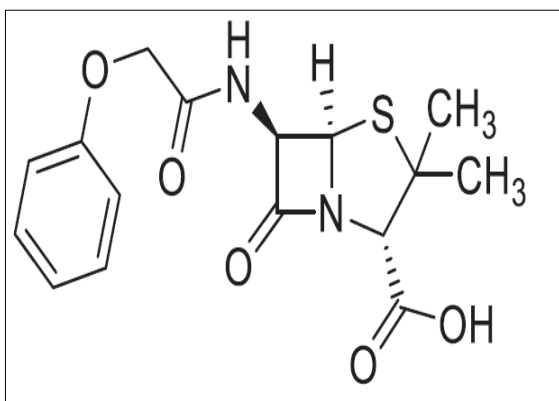


Figure 4 : Structure de base de la pénicilline V
(Press *et al.* 2019).

I. 2. 2. L'amoxicilline :

L'amoxicilline est une pénicilline semi-synthétique utilisée depuis les années 1970 seule ou en combinaison avec l'acide clavulanique comme inhibiteur de la bêta-lactamase. L'amoxicilline est désignée par l'OMS comme "antibiotique d'accès essentiel". Elle a été couramment utilisée dans des productions animales intensives car elle est considérée comme traitement efficace pour une grande variété de maladies animales. La structure de base de cet antibiotique est représentée dans la Figure 5 (Sharland *et al.* 2018 ; Huttner *et al.* 2019 ; Matta *et al.* 2019 ; Yang *et al.* 2020).

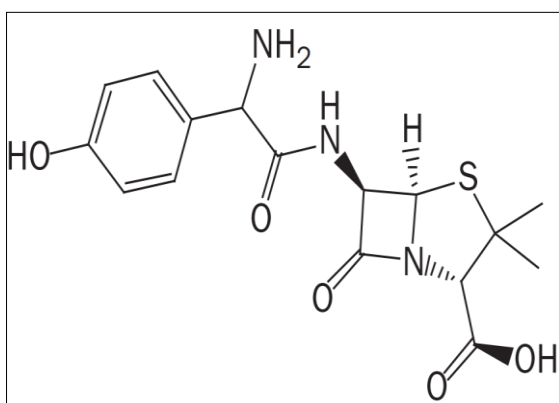


Figure 5 : Structure de base de l'amoxicilline
(Roy 2011)

L'amoxicilline a une activité contre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif : *Enterococcus* espèces, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus sp*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella*, *Shigella*, et *Borrelia sp*. (Ishikawa *et al.* 2015 ; Evans *et al.* 2020).

I. 2. 3. Les sorbicillinoïdes :

Également appelés « vertinoïdes ». Ces composés sont des dimériques naturels qui dérivent de la sorbicilline, un phénol hexacétide qui a été isolé pour la première fois par Gram en 1947 à partir de la souche bactérienne *Penicillium* au cours de la purification de la pénicilline (Guzmán-Chávez *et al.* 2017).

Ces composés ont une activité anti-inflammatoire et antibactérienne. Ils sont produits par certains champignons filamenteux, dont principalement *P. chrysogenum*. Selon les caractéristiques structurales, les sorbicillinoïdes peuvent être divisés en quatre groupes : les sorbicillinoïdes monomères, les bisorbicillinoïdes, les trisorbicillinoïdes et les sorbicillinoïdes hybrides (Meng *et al.* 2016 ; Salo *et al.* 2016). Les sorbicillinoïdes ont la structure de base représentée dans la Figure 6.

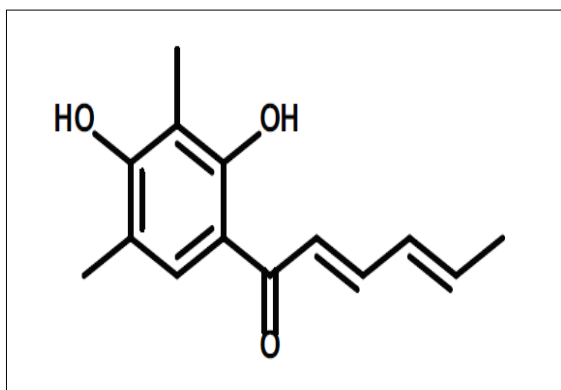


Figure 6 : Structure de base de la sorbicilline
(Salo *et al.* 2016).

I. 2. 4. La chrysogénine :

La chrysogénine est un pigment jaune produit par des souches de *P. chrysogenum*. Ce pigment sert à protéger le microorganisme qui le produit contre les conditions environnementales défavorables (ex : rayons néfastes, haute température ou humidité) et a aussi une grande activité antibactérienne. Cette molécule est très soluble dans les solvants organiques (l'acétone, l'éther, l'alcool éthylique, l'acétate d'éthyle) (Lopes *et al.* 2013 ; Pagano et Dhar 2015). La chrysogénine a la structure de base représentée dans Figure 7.

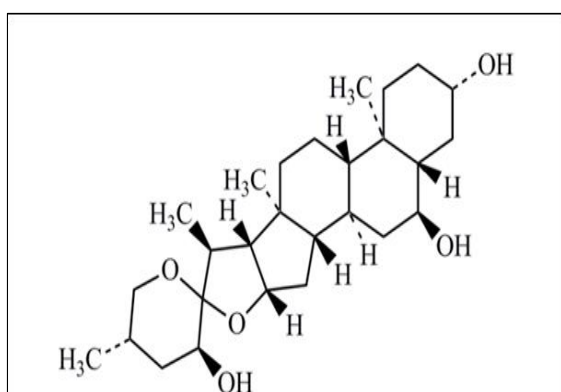


Figure 7 : Structure de base de la chrysogénine
(Ramesh *et al.* 2019).

I. 2. 5. La roquefortine C :

La roquefortine C a de fortes activités mycotoxiques et antibiotiques. Elle appartient à la famille des alcaloïdes DKP (diketopiperazine). Elle a été isolée pour la première fois à partir de cultures de *Penicillium roqueforti*, puis à partir d'autres espèces de *Penicillium* poussant sur des céréales fourragères et des déchets alimentaires contaminés, des oignons, de la bière et du vin. La roquefortine C est également synthétisée par des souches de *P. chrysogenum* productrices de la pénicilline (Martín *et al.* 2014). La structure de base de roquefortine C est représentée dans la Figure 8.

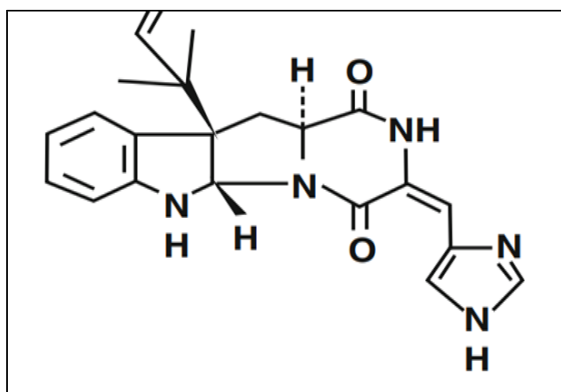


Figure 8 : Structure de base de roquefortine C
(Martín *et al.* 2014).

La roquefortine C présente une activité bactériostatique contre les bactéries à Gram positif alors qu'elle n'est pas active sur les bactéries à Gram négatif. Bien que son mécanisme d'action exact ne soit pas connu, elle semble interagir avec le cytochrome p450 et interfère avec la synthèse de l'ARN. Ainsi, elle présente également une activité neurotoxique à faible dose et elle est pratiquement considérée comme un contaminant du fromage bleu. La méléagrine, un produit de la roquefortine C, est proposée comme précurseur de la néoxaline. Elle a une bonne activité antibactérienne et antiproliférative (Ali *et al.* 2013 ; Newmister *et al.* 2018).

I. 2. 6. La géosmine :

La géosmine est un métabolite microbien volatil responsable de l'odeur caractéristique du sol humide ou de la terre fraîchement labourée. Le nom de cette molécule signifie « odeur de terre ». Cette odeur est une déviation organoleptique rencontrée depuis plusieurs années dans des cépages tels que le Sauvignon, le Cabernet, le Pinot noir ou le Sémillon. La géosmine est un sesquiterpène issu de la voie des isoprénoïdes (Liato et Aïder 2017 ; Dirkmann *et al.* 2018). La structure de base de la géosmine est représentée dans la figure 9 ci-dessous :

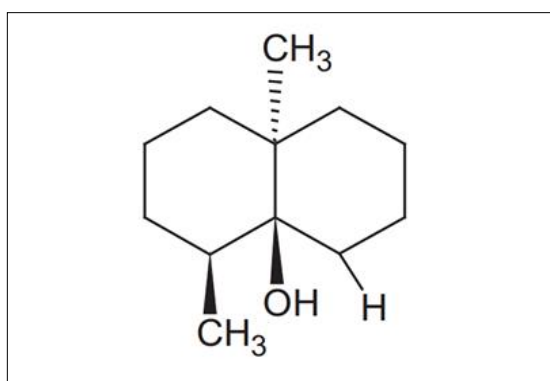


Figure 9 : Structure de base de la géosmine
(Lindholm-Lehto *et al.* 2019).

Plusieurs substances élaborées par *P. chrysogenum*, y compris celles citées précédemment, ont une activité antibactérienne, mais elles ne sont pas toutes utilisées en industries pharmaceutiques et médicales. En effet, leur utilisation dans ces industries dépend de leur pouvoir pathogène. Prenons exemple la roquefortine C qui ; à cause de sa neurotoxicité qui provoque parfois une intoxication naturelle chez les bovins après ingestion d'orge contaminée ; ne peut pas être utilisée comme médicament malgré son très large spectre d'action.

Néanmoins, les substances qui ne sont pas utilisées dans le domaine pharmaceutique, peuvent être très intéressantes une fois utilisée dans d'autres domaines, notamment en agriculture ou en industrie du textile.

Un autre exemple intéressant est celui de la géosmine qui a une importance économique considérable en raison de son action sur les moisissures indésirables ou pour contrer les arômes indésirables dans l'eau potable, le poisson et d'autres denrées alimentaires. Elle est d'autant plus intéressante pour sa résistance à l'élimination par traitement conventionnel de l'eau.

I. 3. Les facteurs qui influencent la production des molécules antibactériennes :

De nombreux facteurs influencent le déroulement de la fermentation et le rendement en molécules à activité antibactérienne au cours de la production, comme la température, le pH, la composition du milieu, etc. (Kalai *et al.* 2014 ; Veiter et Herwing 2019).

D'autres paramètres de processus, comme l'aération et l'agitation influencent à leur tour la diversité morphologique des hyphes homogènes et des structures de touffes et/ou d'agglomérats hyphaliques. Ces derniers assurent le transfert de l'oxygène et du substrat qui à leur tour affectent la productivité et le contrôle du processus (Veiter et Herwing 2019).

I. 3. 1. Agitation :

L'agitation peut avoir de nombreux effets sur les comportements et les caractéristiques des mycéliums en culture submergée. En général, la vitesse d'agitation doit être optimale pour éviter les agglomérations et les touffes mycéliennes. Pour la production des antibiotiques l'agitation doit être moyenne à vigoureuse, mais surtout constante. Le changement brusque de la vitesse d'agitation entraîne une forte réduction du taux de production (Veiter et Herwing 2019).

I. 3. 2. Aération :

Pendant la formation des métabolites secondaires, la respiration des cellules mycéliennes diminue régulièrement. De ce fait une faible aération est nécessaire pour le processus de biosynthèse de la pénicilline et des autres antibiotiques. Ceci dit, pour la formation des enzymes nécessaires à la production de cet antibiotique, une forte aération est nécessaire, cette dernière doit par la suite être diminuée (de Jonge *et al.* 2011).

La demande en oxygène de la culture de *P. chrysogenum* est fournie par un système de contrôle automatique de l'aération sur la base de la respiration réelle des cellules et ça arrive à des niveaux d'oxygène dissous de 40% minimum. L'utilisation simultanée de l'appareil d'aération automatique et d'un turbomixeur soumis à une forte contrainte de cisaillement indique que certains effets de l'agitation sont indépendants de l'aération (Pitt 2014 ; Veiter *et al.* 2020).

I. 3. 3. Humidité :

L'humidité est un facteur primordial pour la croissance et la survie des moisissures. Néanmoins, le métabolisme secondaire peut supporter de faible valeur d'humidité. *P. chrysogenum* est capable de croître ainsi que de produire des métabolites primaires et secondaires, dont la pénicilline, dans une humidité relative allant de 60 à 100 %. Quand l'humidité relative s'abaisse de manière néfaste, le mycélium de l'espèce a la possibilité de s'enkyster (Nanguy *et al.* 2010 ; Lattab *et al.* 2012).

I. 3. 4. CO₂ :

Le dioxyde de carbone dissout lors d'une culture submergée inhibe le taux de croissance spécifique et le taux de production des composés secondaires. Ce dernier s'arrête complètement lorsque le taux de gaz influents est de 12,6 et 20 % de dioxyde de carbone. Lors de l'exposition à des gaz influents de 3 et 5 % de dioxyde de carbone, aucune inhibition métabolique prononcée n'est observée. Les effets néfastes du CO₂ entraînent l'inhibition de l'absorption du substrat dans la phase de latence, en provoquant des changements morphologiques néfastes qui pourraient également contribuer à réduire les niveaux de pénicilline (El-Sabbagh *et al.* 2006 ; Blombach et Takors 2015).

D'autres expériences de secouage avec *P. chrysogenum* indique qu'une certaine quantité de CO₂ dans l'atmosphère est essentielle pour obtenir un maximum de pénicilline et que l'excès (> 1,0 %) avait un effet inhibiteur (Canteri et Ghoul 2015).

I. 3. 5. La composition du milieu :

I. 3. 5. 1. Les éléments nutritifs :

P. chrysogenum est un microorganisme hétérotrophe, il exige donc la présence des éléments nutritifs de base (source de carbone organique, azote et ions minéraux) dans le milieu qui assurent sa croissance.

I. 3. 5. 2. Source de carbone :

Le lactose est l'une des meilleures sources de carbone utilisées pour la production des métabolites secondaires. Il active le métabolisme secondaire et permet à l'espèce de se stabiliser en phase de ralentissement. D'autres oses rapidement utilisables peuvent servir à alimenter la fermentation par intermittence ; ils servent alors à obtenir des rendements de production sur le milieu synthétique égale ou supérieure à celles obtenues dans les mêmes conditions avec le lactose seulement (un taux d'absorption spécifique de glucose de 0,043 g/h est optimal) (Jónás *et al.* 2014 ; Veiter *et al.* 2020).

Un rendement maximal de production de la pénicilline par *P. chrysogenum* est obtenu par l'ajout du lactose ce qui augmente la production par 1,08g/L de pénicilline. La liqueur de maïs donne aussi une augmentation par 1,20 g/L de pénicilline dans le milieu (Rahman *et al.* 2012).

Pour la production des autres molécules de défense à activité antibactérienne, le milieu peut contenir différents types de saccharides difficiles à dégrader. Les disaccharides étant les plus utilisés.

I. 3. 5. 3. Source d'azote :

Les acides aminés sont utilisés comme source d'azote pour la production des métabolites secondaires par *P. chrysogenum*. Mais il est important de préciser que le taux de production dépend de l'acide aminé utilisé (Weber *et al.* 2012a).

En effet, les acides aminés ne donnent pas tous le même résultat : *P. chrysogenum* produit de faibles quantités d'antibiotiques lorsqu'il est cultivé sur un milieu basal avec l'ajout des acides aminés comme seules sources d'azote ; principalement la glycine, l'alanine, la bêta-alanine, la sérine, la thréonine, l'arginine, l'acide aspartique, l'asparagine, l'acide glutamique, la proline et l'hydroxyproline. Tandis que les fortes augmentations du rendement en antibiotiques sont obtenues dans des milieux contenant partiellement de l'arginine, de l'histidine et de l'acide

glutamique. La méthionine, le tryptophane, l'hydroxyproline et la phénylalanine, n'ont cependant pas d'action stimulante sur la formation de la pénicilline (Nasution *et al.* 2008).

I. 3. 5. 4. Les minéraux :

Chez *P. chrysogenum*, une production maximale de conidies (en trophophase) est observée quand le milieu nutritif contient 1% de NaCl tandis que la croissance végétative maximale sera enregistrée dans le milieu nutritif contenant 9% de NaCl. Les effets du sel pourraient être osmotiques et toxiques. En outre, le taux spécifique maximal de production de pénicilline ainsi que des autres métabolites de défense nécessite l'apport d'un large excès d'ions ammonium (Canteri et Ghoul 2015 ; Vu *et al.* 2019).

I. 3. 6. pH :

Le pH du milieu de fermentation est un facteur essentiel pour la production des antibiotiques par *P. chrysogenum*. Des recherches indiquent que le pH=7 est le plus convenable pour une meilleure production. De faibles variations de cette valeur influencent significativement le taux de production (Abbaszadeh *et al.* 2014).

I. 3. 7. Température :

Avec le pH, la température représente l'un des principaux facteurs qui déterminent la production des métabolites secondaires. Son ajustement affecte d'une manière positive ou négative la production souhaitée. La réduction de la température affecte le taux de croissance radiale associé à une diminution de la croissance hyphale en longueur unitaire. Autrement dit, elle stoppe de la croissance et déclenche le métabolisme secondaire (Low *et al.* 2008).

Les rendements en antibiotiques produits par *P. chrysogenum* sont optimaux quand la température est inférieure ou égale à 28°C. Mais en augmentant d'avantage la température, les rendements seront nettement inférieurs du fait que les processus métaboliques deviennent plus rapides ce qui favorise beaucoup plus l'autolyse avant que les fermentations ne soient terminées. Ceci en raison de l'épuisement des nutriments disponibles (Barreiro *et al.* 2012 ; Kalai *et al.* 2014).

I. 3. 8. Pression osmotique :

L'idiophase chez *P. chrysogenum* nécessite une pression de cuve de 20 livres par pouce carré. La réduction de cette pression à 2 livres par pouce carré n'affecte pas la fermentation,

mais une pression de cuve de 40 livres par pouce carré réduit les rendements en métabolites secondaires (Guedes et Leitão 2012).

I. 3. 9. Les acides gras :

Les acides gras sont fréquemment utilisés dans la production des antibiotiques, dont la pénicilline. Ils sont ajoutés sous forme de graisses. Bien qu'ils ne soient pas primordiaux pour la biosynthèse des antibiotiques, ils exercent un effet sur l'absorption d'oxygène par *P. chrysogenum* et agissent comme agents antimousses. Ils stimulent de ce fait de la production (Canteri et Ghoul 2015).

I. 4. Exemples de maladies traitées par les antibiotiques de *P. chrysogenum* :

Les antibiotiques produits par l'espèce sont utilisés pour le traitement de plusieurs maladies d'origine bactérienne. Ils représentent de ce fait une base de l'industrie pharmaceutique destinée pour soigner les maladies infectieuses. Comme exemples de l'utilisation de ces antibiotiques, nous pouvons citer :

I. 4. 1. Utilisations de la pénicilline :

Le démarrage de l'application clinique de pénicilline a commencé en 1939, et ce n'est qu'en 1945 que la pénicilline a été mise en vente sans restriction. Cette molécule représente le premier agent thérapeutique qui a détruit les bactéries *in vivo*. Par rapport à d'autres substances biologiquement actives, les cliniciens peuvent administrer ces médicaments à des doses relativement élevées sans danger pour les patients. Certaines études indiquent que la pénicilline présente un faible risque de toxicité : les préparations pures de pénicilline ne causent aucun dommage aux poumons et aux veines, mais la pénicilline topique peut empêcher la coagulation dans les cavités dentaires (Kardos et Demain 2011 ; Gaynes 2017).

Au cours des dernières années, la pénicilline a joué un rôle important et dominant dans le traitement de nombreuses maladies, avec succès dans certains cas, et avec des échecs dans d'autres. Les pénicillines, sont classées parmi les antibiotiques les plus importants qui ont connus une application répandue. Cet antibiotique est toujours très utilisé pour traiter les infections bactériennes, et c'est probablement le médicament le plus rentable qui existe (Lewis et Anderson 2018 ; Fatima *et al.* 2019). Les principales pénicillines utilisées pour des fins thérapeutiques sont brièvement abordées ici :

I. 4. 1. 1. Benzylpénicilline (pénicilline G) :

La pénicilline G représente le composé parent de la famille des pénicillines, elle est administrée par injection intramusculaire ou intraveineuse puisqu'elle est labile en acide et hydrolysée dans l'estomac en composés inactifs. Il s'agit donc d'un médicament administré par voie parentérale. L'administration de pénicilline G benzathine assure une faible dose continue pendant 2 à 4 semaines. Bien que ces pénicillines ne soient pas considérées comme de la pénicilline antistaphylococcique, en général, elles sont considérées comme une thérapie alternative pour la bactériémie (Petri 2011 ; Barker *et al.* 2017 ; Kang *et al.* 2020 ; Moriyama *et al.* 2020).

I. 4. 1. 2. La phénoxyéthylpénicilline « pénicilline V » :

La pénicilline V et la pénicilline VK (sel de potassium de la pénicilline V) sont disponibles pour l'administration orale. Elles ont une biodisponibilité d'environ 65 % après passage de l'acide gastrique. La pénicilline V est administrée de préférence à un patient à jeun car elle se dégrade dans l'acide gastrique. Le spectre de cet antibiotique ressemble beaucoup à celui de la benzylpénicilline, sauf qu'il existe des différences mineures significatives contre certaines souches bactériennes (Petri 2011 ; Barker *et al.* 2017).

I. 4. 1. 3. Antistaphylococcal pénicillines :

Les pénicillines isoxazolyl sont bien meilleures, elles sont absorbées et administrées par voie orale. En principe, les pénicillines antistaphylococciques (ASP) sont recommandées comme agents de première ligne dans les cas de bactériémie à *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline. La méthicilline, l'oxacilline et la cloxacilline sont incluses dans ce groupe. Elles ont néanmoins une activité plus faible contre les Streptocoques que les pénicillines naturelles. Aussi, elles ont une activité nulle contre les entérocoques. Leur activité anaérobie varie de minime à nulle et leur activité sur les bactéries Gram négatives est pratiquement inexistante (Loubet *et al.* 2018 ; Balsalobre *et al.* 2019).

I. 4. 1. 4. Pénicillines actives contre *Pseudomonas aeruginosa* :

Ce groupe de pénicillines regroupe des carboxypénicillines et d'acyl-ureido pénicillines. L'activité antibactérienne des carboxypénicillines combine le spectre Gram négatif de l'ampicilline avec une activité contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Providentia* et *Morganella*. Ces composés sont moins actifs contre les bactéries à Gram positif et n'ont aucune activité contre les souches de staphylocoques. Les acyl-uréido pénicillines ont une activité un peu plus importante contre *Pseudomonas aeruginosa* que les carboxypénicillines, mais sont sensibles à de nombreuses bêta-lactamases (Kaminski *et al.* 2011).

I. 4. 1. 5. Pénicillines résistantes à la bêta-lactamase :

La compréhension de la relation structure-activité des pénicillines a conduit au développement de la témocilline et de la formidacilline. La témocilline est l'analogue 6- α -methoxy de la ticarcilline, une carboxypenicilline aux propriétés antipseudomonales bien caractérisées. La modification α -methoxy confère une résistance aux sérines β -lactamases, mais la témocilline est inefficace contre la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*. Elle est plus active que les carboxypenicillines contre la plupart des bactéries Gram négatives (Sacco *et al.* 2019).

La formidacilline fait actuellement l'objet d'une enquête. *In vitro*, elle est très active contre la famille des *Enterobacteriaceae* et plus active contre *Pseudomonas aeruginosa* que la pipéracilline. Elle est inactive contre les bactéries à Gram positif. Mais, elle est plus active que la carbénicilline contre *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Bacteroides*. C'était la pénicilline la plus active contre les *Pseudomonas* et elle inhibait de nombreuses souches de *Pseudomonas* pour lesquelles les CMI de la carbénicilline étaient supérieures à 200 pg/ml (Bush et Bradford 2016 ; Abdelraouf *et al.* 2020 ; García-Fernández *et al.* 2020 ; Sharara *et al.* 2020).

I. 4. 1. 6. Autres applications de la pénicilline :

Une application importante des pénicillines, en particulier de l'acide 6-aminopénicillanique, est leur utilisation comme matière première de base pour d'autres pénicillines semi-synthétiques, leur conversion en céphalosporines ainsi. Plus de trente dérivés différents préparés à partir de cet acide jouent un rôle essentiel dans le traitement des infections mixtes (Rahman *et al.* 2012).

Autrement, il existe un autre moyen pour l'utilisation de la pénicilline, c'est dans les élevages ; comme additif alimentaire ou médicament qui peut entraîner la présence de l'antibiotique dans les aliments en quantité suffisante ; donc elle joue un rôle important dans la production animale. La pénicilline G est souvent utilisée pour le traitement des animaux laitiers. Aux États-Unis, les médicaments à base de pénicilline et d'ampicilline sont approuvés pour être utilisés chez les animaux destinés à l'alimentation afin de traiter, contrôler et prévenir les maladies. D'ailleurs, la pénicilline est approuvée pour améliorer les taux de croissance des porcs et des volailles (Cox *et al.* 2009 ; Cazeau *et al.* 2010 ; Chen *et al.* 2017).

I. 4. 1. 7. Maladies qui sont traitées avec la pénicilline :

À l'origine, la pénicilline était administrée par la voie intramusculaire. L'injection de goutte-à-goutte continue peut-être préférable pour les personnes extrêmement malades souffrant d'infections graves. Les pénicillines sont les antibiotiques les plus utilisés pour soigner les maladies bactériennes telles que la pneumonie, l'angine, la syphilis, la diphtérie, la leptospirose, la cellulite et les infections pulmonaires (Hao et Ho 2019). Certaines maladies sont citées ci-après :

I. 4. 1. 8. La pneumonie :

Les pneumonies communautaires sont des infections aiguës des poumons non lié à une hospitalisation ou à des soins. En cas de pneumonie franche lobaire aiguë (début brutal, pneumonie localisée, signes infectieux et douleurs thoraciques intenses), le pneumocoque est le plus souvent en cause et l'antibiothérapie repose sur une pénicilline (amoxicilline) (Tattevin 2015 ; Mathur *et al.* 2018).

I. 4. 1. 9. L'angine :

L'utilisation de la pénicilline V était recommandée en première intention pour soigner les angines (sauf en cas d'intolérance connue à la pénicilline ou pour toute autre raison que le médecin devait préciser) pour le traitement de l'angine aiguë à Streptocoque Bêta-hémolytique du groupe A (SBHGA) pendant 10 jours ou de la benzathine pénicilline en une injection intramusculaire. La dose, le mode d'administration et la durée du traitement étaient laissés l'initiative du médecin praticien (Wong et Yuen 2012 ; Azizkhan et Shiri 2013 ; Nedelcuta *et al.* 2019).

La pénicilline est très efficace *in vitro* sur le Streptocoque A (CMI < 0,02 µg/ml), les streptocoques B, C, G, F (CMI < 0,06), les Fusobacterium, les cocci + anaérobies. La fréquence des souches de streptocoque tolérantes (CMB jusqu'à 1 µg/ml) est difficile à apprécier (Grimprel et Cohen 2014 ; Couic-Marinier et Pillon 2017).

I. 4. 1. 10. Infections d'origine dentaire :

La pénicilline V et l'amoxicilline sont les antibiotiques les plus fréquemment utilisés pour la chimiothérapie des infections d'origine dentaire. Le médicament est administré par la voie orale qui est le mode le plus sûr, le plus pratique et le moins coûteux (Kumar 2017).

I. 4. 1. 11. La syphilis oculaire :

La syphilis oculaire est une maladie inflammatoire des yeux due à une infection à *Treponema pallidum*. En présence de symptômes, ou toute suggestion de syphilis oculaire indépendamment des tests du LCR, un traitement plus intensif est recommandé. Les adultes atteints de la syphilis oculaire sont traités avec de fortes doses de pénicilline G (Olivier *et al.* 2017 ; Peeling *et al.* 2017).

Le patient est admis à l'hôpital pour commencer à prendre de la pénicilline G potassique cristalline aqueuse 24 millions d'unités en perfusion continue de chlorure de sodium. Un cathéter central périphérique (PICC) a été placé à l'extrémité supérieure droite, et la perfusion à domicile par une pompe à perfusion continue ambulatoire (CADD) a été organisée pour compléter les 14 jours de traitement (Roy *et al.* 2020).

Certains auteurs considèrent que le traitement efficace d'une syphilis précoce nécessite des concentrations sériques au moins équivalente 0,03 UI/ml (soit 0,018 g/ml) pendant 7, 8, 10 jours (Farhi et Dupin 2008).

I. 4. 1. 12. Les méningites :

Streptococcus pneumoniae est responsable d'une mortalité et d'une morbidité importante dans le monde entier et provoque des maladies pneumococciques invasives, dont la méningite à pneumocoques. La pénicilline G et l'amoxicilline sont considérées comme les meilleurs traitements des méningites pneumocoques pendant des décennies. Elles sont très actives sur *Streptococcus pneumoniae*. Également, la pénicilline est utilisée en pathologie humaine dans les septicémies staphylococciques à des doses très élevées (100 million d'unités par jour). Ces doses dépassent beaucoup celles qui sont utilisées sur l'animal pour le traitement des mammites par voie générale (Kim *et al.* 2015 ; Pond *et al.* 2015 ; Cohen *et al.* 2017).

I. 4. 2. Utilisations de sorbicillinoïdes :

Les sorbicillinoïdes sont les métabolites les plus importants de l'hexakétide dérivés de champignons. Ils ont une variété d'activités (biologiques, cytotoxiques, antioxydantes et antibactériennes) malgré qu'ils n'aient pas montré beaucoup d'activité dans les tests antibactériens ou antifongiques. Environ 90 sorbicillinoïdes ont été connus au cours des dernières décennies. Ces composés sont hautement bioactifs et présentent un grand intérêt pharmaceutique (Harned et Volp 2011 ; Meng *et al.* 2016 ; Guzmán-Chávez *et al.* 2017).

L'application des sorbicillinoïdes comme agents antitumoraux, antibactériens et antioxydants, ainsi que leurs bioactivités sous-jacentes, ont suscité un intérêt important dans

l'industrie pharmaceutique, la communauté et l'industrie des soins de santé. Certains composés des sorbicillinoïdes ont montrés une faible activité contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (Meng *et al.* 2016 ; Zareshahi *et al.* 2020). Les maladies qui sont traitées avec cet antibiotique :

De nombreux sorbicillinoïdes ont fait l'objet d'un dépistage des activités cytotoxiques, principalement, le trichodimérol de la souche de *P. chrysogenum* qui inhibe la production du facteur de nécrose tumorale - α (TNF- α) par les macrophages (valeur de la CI_{50} de 200 ng/ml) et les monocytes (valeur de la CI_{50} de 200 ng/ml) Le TNF- α est une cytokine qui joue un rôle clé dans la réponse immunitaire et l'inflammation. Une régulation anormale du TNF- α a été impliquée dans plusieurs maladies : dépression, maladie d'Alzheimer, arthrite et cancer (Harned et Volp 2011 ; Yao *et al.* 2015 ; Meng *et al.* 2016).

En ce qui concerne l'activité de sorbicillinoïdes comme agent antiviral, les sorbicatéchols A et B du champignon *P. chrysogenum* ont une puissante activité antivirale contre le virus de la grippe A (H1N1) avec des valeurs de CI_{50} de 85 et 113 μ M, respectivement (ribavirine comme témoin positif avec une valeur de CI_{50} de 84 μ M) (Nicoletti et Trincone 2016 ; Sib *et al.* 2020).

En plus de l'activité cytotoxique/cytostatique de la sorbicillactone A, ce composé a également d'autres propriétés biologiques intéressantes. Par exemple, il protège les cellules T humaines contre le VIH-1, par des effets cytoprotecteurs sur les cellules infectées en réduisant l'apparence de la protéine VIH-1 jusqu'à 70 % à une concentration de 0,3 μ g/mL, ce sorbicillinoïde hybride était considéré comme un inhibiteur potentiel de la protéine de matrice VP40 du virus Ebola. L'expression des protéines virales est donc inhibée en présence de sorbicillactone A (Bringmann *et al.* 2007 ; Indraningrat *et al.* 2016 ; Skariyachan *et al.* 2016).

Chapitre II :

**Optimisation de la
production de la pénicilline**

II. 1. Optimisation culturelle de la production de la pénicilline :

P. chrysogenum, est considérée comme étant la meilleure espèce utilisée pour la production industrielle de pénicilline. Et cette dernière est le premier antibiotique découvert et utilisé pour le traitement des infections bactériennes. Du coup, la possibilité d'appliquer des techniques biologiques à la biosynthèse des métabolites secondaires à intérêts thérapeutiques et pharmaceutiques ouvre un large éventail de nouvelles possibilités. Ces métabolites ont une valeur importante, et les améliorations de leur production sont précieuses pour l'industrie biotechnologique (de Oliveira 2017 ; Nielsen et Keasling 2011 ; Hardianto *et al.* 2015 ; Vu *et al.* 2019).

L'exploitation et l'optimisation des processus de fermentation revêtent une grande importance dans l'industrie biotechnologique. Pour obtenir un fonctionnement performant, l'optimisation culturelle est généralement effectuée afin de maximiser soit la production de biomasse soit celle de métabolites, elle nécessite de faire cultiver la moisissure productrice (*P. chrysogenum*) dans des conditions optimales (milieu de culture, température, pH, oxygénation, etc.) pour atteindre une croissance maximale de la souche comme pour la production d'antibiotiques principalement la pénicilline (Helmel *et al.* 2015 ; de Oliveira 2017).

II. 1. 1. Optimisation par la constitution des milieux :

La production des métabolites secondaires a fait l'objet de nombreuses études en raison de son importance académique et industrielle. Pour ce, plusieurs souches de *P. chrysogenum* ont été utilisées pour la production en laboratoire et à des fins commerciales dans divers pays du monde. La production à l'échelle industrielle implique la culture aérobie submergée des moisissures dans un milieu aqueux « fermentation » (Ehgartner *et al.* 2017).

La méthode habituelle adoptée pour l'optimisation de la production à grande échelle de pénicilline consiste à cultiver *P. chrysogenum* sur des couches peu profondes de milieux Czapek Dox recommandé par le Dr H. W. Florey et le Dr N. G. Heatley (communication personnelle du 16 juillet 1941). La gélose de Czapek, sert comme un bon support pour les espèces de *Penicillium*, qui poussent peu sur ce milieu mais sporulent facilement engendrant ainsi une bonne production de métabolites secondaires, notamment de la pénicilline. Ce milieu est additionné du nitrate de sodium comme source d'azote et avec le lactose comme source de carbone, le di-potassium et le phosphate tamponnent le milieu. Le sulfate de magnésium, le

chlorure de potassium, le sulfate ferreux servent de sources d'ions essentiels pour une bonne amélioration de la production (Rahman *et al.* 2012 ; Sarkar 2014 ; Khalil *et al.* 2019).

Des améliorations ont été progressivement apportées dans ce milieu de culture, de sorte que 150 à 200 unités par ml peuvent maintenant être obtenus en 5 à 6 jours de fermentation (de Jonge *et al.* 2011 ; Rahman *et al.* 2012).

Aussi, la morphologie du mycélium est un paramètre important pour la production des substances à activité « antibiotique ». En effet, la production est étroitement liée au cycle de vie de *P. chrysogenum* ; elle représente une propriété des souches, mais elle est également influencée par les conditions de culture. L'ajout de gouttelettes d'huile de n-hexadécane en début de la phase de production des antibiotiques sur le mycélium entraîne un changement de la morphologie du mycélium : il devient lisse avec des granules souples et pelucheux au lieu d'avoir des granules compacts. En plus de ce rôle important qui domine la morphologie mycélienne, l'huile de n-hexadécane permet de supprimer la mousse produite lors de la fermentation et participe à l'augmentation du rendement en antibiotiques. Cette technique est particulièrement efficace pour l'optimisation de la production de la pénicilline (Miller 2008 ; Böhm *et al.* 2015).

II. 1. 2. Optimisation par les conditions physico-chimiques :

La capacité à contrôler ce processus biotechnologique de manière optimale est d'un intérêt considérable pour les industries productrices des métabolites à intérêts pharmaceutiques. Elle leur permet de réduire les coûts de production, d'augmenter la quantité des produits et de maintenir la qualité de ces derniers (Kager *et al.* 2020).

La production par fermentation des métabolites secondaires est un procédé réalisé par lots alimentés, effectué de manière aseptique dans des réacteurs à cuve en acier inoxydable d'une capacité de 30 000 à 100 000 gallons. Pour améliorer la production de produit recherché, il est nécessaire de contrôler la culture du microorganisme : les conditions principales de ce contrôle étant nombreuses (le pH, la température, l'aération, l'agitation, etc.) (Masurekar 2009).

L'objectif principal de l'amélioration de la fermentation est d'augmenter et de prolonger la période de biosynthèse (Veiter *et al.* 2020).

II. 1. 2. 1. pH :

Le pH affecte fortement la physiologie de la culture de la moisissure productrice et donc le rendement. Il doit être maintenu à sa valeur optimale de fermentation : le pH 6,0 représente le pH optimal pour l'extension des hyphes de *P. chrysogenum* et une valeur de 7 permet d'avoir les plus grands rendements en métabolites secondaires (Masurekar 2009 ; Douma *et al.* 2010).

Il existe plusieurs moyens pour maintenir le pH à sa valeur optimale, comme l'ajout au milieu d'un composé pouvant servir de tampon ou être utilisé comme source de nutriments. De nombreux milieux sont tamponnés à un pH d'environ 7,0 par l'incorporation de carbonate de calcium (sous forme de craie). Si le pH diminue, le carbonate est décomposé. Toutefois, il est évident que les phosphates, l'hydroxyde de sodium ou de potassium ou l'acide sulfurique retrouvés dans les milieux, jouent un rôle important dans la mise en œuvre du tampon et qui ; à des concentrations élevées ; interviennent dans la production de nombreux métabolites secondaires par les moisissures (Masurekar 2009 ; Stanbury *et al.* 2017).

II. 1. 2. 2. Température :

La température optimale pour une production optimisée par *P. chrysogenum* doit être maintenue à 28°C. Une légère augmentation ou diminution de cette température pourrait réduire la taille des structures mycéliennes ainsi que la production de pénicilline par la moisissure (Barreiro *et al.* 2012 ; Parameswari et Sivasankari 2018 ; Bourzama *et al.* 2019).

II. 1. 2. 3. Oxygénation :

Une culture optimale de production nécessite des niveaux élevés d'oxygène dissout. Ce paramètre est essentiel en particulier pendant les périodes de croissance et de la production. Un ajustement des taux d'agitation et/ou d'aération pendant la fermentation se fait en fonction des caractéristiques du bouillon et des besoins en oxygène de *P. chrysogenum*. De ce fait, il existe des méthodes souvent utilisées pour contrôler l'aération, plus fréquemment par une agitation tourbillonnaire avec de l'air fourni à une pression manométrique de quelques centimètres au-dessus de la pression atmosphérique. Cette dernière peut avoir de nombreux effets sur les comportements et les caractéristiques des microorganismes filamenteux qui se développent en culture submergée (El-Enshasy 2007 ; Canteri et Ghoul 2015 ; Veiter *et al.* 2020).

II. 1 .2. 4. Précurseurs essentiels :

Le facteur limitant l'activité de la pénicilline est la synthèse de la chaîne latérale. Il est devenu pratiquement courant d'ajouter des précurseurs de la chaîne latérale au milieu de culture, en particulier l'acide phénylacétique qui est capable à la fois de tripler la production de pénicilline et d'orienter la biosynthèse vers l'augmentation de la proportion de la pénicilline benzylique de 0 à 93 % aux dépens des autres pénicillines. L'ajout de ce précurseur fait donc partie des processus courants de la fermentation industrielle pour la production de pénicilline G par *P. chrysogenum*. Ce même principe est utilisé pour la production de tous les métabolites secondaires. En effet, l'ajout du précurseur direct ou indirect du produit recherche influence favorablement le taux et la vitesse de biosynthèse (Veiga *et al.* 2012 ; Stanbury *et al.* 2017).

L'acide phénylacétique (pour la pénicilline G) ou l'acide phénoxyacétique (pour la pénicilline V) sont les précurseurs les plus utilisés dans la production de la pénicilline. Leur administration soit par voie alimentaire ou par lots augmente donc le rendement de la production. La l-valine, la l-cystéine et l- α -acide aminoadipique sont d'autres précurseurs pour la production des métabolites secondaires. La valine et la cystéine sont considérées comme des acides aminés physiologiques en raison de leur rôle dans la synthèse des protéines, néanmoins ils favorisent le passage des moisissures en idiophase et donc l'activation de la production des composées secondaires (Parameswari et Sivasankari 2018 ; Ramzan *et al.* 2019).

II. 1. 2. 5. Sources d'énergie :

Il est reconnu aujourd'hui que la vitesse à laquelle la source de carbone est métabolisée peut souvent influencer la formation de la biomasse ou de la production. Une croissance rapide due à de fortes concentrations de sucres rapidement métabolisés est souvent associée à une forte productivité des métabolites primaires, et à contrario les métabolites secondaires s'en trouvent inhibés. A un moment donné, le problème est surmonté en utilisant les sucres moins facilement métabolisés tels que le lactose, même si de nombreux procédés utilisent actuellement l'alimentation semi-continue ou continue en glucose ou en saccharose mélangé avec une autre source plus difficile à dégrader (Stanbury *et al.* 2017).

Pour la source d'azote, l'utilisation de la liqueur du maïs, de la farine de graines de coton ou du soja et du sulfate d'ammonium induit la faible croissance et aide à améliorer la production des métabolites secondaires à activité antibactérienne. Ceci en plaçant la moisissure

en phase de ralentissement, qui est considérée comme étant la phase la plus productrice des antibiotiques, mycotoxines et autres produits de défenses. Comme exemple, l'ajout de liqueur de maïs augmente le rendement de la pénicilline de 20 à 100 unités cm^{-3} du fait qu'elle contient de la phényléthylamine, qui est incorporée dans la molécule de pénicilline. Elle permet surtout de donner de la pénicilline benzylique (pénicilline G) (Zhang et Sang 2015 ; Stanbury *et al.* 2017 ; Hofer *et al.* 2018 ; Parameswari et Sivasankari 2018).

Quand des sources simples sont ajoutées pour la production en idiophase, le maintien des taux d'absorption doivent être bien prédéfinis. De même, les points de consigne non limitatifs pour l'azote et les précurseurs de produits doivent être bien réglés. Ce contrôle se fait par un système de rétroaction en boucle ouverte (MBC) ou par un contrôleur prédictif de modèle (MPC) ; leur performance dans des expériences étant largement testée (Kager *et al.* 2020).

II. 1. 2. 6. Antimousse :

Au cours de la production industrielle par des cultures submergées, des quantités de mousse tellement excessives peuvent être produites, qu'il est impératif d'ajouter un agent antimousse qui garantit l'élimination totale de la mousse et qui évite que le milieu ne déborde ou ne soit contaminé dans le fermenteur. Cela permet d'éliminer la mousse facilement et d'avoir un rendement de fermentation plus élevé et plus stable pour une faible consommation d'énergie (de Jonge *et al.* 2011 ; Karakashev et Grozdanova 2012).

L'huile de saindoux et l'huile de maïs sont les huiles les plus traditionnellement utilisées comme agents antimousses pour les productions des antibiotiques par *P. chrysogenum*. Ils se sont révélés être des Co-substrats appropriés des sucres, ce qui augmente la production des métabolites secondaires, notamment celle des pénicillines. Par conséquent, une large gamme de composés à base de lipides est aujourd'hui disponible pour être évalués comme substrats appropriés pour la production industrielle des pénicillines (Chandirakasan et Kalaiarasu 2010 ; Geng et Yuan 2010 ; Yuan *et al.* 2010).

D'autres antimousses sont utilisés. Parmi eux, le n-hexadécane, qui exerce une double fonction, notamment un pouvoir antimousse avec la capacité de changer la morphologie de *P. chrysogenum* au cours de la fermentation (en favorisant la germination des spores en mycélium) permettant ainsi d'augmenter la production (Miller 2008).

Toutes les conditions citées ici doivent être étroitement surveillées, automatisées et contrôlées pour une production maximale des métabolites en idiophase.

II. 1. 3. Optimisation par les lots alimentés en deux phases :

En outre, il existe d'autres moyens pour optimiser la production de la pénicilline autres que les modifications des conditions culturales et de la constitution du milieu. La fermentation de lots alimentés en deux phases est souvent utilisée aussi. Cette stratégie permet de prolonger la durée de la phase de production et d'éviter la répression en cas de niveau de substrats insuffisant. L'optimisation par les lots alimentés en deux phases a été essayée la première fois avec un simulateur basé sur le modèle mécaniste non structuré de Bajpai et Reuss (1980). Ce dernier était capable de créer un système de fermentation par lots contrôlés. Dans ce processus typique de production de pénicilline, le bioréacteur passait en mode d'alimentation par lots après environ 40 heures de phase de croissance par lots, soit lorsque les cellules entraient dans leur phase stationnaire (Bellgardt 2000 ; Goldrick *et al.* 2015 ; Ozcengiz et Demain 2013).

II. 2. Optimisation par des modifications génétiques :

Les premières modifications génétiques réalisées sur *P. chrysogenum* ont visé principalement l'optimisation de la production de la pénicilline. Pour produire des pénicillines moins chères et plus efficaces, des études se sont réalisées sur de nouvelles souches de *P. chrysogenum* améliorées par les procédures classiques de mutagenèse. Par la suite, ces méthodes ont commencé à être testées pour améliorer les autres productions de métabolites à intérêts (Nijland *et al.* 2010 ; Van Den Berg *et al.* 2010 ; Wong *et al.* 2014 ; Sonderegger *et al.* 2016).

L'amélioration de la production consiste à utiliser de la biologie moléculaire afin d'induire une production élevée de bêta-lactames dans les souches de *P. chrysogenum*. Cette méthode se caractérise par l'insertion d'un nombre élevé des copies de l'ensemble du groupe de gènes de biosynthèse de la pénicilline, donnant ainsi des niveaux élevés de transcription. Le taux et le rendement de la production de la pénicilline s'en trouvent alors multipliés par des cycles successifs de mutagenèse de sélection (Douma *et al.* 2011 ; Vu *et al.* 2019 ; Wu *et al.* 2020).

II. 2. 1. Optimisation par mutations :

Une découverte a mis en œuvre de nombreuses mutations (insertions et suppressions) et des variations structurelles du génome de *P. chrysogenum* pour l'amélioration de la production des métabolites à intérêt industriel, mais la manière dont la souche productrice à faible teneur est transformée en un producteur efficace par cette amélioration reste un défi toujours d'actualité (Quo *et al.* 2012 ; Wang *et al.* 2014 ; Wu *et al.* 2020). Les mutations les plus utilisées sur *P. chrysogenum* sont les suivantes :

II. 2. 1. 1. Mutations physiques par irradiation UV :

L'amélioration des souches de *P. chrysogenum* pour augmenter la quantité de production des métabolites secondaires est souvent effectuée par des moyens physiques (par les rayons X, UV et d'autres mutagènes). En 1954, Stauffer et Backus ont utilisé l'irradiation UV pour produire un mutant de *P. chrysogenum* à haute productivité de la pénicilline, mais la plupart des modifications génétiques des souches à haut rendement n'étaient pas claires, car les mutations étaient aléatoires (Gui *et al.* 2012 ; Onyegeme-Okerenta *et al.* 2013 ; Wang *et al.* 2014 ; Hardianto *et al.* 2015 ; Kramer *et al.* 2015 ; Bourzama *et al.* 2019).

II. 2. 1. 2. Mutations chimiques :

Les techniques classiques de mutations chimiques consistent à faire muter la meilleure souche de production en utilisant une variété de mutagènes chimiques (par exemple la nitroso-méthylguanidine) et à cribler les mutants résultants pour obtenir des souches améliorées ; les mutants qui produisent plus de pénicilline que la normale neutraliseront une plus grande partie de composés toxiques. Par ailleurs, la présélection sur agarlate est utilisée pour améliorer le criblage d'un grand nombre d'isolats et favoriser les mutations quantitatives qui jouent un rôle dans l'optimisation de la production de pénicilline (Guzmán-Chávez *et al.* 2018 ; Shcherbinin *et al.* 2016).

Aujourd'hui, la production de la pénicilline est basée sur l'utilisation des précurseurs (l'acides phénylacétique et phénoxyacétique), avec la mise en œuvre des mutations qui jouent un rôle principal dans la résistance aux précurseurs afin d'éviter leur toxicité et le blocage de leur oxydation (Ding *et al.* 2012 ; Ramzan *et al.* 2019).

II. 2. 2. Optimisation par amplification des gènes par PCR :

Depuis la découverte de la pénicilline, des améliorations des souches par amplification ont été élaborées pour augmenter sa production. L'amplification du groupe de gènes biosynthétiques de la pénicilline qui se trouve entre les répétitions en tandem est le phénomène le plus important utilisé dans les souches à haute productivité de *P. chrysogenum*. Ce groupe de biosynthèse de la pénicilline chez la moisissure est constitué de trois gènes « *pcbAB*, *pcbC* et *penDE* » qui codent les enzymes qui catalysent les principales conversions biosynthétiques pour la production de l'antibiotique (Figure 10) (Domínguez-Santos *et al.* 2012 ; Weber *et al.* 2012a ; Weber *et al.* 2012b ; Hidaglo *et al.* 2014 ; García-Estrada *et al.* 2020).

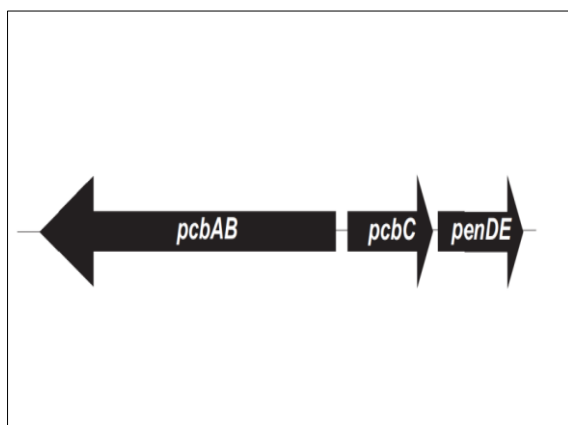


Figure 10 : Les gènes *pcbAB*, *pcbC* et *penDE* (Weber *et al.* 2012b).

L'isolement des gènes structurels codant les trois principales enzymes de biosynthèse de la pénicilline a permis l'utilisation d'approches moléculaires pour optimiser le rendement. Ceci a favorisé l'analyse génétique des souches de production actuelles, qui sont elles-mêmes le produit de 50 ans d'amélioration des souches et des processus. Par exemple, dans le cas de l'AS-P-78, un ADN de 106,5 kb, qui est une région comprenant le groupe d'enclos, est amplifiée en tandem donnant des répétitions de cinq ou six copies liées par des séquences d'hexanucléotides conservées, alors que les souches de type sauvage contiennent une seule copie de cette région (Ziemons *et al.* 2017 ; Martín 2020).

Discussion

En vue des risques des bactéries résistantes aux antibiotiques qui croissent jours après jour, Compaore et ses collaborateurs (2016) ont réalisé une étude sur l'isolement et la caractérisation des isolats de moisissures productrices des antibiotiques. Durant cette étude, ils sont arrivés à identifier plusieurs souches de *Penicillium* ayant une activité antibactérienne contre un grand nombre de bactéries. Parmi ces souches, celle de *P. chrysogenum* étaient les plus actives sur les pathogènes testés. Ceci, nous a assuré la capacité de notre espèce à produire des substances antibactériennes (Compaore *et al.* 2016).

Aussi, de part les recherches bibliographiques menées dans ce travail, nous avons constaté que *P. chrysogenum* produisait une large gamme de métabolites secondaires à activité antibactérienne. Ces derniers pouvaient être des antibiotiques ou autres. Néanmoins, ils avaient tous en commun une forte activité sur les bactéries pathogènes pour l'homme et animal. Ceci démontrait le rôle principal que tient cette espèce dans les industries thérapeutiques, médicales et pharmaceutiques.

La pénicilline, avec ses deux formes G et V, est la principale substance antibactérienne produite par cette espèce. Plusieurs chercheurs ont rapporté la forte activité antibactérienne de la pénicilline et son intérêt pour le traitement de plusieurs maladies infectieuses comme la pneumonie (Tattevin 2015 ; Mathur *et al.* 2018), l'angine (Wong et Yuen 2012), les infections d'origine dentaire (Kumar 2017), la syphilis oculaire (Olivier *et al.* 2017 ; Peeling *et al.* 2017) et la méningite (Kim *et al.* 2015; Cohen *et al.* 2017). Ceci était dû au fait que cet antibiotique exerçait un large spectre d'action contre de nombreuses bactéries aérobies et anaérobies à Gram positif et à Gram négatif, parmi eux : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Bacteroides fragilis* et *Peptostreptococcus* (Sigl *et al.* 2011 ; Bush et Bradford 2016).

Afin d'élargir encore davantage le champ d'action de la pénicilline, les chercheurs ont lancé la production de l'amoxicilline, qui est une pénicilline semi-synthétique, produite par le même microorganisme que la pénicilline, donc *P. chrysogenum* et dans les mêmes conditions.

Cette idée a permis un traitement efficace pour une grande variété de maladies animales, elle exerce une activité contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, y compris *Enterococcus*, *Listeria monocytogenes*, plusieurs espèces de *Streptococcus*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella*, *Shigella*, *Borrelia* et sur

beaucoup d'autres bactéries (Ishikawa *et al.* 2015 ; Sharland *et al.* 2018 ; Huttner *et al.* 2019 ; Matta *et al.* 2019 ; Evans *et al.* 2020 ; Yang *et al.* 2020).

Les sorbicillinoïdes sont aussi des substances élaborées par *P. chrysogenum*. Ils dérivent de la sorbicilline qui est un phénol hexacétide. Les sorbicillinoïdes présentent un grand intérêt pharmaceutique, de part leurs activités cytotoxique, antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne (Meng *et al.* 2016 ; Salo *et al.* 2016). Même si *P. chrysogenum* est très utilisée pour la production de ces composés, d'autres espèces de champignon le sont aussi, notamment *Trichoderma saturnisporum*, *Trichoderma reesei* et *Acremonium chrysogenum* (Meng *et al.* 2018 ; Chen et Chu 2019 ; Kahlert *et al.* 2020 ; Rehman *et al.* 2020).

P. chrysogenum produit aussi la chrysogénine sous forme de pigment jaune. Cette substance est spécifique à l'espèce. Le pigment sert, à la base, à protéger l'espèce productrice contre les conditions environnementales défavorables, mais les recherches ont démontré qu'il avait aussi une grande activité antibactérienne (Lopes *et al.* 2013 ; Pagano et Dhar 2015).

La roquefortine C appartient à la famille des alcaloïdes DKP (diketopiperazine). Même si elle est principalement produite par *P. roqueforti*, des recherches ont confirmé *P. chrysogenum* pouvait aussi la synthétiser quand le milieu de culture était bien adapté (Hymery *et al.* 2018). La roquefortine est à la base une mycotoxine à forte activité neurotoxique. Néanmoins, à forte dose elle joue le rôle d'un antibiotique, et à faible dose celui d'un bactériostatique. Cette substance n'est active que sur certaines bactéries à Gram positif et n'a aucune activité sur les bactéries à Gram négatif (Martín *et al.* 2014).

En plus des substances citées, la géosmine est aussi produite par *P. chrysogenum*. Elle correspond à un sesquiterpène issu de la voie des isoprénoïdes. Ce sesquiterpène est un métabolite microbien volatil responsable de l'odeur caractéristique du sol humide ou de la terre fraîchement labourée (Liato et Aïder 2017 ; Dirkmann *et al.* 2018). Les recherches ont démontré qu'en plus de *P. chrysogenum*, la production de cette substance se faisait par de nombreux microorganismes des écosystèmes aquatiques, y compris des cyanobactéries comme *Coelosphaerium sp.* *Fischerella sp.* Et *Phormidium sp.* (Hayashi *et al.* 2019 ; Melo *et al.* 2020).

Parmi les substances citées, les recherches ont précisé que leur utilisation en industrie pharmaceutique dépendait fortement de leur toxicité et de leurs conséquences (effets secondaires) sur la santé.

De ce fait, certaines molécules, comme la roquefortine C, ne peuvent pas être envisagées dans le domaine pharmaceutique et médical, malgré leur haut pouvoir antibactérien. Par contre, elles peuvent être utilisées dans plusieurs autres domaines, notamment en lutte biologique ou en tant que molécules de bio-conservation. De même, elles peuvent jouer un rôle additif ou synergique dans l'intoxication de l'homme et donc servir de biomarqueur sensible (Hymery *et al.* 2018 ; Botha *et al.* 2019).

En plus de ces substances antibactériennes, des études ont démontré que *P. chrysogenum* était capable de produire d'autres substances, en particulier des nanoparticules d'argent biogènes, qui avaient une efficacité antifongique et anti-mycotoxine à des faibles doses et qui n'étaient pas cytotoxiques (Khalil *et al.* 2019 ; Abd El Aty *et al.* 2020).

Plusieurs travaux antérieurs ont confirmé que la culture industrielle de *P. chrysogenum* pouvait se faire sur des milieux de culture courants en mycologie ; cette moisissure se montrait très peu exigeante et très facile à cultiver. Différents travaux menés sur la production des métabolites primaires et secondaires par *P. chrysogenum* se sont basés sur l'utilisation des milieux de routine. Les plus courants sont Czapek Yeast Agar, Malt Extract Agar avec une incubation de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 7 jours ; ou Sabouraud et Potato Dextrose Agar avec une incubation à $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ (Pitt et Hocking 2009 ; Houbraken *et al.* 2012 ; Pitt 2014 ; Dar *et al.* 2015 ; Yadav *et al.* 2018).

Après la découverte des nombreuses aptitudes de *P. chrysogenum* à produire des substances à intérêts thérapeutiques et pharmaceutiques, les chercheurs se sont lancés dans l'essai de variations de tous les facteurs de croissance afin d'optimiser la biosynthèse par l'espèce.

Certaines recherches ont confirmé que l'agitation pouvait avoir de nombreux effets sur les comportements et les caractéristiques du mycélium en culture submergée, elle devait être réglée de façon à éviter les agglomérations et les touffes mycéliennes (Veiter et Herwing 2019). De même, le rôle de l'aération a été établi comme étant primordial pour toute fermentation de l'espèce ; qu'elle soit primaire ou secondaire. Et ce du fait qu'elle permettait la respiration des cellules mycéliennes et aidait à la formation des enzymes nécessaires à la production (de Jonge *et al.* 2011).

Dans les chapitres 1 et 2 de ce travail, nous avons pu préciser les valeurs de l'humidité, température, pH, aération, et autres facteurs de croissance nécessaires pour optimiser la production des métabolites à activité antibactérienne. Plusieurs études qui confirmaient les valeurs citées pour l'optimisation ont été trouvées. Elles précisait que l'humidité était un facteur déterminant pour la production. Elle devait être fournie à une valeur en allant de 60 à 100 % (Humidité relative) pour que notre espèce ait une bonne culture et produisait des métabolites à intérêt industriel (Nanguy *et al.* 2010 ; Lattab *et al.* 2012). Les études antérieures ont aussi pointé du doigt d'autres facteurs comme étant des optimisateurs de la production des métabolites secondaires à intérêts thérapeutiques : une Température de 25°C à 28°C (Barreiro *et al.* 2012 ; Kalai *et al.* 2014), un pH neutre (Abbaszadeh *et al.* 2014), la présence du CO₂ en quantité limitée (El-Sabbagh *et al.* 2006 ; Blombach et Takors 2015). Différentes sources d'énergie ont été testées, déterminant que l'ajout du lactose comme source de glucose était fortement recommandé, comme l'utilisation des acides aminés comme source d'azote et l'enrichissement des milieux avec des acides gras. Toutes les études menées sur les variations des conditions de culture ont permis d'augmenter le taux de production de la pénicilline à fois dix. Elles ont aussi été appliquées sur les autres productions des métabolites secondaires en montrant une nette amélioration dans les taux de production. Aussi, ces recherches ont précisé que l'espèce était très résistante aux variations environnementales et était de ce fait un microorganisme de choix pour les utilisations industrielles (Weber *et al.* 2012a ; Jónás *et al.* 2014 ; Canteri et Ghoul 2015 ; Goldrick *et al.* 2015 ; Veiter *et al.* 2020).

Parmi les facteurs cités, ceux qui avaient le plus d'influence était le pH (Masurekar 2009 ; Stanbury *et al.* 2017), la température (Barreiro *et al.* 2012 ; Parameswari et Sivasankari 2018), l'oxygénation (El-Enshasy 2007 ; Veiter *et al.* 2020), l'utilisation des précurseurs de biosynthèse, précisément l'acide phénylacétique ou l'acide phénoxyacétique (Parameswari et Sivasankari 2018 ; Ramzan *et al.* 2019), l'ajout d'une source d'énergie et des antimousses (Parameswari et Sivasankari 2018 ; Kager *et al.* 2020). Ces paramètres réunis étaient les plus efficaces car ils ont donné des améliorations de 150 à 200 unités par ml en 5 à 6 jours de fermentation (de Jonge *et al.* 2011 ; Karakashev et Grozdanova 2012 ; Parameswari et Sivasankari 2018 ; Kager *et al.* 2020).

Il est important de noter que toutes les références citées ici démontraient que la moisissure devait être en idiophase pour donner un maximum de production des métabolites à

activité antibactérienne. Contrairement aux suppositions des investigations anciennes qui supposaient que les métabolites de défenses, ainsi que tous les autres métabolites secondaires pouvaient être produits en parallèle du métabolisme primaire, lors de la phase exponentielle.

D'autres travaux ont confirmé que *P. chrysogenum* pouvait produire de très grandes quantités d'antibiotiques une fois optimisée. Mais pour ceci, elle devait être utilisée dans des cultures submergée, avec des dispositifs de production en continue qui maintenait la phase stationnaire. Par ailleurs, la non-exigence de cette espèce et sa facilité de culture la rendait apte à être parmi les espèces primordiales et recommandées en production industrielle et lui permettait d'être une option économiquement viable (Geng et Yuan 2010).

Avec l'introduction de la biologie moléculaire, les chercheurs se sont lancés dans l'optimisation de *P. chrysogenum* par des modifications génétiques. Ces manipulations ont donné naissance aux souches industrielles actuelles qui pouvaient produire plus de 80 mg / mL (83,300 UI / mL précisément) en un minimum de temps. Ces productivités étaient d'au moins trois ordres de grandeur supérieurs à ceux fournis par les souches anciennes. Les manipulations en question étaient les mutations physiques par irradiation UV effectuée généralement par des moyens physiques (rayons X, UV et d'autres mutagènes), ou chimiques en utilisant des mutagènes chimiques (Gui *et al.* 2012 ; Onyegeme-Okerenta *et al.* 2013 ; Wang *et al.* 2014 ; Hardianto *et al.* 2015 ; Kramer *et al.* 2015 ; Shcherbinin *et al.* 2016 ; Guzmán-Chávez *et al.* 2018 ; Bourzama *et al.* 2019 ; García-Estrada *et al.* 2020).

L'insertion et l'amplification des gènes était la dernière invention qui ciblait l'augmentation de biosynthèse des enzymes, des agents antifongiques, des prébiotiques ou de différents types de métabolites secondaires par la moisissure (Martín 2020). Après plusieurs expériences, les scientifiques ont déterminé que l'optimum de production de la pénicilline était obtenu par l'amplification du groupe de gènes « *pcbAB*, *pcbC* et *penDE* » qui se trouvait entre les répétitions en tandem. Ceci aboutissait à une haute productivité des métabolites d'intérêt thérapeutiques (Domínguez-Santos *et al.* 2012 ; Weber *et al.* 2012a ; Weber *et al.* 2012b ; Hidaglo *et al.* 2014 ; García-Estrada *et al.* 2020). Néanmoins, il est primordial de signaler que ces techniques n'ont pas été testées pour tous les produits secondaires synthétisés par *P. chrysogenum*. La majorité des recherches a rapporté les résultats obtenus pour la pénicilline seulement. De ce fait, des études supplémentaires demeurent nécessaires pour confirmer l'optimisation de la biosynthèse de toutes les substances à intérêts antibactériens et

thérapeutiques ; et aussi la stabilité des souches de *P.chrysogenum* produites, cette dernière question n'ayant pas été abordée jusqu'à présent par les études actuelles.

Conclusion

Penicillium chrysogenum est une moisissure très intéressante à utiliser pour les productions industrielles car elle est très répandue dans la nature ; donc facile à isoler. Elle est très répandue dans les régions tempérées et subtropicales, dans le sol, les arbres et les plantes. Elle se trouve aussi dans la poussière atmosphérique et les produits alimentaires. De plus elle, se cultive facilement sur les milieux mycologiques de routine comme le Sabouraud, le CYA, le MEA et le PDA.

La production des substances antibactériennes se fait en cultivant l'espèce dans des conditions de stress qui déclenchent le métabolisme secondaire. Plusieurs facteurs influencent cette production, mais afin d'avoir un maximum de rendement, il est nécessaire de mettre un pH égale à 7, une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, une faible agitation qui empêche la formation des touffes de mycélium et qui empêche sa cassure, une bonne oxygénation, un faible apport de CO_2 et une humidité élevée tout au long de la production car cette espèce est aérobie.

Ces paramètres ont été confirmés comme étant optimisateurs de la production, néanmoins l'espèce peut être encore optimisée en ajoutant dans le milieu des acides gras, une source de carbone difficile à utiliser comme le lactose qui est le meilleur substrat pour ces productions, des acides aminés comme source d'azote et des minéraux qui activent l'idiophase.

P. chrysogenum produit un grand nombre de molécules à activité antibactériennes comme la pénicilline, l'amoxicilline, les sorbicillinoïdes, la chrysogénine, la roquefortine C et la géosmine.

Certaines de ces molécules sont utilisées dans le domaine médical et pharmaceutique, comme la pénicilline, mais d'autres non à cause de leur toxicité comme la roquefortine.

La pénicilline est la première substance isolée à partir de l'espèce et industrialisée sous forme de médicaments. Elle est connue pour avoir un large spectre actif contre de nombreuses bactéries aérobies et anaérobies à Gram positif et à Gram négatif. Cet antibiotique est utilisé pour le traitement de plusieurs maladies et inflammations mortelles : la pénicilline G sert à traiter la syphilis oculaire causée par *Treponema pallidum*, les méningites pneumocoque provoqués par *Streptococcus pneumoniae* ; et la pénicilline V est très efficace dans le cas des angines aigües à Streptocoque Bêta-hémolytique du groupe A (SBHGA) et des infections d'origine dentaire.

La voie de biosynthèse de la pénicilline par *P. chrysogenum* a permis la production d'une molécule semi-synthétique qui est l'amoxicilline. Cet antibiotique est principalement utile pour le traitement des infections aiguës des poumons (les pneumonies) et le traitement de différentes maladies causées par des germes résistants à la pénicilline.

Pour la production des substances antibactériennes par *P. chrysogenum*, les chercheurs visent toujours l'optimisation de la production. Pour ce fait, ils ont d'abord commencé par utiliser les facteurs cités auparavant, puis ont amélioré encore le rendement en se servant des cultures submergées en mode continu avec l'addition des précurseurs et des coenzymes impliqués dans la biosynthèse des molécules produites.

Les dernières avancées réalisées sur la moisissure ont établi de nouvelles méthodes d'optimisation. Les plus utilisées étant les modifications génétiques impliquant les mutations comme les mutations physiques par les irradiations UV, les mutations chimiques avec l'utilisation de la nitroso-méthylguanidine ou bien par des amplifications des gènes *pcbAB*, *pcbC* et *penDE* par PCR afin d'augmenter les enzymes responsables de la production. Ces méthodes basées sur le changement du profil génétique de l'espèce avaient comme objectif de donner naissance à de nouvelles souches industrielles spécifiques à chaque molécule recherchée. Elles ont été bien contrôlées pour la production de la pénicilline, mais sont encore en cours d'étude pour la production des autres métabolites secondaires à intérêt industriel.

Références bibliographiques

A

- Abbaszadeh, S., Sharifzadeh, A., Shokri, H., Khosravi, A. R., Abbaszadeh, A. (2014). Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. *Journal de Mycologie Medicale*, 24(2), e51-e56.
- Abd El Aty, A. A., Mohamed, A. A., Zohair, M. M., & Soliman, A. A. F. (2020). Statistically controlled biogenesis of silver nano-size by *Penicillium chrysogenum* MF318506 for biomedical application. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25, 101592.
- Abdelraouf, K., Chavda, K. D., Satlin, M. J., Jenkins, S. G., Kreiswirth, B. N., Nicolau, D. P. (2020). Piperacillin tazobactam resistant/third generation cephalosporin susceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates: Resistance mechanisms and *in vitro-in vivo* discordance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(3), 105885.
- Afifi, A. F., Abo-Elmagd, H. I., Housseiny, M. M. (2014). Improvement of alkaline protease production by *Penicillium chrysogenum* NRRL 792 through physical and chemical mutation, optimization, characterization and genetic variation between mutant and wild-type strains. *Annals of Microbiology*, 64(2), 521-530.
- Aitcheikh, A., Boutaleb, N., Bahlaouan, B., Bennani, M., Lazar, S., El Antri, S. (2018). Utilisation d'un lit fixe d'origine naturelle pour le traitement biologique d'effluents laitiers. *Déchets Sciences et Techniques*, 78, 43-53.
- Ali, H., Ries, M. I., Nijland, J. G., Lankhorst, P. P., Hankemeier, T., Bovenberg, R. A., Driessen, A. J., *et al.* (2013). A branched biosynthetic pathway is involved in production of roquefortine and related compounds in *Penicillium chrysogenum*. *PloS One*, 8(6), e65328.
- Alshannaq, A., Yu, J. H. (2017). Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(6), 632.
- Alshehri, S. O., Malatani, R. T., Bogari, H. A., Noor, A. O., Ibrahim, A. K., Elhady, S. S., *et al.* (2020). LAMA-1: A Cerebroside isolated from the deep-sea-derived fungus *Penicillium chrysogenum*. *Metabolites*, 10(2), 75.

Asnaashari, M., Ghanbary, M. A. T., Tazick, Z. (2012). Optimization of penicillin G production by *Penicillium chrysogenum*. *Annals of Biological Research*, 3(12), 5434-5440.

Azizkhan, A., Shiri, G. F. (2013). Diagnostic values of clinical diagnosis of streptococcal angina compared with throat culture and determine the antibiotic susceptibility. *Iranian Journal of Pediatrics*, 23(1), 43.

B

Bajpai, R. K., Reuss, M. (1980). A mechanistic model for penicillin production. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 30(1), 332-344.

Balsalobre, L., Blanco, A., Alarcón, T. (2019). Beta lactams. *Antibiotic Drug Resistance*, 57-72.

Barker, C. I., Germovsek, E., Sharland, M. (2017). What do I need to know about penicillin antibiotics? *Archives of Disease in Childhood-Education and Practice Edition*, 102(1), 44-50.

Barreiro, C., Martín, J. F., García-Estrada, C. (2012). Proteomics shows new faces for the old penicillin producer *Penicillium chrysogenum*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 1-15.

Bellgardt, K. H. (2000). β -lactam antibiotics production with *Penicillium chrysogenum* and *Acremonium chrysogenum*. In *Bioreaction Engineering*, Ed. Springer, 391-432.

Blackwell, M. (2011). The fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species?. *American Journal of Botany*, 98(3), 426-438.

Blombach, B., Takors, R. (2015). CO₂ - Intrinsic product, essential substrate, and regulatory trigger of microbial and mammalian production processes. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 3, 108.

Böhm, J., Dahlmann, T. A., Gümüşer, H., Kück, U. (2015). A MAT1-2 wild-type strain from *Penicillium chrysogenum*: Functional mating-type locus characterization, genome sequencing and mating with an industrial penicillin-producing strain. *Molecular Microbiology*, 95(5), 859-874.

Böhm, J., Hoff, B., O’Gorman, C. M., Wolfers, S., Klix, V., Binger, D., *et al.* (2013). Sexual reproduction and mating-type mediated strain development in the penicillin-producing fungus *Penicillium chrysogenum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(4), 1476-1481.

Botha, C. J., Visagie, C. M., Sulyok, M. (2019). Putative neuromycotoxins in an adult male following ingestion of moldy walnuts. *Mycotoxin Research*, 35(1), 9-16.

Bourzama, G., Ennaghra, N., Soumati, B., Benoune, S., Atriche, N. (2019). Effect of zinc metal at high concentration on secondary metabolic pathways in *Penicillium chrysogenum* strain. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2019, 307-313.

Bringmann, G., Gulder, T. A., Lang, G., Schmitt, S., Stöhr, R., Wiese, J., Nagel, K., Imhoff, J. F. (2007). Large-scale biotechnological production of the antileukemic marine natural product sorbicillactone A. *Marine Drugs*, 5(2), 23-30.

Bush, K., Bradford, P. A. (2016). β -lactams and β -lactamase inhibitors: An overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247.

C

Canteri, H., Ghoul, M. (2015). Submerged liquid culture for production of biomass and spores of *Penicillium*. *Food Reviews International*, 31(3), 262-278.

Cazeau, G., Chazel, M., Jarrige, N., Sala, C., Calavas, D., Gay, E. (2010). Utilisation des antibiotiques par les éleveurs en filière bovine en France. *Congrès International sur la Rencontre Recherche Ruminants*, 3, 08-09.

Chandirakasan, P., Kalaiarasu, S. (2010). Studies on the effect of carbohydrates and fat compound suited to the best environment condition for the penicillin production. *Journal of Ecobiotechnology*, 2(1), 29-33.

Chen, G., Chu, J. (2019). Characterization of two polyketide synthases involved in sorbicillinoid biosynthesis by *Acremonium chrysogenum* using the CRISPR/Cas9 system. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 188(4), 1134-1144.

Chen, Y., Li, X., Yang, M., Yang, L., Han, X., Jiang, X., *et al.* (2017). High sensitive detection of penicillin G residues in milk by surface-enhanced raman scattering. *Talanta*, 167, 236-241.

Cohen, R., Raymond, J., Hees, L., Piquier, D., Grimprel, E., Levy, C. (2017). Bacterial meningitis antibiotic treatment. *Archives de Pédiatrie*, 24(12), S42-S45.

Compaore, H., Sawadogo-Lingani, H., Savadogo, A., Dianou, D., Traore, A. S. (2016). Isolement et caractérisation morphologique de moisissures productrices de substances antibactériennes à partir d'aliments locaux au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 198-210.

Corrêa, R. C. G., Rhoden, S. A., Mota, T. R., Azevedo, J. L., Pamphile, J. A., de Souza, C. G. M., *et al.* (2014). Endophytic fungi: Expanding the arsenal of industrial enzyme producers. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 41(10), 1467-1478.

Couic-Marinier, F., Pillon, F. (2017). Une angine à streptocoque β -hémolytique du groupe A. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(565), 13-15.

Cox, Jr, L. A., Popken, D. A., Mathers, J. J. (2009). Human health risk assessment of penicillin/aminopenicillin resistance in enterococci due to penicillin use in food animals. *Risk Analysis*, 29(6), 796-805.

D

Dar, G. H., Kamili, A. N., Nazir, R., Bandh, S. A., Jan, T. R., Chishti, M. Z. (2015). Enhanced production of α -amylase by *Penicillium chrysogenum* in liquid culture by modifying the process parameters. *Microbial Pathogenesis*, 88, 10-15.

de Jonge, L. P., Buijs, N. A., ten Pierick, A., Deshmukh, A., Zhao, Z., Kiel, J. A., *et al.* (2011). Scale-down of penicillin production in *Penicillium chrysogenum*. *Biotechnology Journal*, 6(8), 944-958.

de Menezes, G., Amorim, S. S., Gonçalves, V. N., Godinho, V. M., Simões, J. C., Rosa, C. A., *et al.* (2019). Diversity, distribution, and ecology of fungi in the seasonal snow of Antarctica. *Microorganisms*, 7(10), 445.

de Menezes, G., Porto, B. A., Amorim, S. S., Zani, C. L., de Almeida Alves, T. M., Junior, P., *et al.* (2020). Fungi in glacial ice of Antarctica: Diversity, distribution and bioprospecting of bioactive compounds. *Extremophiles: Life Under Extreme Conditions*, 24(3), 367-376.

de Oliveira, S. C. (2017). Model-based evolutionary operation design for batch and fed-batch antibiotic production bioprocesses. In *Statistical Approaches with Emphasis on Design of Experiments Applied to Chemical Processes*, 43-64. IntechOpen.

Devi, P., Rodrigues, C., Naik, C. G., D'souza, L. (2012). Isolation and characterization of antibacterial compound from a mangrove-endophytic fungus, *Penicillium chrysogenum* MTCC 5108. *Indian Journal of Microbiology*, 52(4), 617-623.

Ding, M. Z., Lu, H., Cheng, J. S., Chen, Y., Jiang, J., Qiao, B., *et al.* (2012). Comparative metabolomic study of *Penicillium chrysogenum* during pilot and industrial penicillin fermentations. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 168(5), 1223-1238.

Dirkmann, M., Nowack, J., Schulz, F. (2018). An *in vitro* biosynthesis of sesquiterpenes starting from acetic acid. *Chembiochem: A European Journal of Chemical Biology*, 19(20), 2146-2151.

Domínguez-Santos, R., Martín, J. F., Kosalková, K., Prieto, C., Ullán, R. V., García-Estrada, C. (2012). The regulatory factor PcRFX1 controls the expression of the three genes of β -lactam biosynthesis in *Penicillium chrysogenum*. *Fungal Genetics and Biology: FG and B*, 49(11), 866-881.

Douma, R. D., Batista, J. M., Touw, K. M., Kiel, J. A., Krikken, A. M., Zhao, Z., *et al.* (2011). Degeneration of penicillin production in ethanol-limited chemostat cultivations of *Penicillium chrysogenum*: A systems biology approach. *BMC Systems Biology*, 5(1), 132.

Douma, R. D., de Jonge, L. P., Jonker, C. T., Seifar, R. M., Heijnen, J. J., van Gulik, W. M. (2010). Intracellular metabolite determination in the presence of extracellular abundance: Application to the penicillin biosynthesis pathway in *Penicillium chrysogenum*. *Biotechnology and Bioengineering*, 107(1), 105-115.

E

Ehgartner, D., Herwig, C., Fricke, J. (2017). Morphological analysis of the filamentous fungus *Penicillium chrysogenum* using flow cytometry-the fast alternative to microscopic image analysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(20), 7675-7688.

El-Enshasy, H. A. (2007). Filamentous fungal cultures-process characteristics, products, and applications. In *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources*, Ed. Elsevier, 225-261.

El-Sabbagh, N., McNeil, B., Harvey, L. M. (2006). Dissolved carbon dioxide effects on growth, nutrient consumption, penicillin synthesis and morphology in batch cultures of *Penicillium chrysogenum*. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 185-190.

Erdal, S., Taskin, M. (2010). Uptake of textile dye reactive black-5 by *Penicillium chrysogenum* MT-6 isolated from cement-contaminated soil. *African Journal of Microbiology Research*, 4(8), 618-625.

Evans, J., Hannoodee, M., Wittler, M. (2020). Amoxicillin clavulanate. Ed. *StatPearls Publishing*.

F

Farhi, D., Dupin, N. (2008). Diagnostic sérologique de la syphilis. *Annales de Dermatologie et Venereologie*, 135(5), 418-25.

Fatima, S., Rasool, A., Sajjad, N., Bhat, E. A., Hanafiah, M. M., Mahboob, M. (2019). Analysis and evaluation of penicillin production by using soil fungi. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101330.

G

Gao, S. S., Li, X. M., Du, F. Y., Li, C. S., Proksch, P., Wang, B. G. (2011). Secondary metabolites from a marine-derived endophytic fungus *Penicillium chrysogenum* QEN-24S. *Marine Drugs*, 9(1), 59-70.

- García-Estrada, C., Martín, J. F., Cueto, L., Barreiro, C. (2020). Omics approaches applied to *Penicillium chrysogenum* and penicillin production: Revealing the secrets of improved productivity. *Genes*, 11(6), 712.
- García-Fernández, S., García-Castillo, M., Melo-Cristino, J., Pinto, M. F., Gonçalves, E., Alves, V., *et al.* (2020). *In vitro* activity of ceftolozane-tazobactam against Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* causing urinary, intra-abdominal and lower respiratory tract infections in intensive care units in Portugal: The STEP multicenter study. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 105887.
- Gaynes, R. (2017). The discovery of penicillin-new insights after more than 75 years of clinical use. *Emerging Infectious Diseases*, 23(5), 849.
- Geng, J., Yuan, J. (2010). Cybernetic modeling based on pathway analysis for *Penicillium chrysogenum* fed-batch fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 33(6), 665-674.
- Goldrick, S., Ștefan, A., Lovett, D., Montague, G., Lennox, B. (2015). The development of an industrial-scale fed-batch fermentation simulation. *Journal of Biotechnology*, 193, 70-82.
- Grimprel, E., Cohen, R. (2014). Controverses sur l'antibiothérapie des infections courantes à streptocoque du groupe A. *Archives de Pédiatrie*, 21, S107-S112.
- Guedes, S. F., Leitão, A. L. (2012). Effect of phenolic compounds and osmotic stress on the expression of penicillin biosynthetic genes from *Penicillium chrysogenum* var. *Halophenicum* strain. *Journal of Xenobiotics*, 2(1), e2-e2.
- Gui, F., Wang, H., Wang, P., Liu, H., Cai, X., Hu, Y., *et al.* (2012). The Mutation breeding and mutagenic effect of air plasma on *Penicillium chrysogenum*. *Plasma Science and Technology*, 14(4), 297-302.
- Guzmán-Chávez, F., Salo, O., Nygård, Y., Lankhorst, P. P., Bovenberg, R., Driessen, A. (2017). Mechanism and regulation of sorbicillin biosynthesis by *Penicillium chrysogenum*. *Microbial Biotechnology*, 10(4), 958-968.

Guzmán-Chávez, F., Zwahlen, R. D., Bovenberg, R. A., Driessen, A. J. (2018). Engineering of the filamentous fungus *Penicillium chrysogenum* as cell factory for natural products. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2768.

H

Hao, Z., Ho, W. S. W. (2019). Supported liquid membranes in pharmaceuticals and biotechnology. *Current Trends and Future Developments on (Bio-) Membranes*, 259–289.

Hardianto, D., Prabandari, E. E., Windriawati, L., Marwanta, E. (2015). Penicillin production by mutant of *Penicillium chrysogenum*. *Journal Bioteknologi and Biosains Indonesia (JBBI)*, 2(1), 15-19.

Harned, A. M., Volp, K. A. (2011). The sorbicillinoid family of natural products: Isolation, biosynthesis, and synthetic studies. *Natural Product Reports*, 28(11), 1790-1810.

Hayashi, S., Ohtani, S., Godo, T., Nojiri, Y., Saki, Y., Esumi, T., *et al.* (2019). Identification of geosmin biosynthetic gene in geosmin-producing colonial cyanobacteria *Coelosphaerium sp.* and isolation of geosmin non-producing *Coelosphaerium sp.* from brackish Lake Shinji in Japan. *Harmful Algae*, 84, 19-26.

Helmel, M., Marchetti-Deschmann, M., Raus, M., Posch, A. E., Herwig, C., Šebela, M., *et al.* (2015). Intact cell mass spectrometry as a progress tracking tool for batch and fed-batch fermentation processes. *Analytical Biochemistry*, 470, 25-33.

Hidalgo, P. I., Ullán, R. V., Albillos, S. M., Montero, O., Fernández-Bodega, M. Á., García-Estrada, C., *et al.* (2014). Molecular characterization of the PR-toxin gene cluster in *Penicillium roqueforti* and *Penicillium chrysogenum*: Cross talk of secondary metabolite pathways. *Fungal Genetics and Biology*, 62, 11-24.

Hofer, A., Hauer, S., Kroll, P., Fricke, J., Herwig, C. (2018). In-depth characterization of the raw material corn steep liquor and its bioavailability in bioprocesses of *Penicillium chrysogenum*. *Process Biochemistry*, 70, 20-28.

Houbraken, J., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2011). Fleming's penicillin producing strain is not *Penicillium chrysogenum* but *P. rubens*. *IMA fungus*, 2(1), 87-95.

Houbraken, J., Frisvad, J. C., Seifert, K. A., Overy, D. P., Tuthill, D. M., Valdez, J. G., *et al.* (2012). New penicillin-producing *Penicillium* species and an overview of section chrysogena. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 29, 78.

Huttner, A., Bielicki, J., Clements, M. N., Frimodt-Møller, N., Muller, A. E., Paccaud, J. P., Mouton, J. W. (2019). Oral amoxicillin and amoxicillin-clavulanate: properties, indications, and usage. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(7), 871-879.

Hymery, N., Mounier, J., Coton, E. (2018). Effect of *Penicillium roqueforti* mycotoxins on Caco-2 cells: Acute and chronic exposure. *Toxicology in Vitro*, 48, 188-194.

I

Indraningrat, A. A. G., Smidt, H., Sipkema, D. (2016). Bioprospecting sponge-associated microbes for antimicrobial compounds. *Marine Drugs*, 14(5), 87.

Ishikawa, K., Hamasuna, R., Uehara, S., Yasuda, M., Yamamoto, S., Hayami, H., *et al.* (2015). Japanese nationwide surveillance in 2011 of antibacterial susceptibility patterns of clinical isolates from complicated urinary tract infection cases. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 21(9), 623-633.

J

Jónás, Á., Fekete, E., Flipphi, M., Sándor, E., Jäger, S., Molnár, Á. P., *et al.* (2014). Extra and intracellular lactose catabolism in *Penicillium chrysogenum*: Phylogenetic and expression analysis of the putative permease and hydrolase genes. *The Journal of Antibiotics*, 67(7), 489-497.

K

Kager, J., Tuveri, A., Ulonska, S., Kroll, P., Herwig, C. (2020). Experimental verification and comparison of model predictive, PID and model inversion control in a *Penicillium chrysogenum* fed-batch process. *Process Biochemistry*, 90, 1-11.

Kahlert, L., Bassiony, E. F., Cox, R. J., Skellam, E. J. (2020). Diels-alder reactions during the biosynthesis of sorbicillinoids. *Angewandte Chemie*, 59(14), 5816-5822.

- Kalai, S., Bensoussan, M., Dantigny, P. (2014). Lag time for germination of *Penicillium chrysogenum* conidia is induced by temperature shifts. *Food Microbiology*, 42, 149-153.
- Kaminski, C., Timsit, J. F., Dubois, Y., Zahar, J. R., Garrouste-Orgeas, M., Vesin, A., *et al.* (2011). Impact of ureido/carboxypenicillin resistance on the prognosis of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Critical Care (London, England)*, 15(2), R112.
- Kang, J., Hossain, M. A., Park, H. C., Kim, Y. S., Park, S. W., Kim, T. W. (2020). Rapid determination of benzylpenicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteraemia model. *Infection and Drug Resistance*, 13, 1601-1606.
- Karakashev, S. I., Grozdanova, M. V. (2012). Foams and antifoams. *Advances in Colloid and Interface Science*, 176, 1-17.
- Kardos, N., Demain, A. L. (2011). Penicillin: The medicine with the greatest impact on therapeutic outcomes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(4), 677–687.
- Katayama, T., Nakamura, H., Zhang, Y., Pascal, A., Fujii, W., Maruyama, J. I. (2019). Forced recycling of an AMA1-Based genome-editing plasmid allows for efficient multiple gene deletion/integration in the industrial filamentous fungus *Aspergillus oryzae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(3), e01896-18.
- Khalil, N. M., Abd El-Ghany, M. N., Rodríguez-Couto, S. (2019). Antifungal and anti-mycotoxin efficacy of biogenic silver nanoparticles produced by *Fusarium chlamydosporum* and *Penicillium chrysogenum* at non-cytotoxic doses. *Chemosphere*, 218, 477-486.
- Kim, J. Y., Paton, J. C., Briles, D. E., Rhee, D. K., Pyo, S. (2015). *Streptococcus pneumoniae* induces pyroptosis through the regulation of autophagy in murine microglia. *Oncotarget*, 6(42), 44161.
- Kramer, A., Beck, H. C., Kumar, A., Kristensen, L. P., Imhoff, J. F., Labes, A. (2015). Proteomic analysis of anti-cancerous scopularide production by a marine *microascus brevicaulis* strain and its UV mutant. *PloS One*, 10(10), e0140047.
- Kumar, P. (2017). Pharmacology of specific drug groups. *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*, 7th ed. Elsevier, 457-487.

L

Lattab, N., Kalai, S., Bensoussan, M., Dantigny, P. (2012). Effect of storage conditions (relative humidity, duration, and temperature) on the germination time of *Aspergillus carbonarius* and *Penicillium chrysogenum*. *International Journal of Food Microbiology*, 160(1), 80-84.

Lewis, J. A., Anderson, N. (2018). *Penicillium* antibiotic effect. *The American Biology Teacher*, 80(7), 530-535.

Liato, V., Aïder, M. (2017). Geosmin as a source of the earthy-musty smell in fruits, vegetables and water: Origins, impact on foods and water, and review of the removing techniques. *Chemosphere*, 181, 9-18.

Lindholm-Lehto, P. C., Vielma, J. (2019). Controlling of geosmin and 2-methylisoborneol induced off-flavours in recirculating aquaculture system farmed fish—A review. *Aquaculture Research*, 50(1), 9-28.

Lopes, F. C., Tichota, D. M., Pereira, J. Q., Segalin, J., de Oliveira Rios, A., Brandelli, A. (2013). Pigment production by filamentous fungi on agro-industrial byproducts: An eco-friendly alternative. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171(3), 616-625.

Loubet, P., Burdet, C., Vindrios, W., Grall, N., Wolff, M., Yazdanpanah, Y., *et al.* (2018). Cefazolin versus anti-staphylococcal penicillins for treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteraemia: A narrative review. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(2), 125-132.

Low, B. T., Ting, Y. P., Deng, S. (2008). Surface modification of *Penicillium chrysogenum* mycelium for enhanced anionic dye removal. *Chemical Engineering Journal*, 141(1-3), 9-17.

M

Martín J. F. (2017). Key role of LaeA and velvet complex proteins on expression of β -lactam and PR-toxin genes in *Penicillium chrysogenum*: Cross-talk regulation of secondary metabolite pathways. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 44(4-5), 525-535.

- Martín J. F. (2020). Insight into the genome of diverse *Penicillium chrysogenum* strains: Specific genes, cluster duplications and DNA fragment translocations. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 3936.
- Martín, J. F., Liras, P., García-Estrada, C. (2014). Roquefortine C and related prenylated indole alkaloids. In *Biosynthesis and Molecular Genetics of Fungal Secondary Metabolites*, 111-128. Springer, New York, NY.
- Martín, J., García-Estrada, C., Rumbero, A., Recio, E., Albillos, S. M., Ullán, R. V., *et al.* (2011). Characterization of an autoinducer of penicillin biosynthesis in *Penicillium chrysogenum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(16), 5688-5696.
- Masurekar, P. (2009). Antibiotic production. *Encyclopedia of Microbiology*, 3rd ed. 174-190.
- Mathur, S., Fuchs, A., Bielicki, J., Van Den Anker, J., Sharland, M. (2018). Antibiotic use for community-acquired pneumonia in neonates and children: Who evidence review? *Paediatrics and International Child Health*, 38(1), S66-S75.
- Matta, R., Younes, H., Hanna, R., Saab, J., Abou-Khalil, R. (2019). Sulfate radicals mediated oxidation of amoxicillin: Optimization of key parameters. *Journal of Environmental Management*, 245, 375-383.
- Melo, N., Wolff, G. H., Costa-da-Silva, A. L., Arribas, R., Triana, M. F., Gugger, M., *et al.* (2020). Geosmin attracts *Aedes aegypti* mosquitoes to oviposition sites. *Current Biology*, 30(1), 127-134.
- Meng, J., Wang, X., Xu, D., Fu, X., Zhang, X., Lai, D., *et al.* (2016). Sorbicillinoids from fungi and their bioactivities. *Molecules*, 21(6), 715.
- Meng, J., Cheng, W., Heydari, H., Wang, B., Zhu, K., Konuklugil, B., *et al.* (2018). Sorbicillinoid-based metabolites from a sponge-derived fungus *Trichoderma saturnisporum*. *Marine Drugs*, 16(7), 226.
- Miller, C. A. (2008). Antifoaming in aqueous foams. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 13(3), 177-182.

Moriyama, Y., Ishikane, M., Mezaki, K., Ohmagari, N. (2020). Comparison of penicillins (penicillin G and ampicillin) and cefazolin as a definitive therapy against penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (PSSA) bacteremia in Japan: A retrospective cohort study. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 26(4), 358-362.

N

Nanguy, S. P., Perrier-Cornet, J. M., Bensoussan, M., Dantigny, P. (2010). Impact of water activity of diverse media on spore germination of *Aspergillus* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2), 273-276.

Nasution, U., van Gulik, W. M., Ras, C., Proell, A., Heijnen, J. J. (2008). A metabolome study of the steady-state relation between central metabolism, amino acid biosynthesis and penicillin production in *Penicillium chrysogenum*. *Metabolic Engineering*, 10(1), 10-23.

Nedelcuta, R. M., Baleanu, V. D., Davitoiu, D. V., Cojan, T. S. T., Pascal, A., Socea, B., *et al.* (2019). Group A Streptococcal infection-biochemical and pharmacological aspects. *Revista de Chimie*, 70(11), 3857-3859.

Newmister, S. A., Romminger, S., Schmidt, J. J., Williams, R. M., Smith, J. L., Berlinck, R., *et al.* (2018). Unveiling sequential late-stage methyltransferase reactions in the melegarin/oxaline biosynthetic pathway. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 16(35), 6450–6459.

Nicoletti, R., Trincone, A. (2016). Bioactive compounds produced by strains of *Penicillium* and *Talaromyces* of marine origin. *Mar Drugs* 14(2), 1-35.

Nielsen, J., Keasling, J. D. (2011). Synergies between synthetic biology and metabolic engineering. *Nature Biotechnology*, 29(8), 693-695.

Nijland, J. G., Ebbendorf, B., Woszczynska, M., Boer, R., Bovenberg, R. A., Driessen, A. J. (2010). Nonlinear biosynthetic gene cluster dose effect on penicillin production by *Penicillium chrysogenum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 76(21), 7109-7115.

O

Oliver, S. E., Cope, A. B., Rinsky, J. L., Williams, C., Liu, G., Hawks, S., *et al.* (2017). Increases in Ocular Syphilis—North Carolina, 2014-2015. *Clinical Infectious Diseases*, 65(10), 1676-1682.

Onyegeme-Okerenta, B. M., Okochi, V. I., Chinedu, S. N. (2013). Penicillin production by *Penicillium chrysogenum* PCL 501: Effect of UV induced mutation. *The Internet Journal of Microbiology*, 12(1), 1-9.

Ozcengiz, G., Demain, A. L. (2013). Recent advances in the biosynthesis of penicillins, cephalosporins and clavams and its regulation. *Biotechnology Advances*, 31(2), 287-311.

Özkale, E. (2020). Biotechnologically relevant filamentous fungi obtained by the system 'clustered regularly interspaced short palindromic repeats and associated proteins'. *Zeugma Biological Science*, 1(2), 1-8.

P

Pagano, M. C., Dhar, P. P. (2015). Fungal pigments: An overview. *Fungal Biomolecules: Sources, Applications and Recent Developments*, Ed. Gupta, V. K., Mach, R. L., Sreenivasaprasad, S., 173-181.

Parameswari, S., Sivasankari, S. (2018). Execution of enriched rice bran medium in hyper production of penicillin V by *Penicillium chrysogenum*. *Waste and Biomass Valorization*, 9(9), 1559-1565.

Park, H. S., Jun, S. C., Han, K. H., Hong, S. B., Yu, J. H. (2017). Diversity, application, and synthetic biology of industrially important *Aspergillus* Fungi. *Advances in Applied Microbiology*, 100, 161-202.

Parussolo, G., Bernardi, A. O., Garcia, M. V., Stefanello, A., dos Santos Silva, T., Copetti, M. V. (2019). Fungi in air, raw materials and surface of dry fermented sausage produced in Brazil. *LWT*, 108, 190-198.

Peeling, R. W., Mabey, D., Kamb, M. L., Chen, X. S., Radolf, J. D., Benzaken, A. S. (2017). Syphilis. *Nature Reviews. Disease Primers*, 3, 17073.

Petri Jr, W. A. (2011). Penicillins, cephalosporins, and other β -lactam antibiotics. *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, 12th Ed. McGraw-Hill, 1477-1504.

Phuengmaung, P., Sunagawa, Y., Makino, Y., Kusumoto, T., Handa, S., Sukhumsirichart, W. T., *et al.* (2019). Identification and characterization of ferulic acid esterase from *Penicillium chrysogenum* 31B: De-esterification of ferulic acid decorated with l-arabinofuranoses and d-galactopyranoses in sugar beet pectin. *Enzyme and Microbial Technology*, 131, 109380.

Pitt, J. I. (2014). Penicillium | Penicillium and Talaromyces: *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2nd Ed. Elsevier, 3, 6-13.

Pitt, J. I., Hocking, A. D. (2009). *Penicillium* and related genera. In: *Fungi and Food Spoilage*, Ed. Springer, 169-273.

Polli, F., Meijrink, B., Bovenberg, R., Driessen, A. (2016). New promoters for strain engineering of *Penicillium chrysogenum*. *Fungal Genetics and Biology: FG and B*, 89, 62-71.

Pond, E. D., El-Bailey, S., Webster, D. (2015). An unusual case of meningitis. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 26(3), e62-e64.

Posch, A. E., Spadiut, O., Herwig, C. (2012). Switching industrial production processes from complex to defined media: Method development and case study using the example of *Penicillium chrysogenum*. *Microbial Cell Factories*, 11(1), 88.

Press, N. J., Joly, E., Ertl, P. (2019). Natural product drug delivery: A special challenge?. *Progress in Medicinal Chemistry*, 58, 157-187.

Q

Quintanilla, D., Hagemann, T., Hansen, K., Gernaey, K. V. (2015). Fungal morphology in industrial enzyme production-modelling and monitoring. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 149, 29-54.

Quo, C. F., Kaddi, C., Phan, J. H., Zollanvari, A., Xu, M., Wang, M. D., *et al.* (2012). Reverse engineering biomolecular systems using-omic data: Challenges, progress and opportunities. *Briefings in Bioinformatics*, 13(4), 430-445.

R

Rahman, S. U., Rasool, M. H., Rafi, M. (2012). Penicillin production by wild isolates of *Penicillium chrysogenum* in Pakistan. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(2), 476-481.

Ramesh, C., Vinithkumar, N. V., Kirubakaran, R., Venil, C. K., Dufossé, L. (2019). Multifaceted applications of microbial pigments: Current knowledge, challenges and future directions for public health implications. *Microorganisms*, 7(7), 186.

Ramzan, R., Safiullah Virk, M., Muhammad, Z., Ahmed, A., Yuan, X., Chen, F. (2019). Genetic modification of *mfsT* gene stimulating the putative penicillin production in *Monascus ruber* M7 and exhibiting the sensitivity towards precursor amino acids of penicillin pathway. *Microorganisms*, 7(10), 390.

Rehman, S. U., Yang, L. J., Zhang, Y. H., Wu, J. S., Shi, T., Haider, W., *et al.* (2020). Sorbicillinoid derivatives from sponge-derived fungus *Trichoderma reesei* (HN-2016-018). *Frontiers in Microbiology*, 11, 1334.

Roy, J. (2011). The top five most common or long-selling drugs. *An Introduction to Pharmaceutical Sciences*, 231-296.

Roy, M., Roy, A. K., Farrell, J. J. (2020). Ocular syphilis in an immunocompetent host. *IDCases*, 19, e00684.

S

Sacco, M. D., Kroeck, K. G., Kemp, M. T., Zhang, X., Andrews, L. D., Chen, Y. (2019). Influence of the α -methoxy group on the reaction of temocillin with *Pseudomonas aeruginosa* PBP3 and CTX-M-14 β -lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(1), e01473-19.

- Salah, N. S., Muhsen, T. A., Risan, M. H. (2020). Antifungal activity of silver nanoparticles using *Penicillium Chrysogenum* extract against the formation of biofilm for *Candida Glabrata*. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 14(2), 306.
- Salo, O., Guzmán-Chávez, F., Ries, M. I., Lankhorst, P. P., Bovenberg, R. A., Vreeken, R. J., *et al.* (2016). Identification of a polyketide synthase involved in sorbicillin biosynthesis by *Penicillium chrysogenum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(13), 3971-3978.
- Sarkar, D. (2014). A study on optimization of *Penicillium chrysogenum* culture media in solid state fermentation process for pectinase enzyme production. *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*, 5(11), 3966-3971.
- Schmitz, K., Peter, V., Meinert, S., Kornfeld, G., Hardiman, T., Wiechert, W., *et al.* (2013). Simultaneous utilization of glucose and gluconate in *Penicillium chrysogenum* during overflow metabolism. *Biotechnology and Bioengineering*, 110(12), 3235-3243.
- Sharara, S. L., Amoah, J., Pana, Z. D., Simner, P. J., Cosgrove, S. E., Tamma, P. D. (2020). Is piperacillin-tazobactam effective for the treatment of pyelonephritis caused by extended-spectrum β -lactamase-producing organisms?. *Clinical Infectious Diseases*, 1-21.
- Sharland, M., Pulcini, C., Harbarth, S., Zeng, M., Gandra, S., Mathur, S., *et al.* (2018). Classifying antibiotics in the who essential medicines list for optimal use be aware. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(1), 18-20.
- Shcherbinin, D. S., Rubtsova, M. Y., Grigorenko, V. G., Uporov, I. V., Veselovsky, A. V., Egorov, A. M. (2016). Investigation the role of mutations M182T and Q39K in structure of beta-lactamase TEM-72 by molecular dynamics method. *Biomeditsinskaja Khimiia*, 62(5), 527-534.
- Sib, A., Milzarek, T. M., Herrmann, A., Oubraham, L., Müller, J. I., Pichlmair, A., *et al.* (2020). Chemoenzymatic total synthesis of sorbicatechol structural analogues and evaluation of their antiviral potential. *ChemBioChem Communication*, 21(4), 492-495.
- Sigl, C., Haas, H., Specht, T., Pfaller, K., Kürnsteiner, H., Zadra, I. (2011). Among developmental regulators, StuA but not BrlA is essential for penicillin V production in *Penicillium chrysogenum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(3), 972-982.

Sikandar, A., Zhang, M., Wang, Y., Zhu, X., Liu, X., Fan, H., *et al.* (2020). Mycochemical screening and analysis, antioxidant activity, and biochemical composition of fermentation strain Snef1216 (*Penicillium chrysogenum*). *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 3073906.

Skariyachan, S., Acharya, A. B., Subramaniyan, S., Babu, S., Kulkarni, S., Narayanappa, R. (2016). Secondary metabolites extracted from marine sponge associated *Comamonas testosteroni* and *Citrobacter freundii* as potential antimicrobials against MDR pathogens and hypothetical leads for VP40 matrix protein of Ebola virus: An *in vitro* and *in silico* investigation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 34(9), 1865-1883.

Soliman, A. M., Abdel-Latif, W., Shehata, I. H., Fouda, A., Abdo, A. M., Ahmed, Y. M. (2020). Green approach to overcome the resistance pattern of *Candida spp.* using biosynthesized silver nanoparticles fabricated by *Penicillium chrysogenum* F9. *Biological Trace Element Research*, 1-12.

Sonderegger, C., Galgóczy, L., Garrigues, S., Fizil, Á., Borics, A., Manzanares, P., *et al.* (2016). A *Penicillium chrysogenum*-based expression system for the production of small, cysteine-rich antifungal proteins for structural and functional analyses. *Microbial Cell Factories*, 15(1), 1-14.

Stanbury, P. F., Whitaker, A., Hall, S. J. (2017). Media for industrial fermentations. *In Principles of Fermentation Technology*, 3rd ed. Sciences Direct, 213-272.

Sun, X., Su, X. (2019). Harnessing the knowledge of protein secretion for enhanced protein production in filamentous fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(4), 54.

T

Tattevin, P. (2015). Pneumonies communautaires : Épidémiologie, clinique, traitement. *Journal des Anti-Infectieux*, 17(1), 20–24.

V

Van Bambeke, F., Lambert, D., Mingeot-Leclercq, M. P., Tulkens, P. M. (1999). Anti-infective therapy: Mechanisms of action. In: *D. Armstrong and J. Cohen, Infectious Diseases*, Ed. Mosby.

Van Den Berg, M., Gidijala, L., Kiela, J., Bovenberg, R., Vander Keli, I. (2010). Biosynthesis of active pharmaceuticals: β -lactam biosynthesis in filamentous fungi. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 27, 1-32.

Vasanthakumar, A., DeAraujo, A., Mazurek, J., Schilling, M., Mitchell, R. (2015). Pyomelanin production in *Penicillium chrysogenum* is stimulated by L-tyrosine. *Microbiology*, 161(6), 1211–1218.

Veiga, T., Solis-Escalante, D., Romagnoli, G., ten Pierick, A., Hanemaaijer, M., Deshmukh, A., *et al.* (2012). Resolving phenylalanine metabolism sheds light on natural synthesis of penicillin G in *Penicillium chrysogenum*. *Eukaryotic Cell*, 11(2), 238-249.

Veiter, L., Herwig, C. (2019). The filamentous fungus *Penicillium chrysogenum* analysed via flow cytometry—a fast and statistically sound insight into morphology and viability. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(16), 6725-6735.

Veiter, L., Kager, J., Herwig, C. (2020). Optimal process design space to ensure maximum viability and productivity in *Penicillium chrysogenum* pellets during fed-batch cultivations through morphological and physiological control. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 1-14.

Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., *et al.* (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78, 343-371.

Vu, T. X., Vu, H. H., Nguyen, G. T., Vu, H. T., Mai, L. T. D., Pham, D. N., *et al.* (2019). A newly constructed Agrobacterium-mediated transformation system revealed the influence of nitrogen sources on the function of the LaeA regulator in *Penicillium chrysogenum*. *Fungal Biology*, 123(11), 830-842.

W

Wang, F. Q., Zhong, J., Zhao, Y., Xiao, J., Liu, J., Dai, M., *et al.* (2014). Genome sequencing of high-penicillin producing industrial strain of *Penicillium chrysogenum*. In *BMC Genomics*, 15(1), 1-12.

Weber, S. S., Bovenberg, R. A., Driessen, A. J. (2012). Biosynthetic concepts for the production of β -lactam antibiotics in *Penicillium chrysogenum*. *Biotechnology Journal*, 7(2), 225-236.

Weber, S. S., Polli, F., Boer, R., Bovenberg, R. A., Driessen, A. J. (2012). Increased penicillin production in *Penicillium chrysogenum* production strains via balanced over expression of isopenicillin N acyltransferase. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(19), 7107-7113.

Wong, S. S., Yuen, K. Y. (2012). *Streptococcus pyogenes* and re-emergence of scarlet fever as a public health problem. *Emerging Microbes and Infections*, 1(1), 1-10.

Wong, V. L., Ellison, C. E., Eisen, M. B., Pachter, L., Brem, R. B. (2014). Structural variation among wild and industrial strains of *Penicillium chrysogenum*. *PloS One*, 9(5), e96784.

Wösten H. (2019). Filamentous fungi for the production of enzymes, chemicals and materials. *Current Opinion in Biotechnology*, 59, 65-70.

Wu, M., Crismaru, C. G., Salo, O., Bovenberg, R., Driessen, A. (2020). Impact of classical strain improvement of *Penicillium rubens* on amino acid metabolism during β -lactam production. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(3), e01561-19.

X

Xia, M. C., Bao, P., Liu, A. J., Zhang, S. S., Peng, T. J., Shen, L., *et al.* (2018). Isolation and identification of *Penicillium chrysogenum* strain Y5 and its copper extraction characterization from waste printed circuit boards. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(1), 78-87.

Y

Yadav, A. N., Verma, P., Kumar, V., Sangwan, P., Mishra, S., Panjiar, N., *et al.* (2018). Biodiversity of the genus *Penicillium* in different habitats. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Ed. Elsevier, 3-18.

Yang, X., Guo, P., Li, M., Li, H., Hu, Z., Liu, X., Zhang, Q. (2020). Optimization of culture conditions for amoxicillin degrading bacteria screened from pig manure. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(6), 1973.

Yao, Y., Li, J., Jiang, C. S., Zhao, X. X., Miao, Z. H., Liu, H. T., *et al.* (2015). Trichodimerol and sorbicillin induced apoptosis of HL-60 cells is mediated by reactive oxygen species. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(6), 394-398.

Yuan, J., Liu, Y., Geng, J. (2010). Stoichiometric balance based macrokinetic model for *Penicillium chrysogenum* in fed-batch fermentation. *Process Biochemistry*, 45(4), 542-548.

Z

Zareshahi, F., Abolmaali, S.H., Darvish Alipour Astaneh, S.H., Asghari, A. (2020). Isolating sorbicillin producing fungi from darband cave and evaluating the sorbicillin biomedical applications. *Studies in Fungi*, 5(1), 103–112.

Zhang, H., Sang, Q. (2015). Production and extraction optimization of xylanase and β -mannanase by *Penicillium chrysogenum* QML-2 and primary application in saccharification of corn cob. *Biochemical Engineering Journal*, 97, 101-110.

Ziemons, S., Koutsantas, K., Becker, K., Dahlmann, T., Kück, U. (2017). Penicillin production in industrial strain *Penicillium chrysogenum* P2niaD18 is not dependent on the copy number of biosynthesis genes. *BMC Biotechnology*, 17(1), 16.

Membres du Jury :

Présidente : Dr. S. AMIRA

Promotrice : Dr. S. AKROUM

Examinatrice : Mme N. BENHAMADA

Réalisé par :

M^{elle} Hosna BOULAROUK

M^{elle} Siham MENHANE

M^{elle} Rania BOUILOUTA

La production des substances antibactériennes par *Penicillium chrysogenum*

Résumé :

Penicillium chrysogenum est une moisissure très utilisée pour les productions industrielles. Ceci est dû à sa grande production des substances à intérêts thérapeutiques, notamment celles à activité antibactérienne. Parmi ces dernières, nous pouvons citer la pénicilline, l'amoxicilline, les sorbicillinoïdes, la chrysogénine, etc.

La biosynthèse de ces métabolites se fait lors de l'idiophase. Pour les productions industrielles, il est donc important de fournir à la moisissure les facteurs nécessaires qui permettent l'enclenchement du métabolisme secondaire. Les recherches menées sur cette espèce montrent que les facteurs de croissances et la constitution du milieu de culture jouent un rôle important dans l'optimisation de la production. De même que les modifications génétiques, dont principalement les mutations, les insertions et les amplifications géniques représentent une voie d'avenir pour créer de nouvelles souches purement industrielles qui seraient plus performantes.

Mots clés : *P. chrysogenum*, substances à activité antibactérienne, intérêt thérapeutique, mode d'action, production, optimisation.

Abstract :

Penicillium chrysogenum is a mold widely used for industrial production. This is due to its large production of substances with therapeutic interest, especially those with antibacterial activity. These include penicillin, amoxicillin, sorbicillinoids, chrysogenin, etc.

The biosynthesis of these metabolites occurs during the idiophase. For industrial production, it is therefore important to provide mold with the necessary factors that allow secondary metabolism to start. Research on this species show that the growth factors and the constitution of the culture medium play an important role in optimizing production. As well as genetic modifications, mainly mutations, insertions and gene amplifications, represent a way forward to create new purely industrial strains that would be must performing.

Keywords :

P. chrysogenum, substances with an antibacterial activity, therapeutic interest, mode of action, production, optimization.

المخلص :

Penicillium chrysogenum هو عفن يستخدم في الإنتاج الصناعي و يرجع هذا إلى إنتاجه الكبير من المواد ذات الأهمية العلاجية، وخاصة التي تحتوي على أنشطة مضادة للبكتيريا. وتشمل هذه المواد البنسلين (Pénicilline) ، الأموكسيسيلين (Amoxicilline)، السوربيسيلين (Sorbicilline) و الكريزوجينين (Chrysogénine) إلخ.

يتم إجراء عملية التخليق الحيوي (Biosynthèse) لهذه المواد خلال طور الثبات أو ما يسمى بطور الإنتاج (Idiophase). ومن المهم بالنسبة للإنتاج الصناعي توفر عوامل ضرورية تسمح بانطلاق عملية الأيض الثانوي. وقد أظهرت البحوث التي أجريت بشأن هذا النوع أن عوامل النمو وتكوين الوسط المغذي تلعب دوراً هاماً في تحقيق أقصى قدر من الإنتاج. فضلاً عن التعديلات الجينية، تمثل الطفرات والإضافات وتكثير الجينات في الأساس، وسيلة للمضي قدماً في خلق سلالات صناعية بحتة من شأنها أن تؤدي إلى نتائج أفضل.

الكلمات المفتاحية : *P. chrysogenum* ، المواد المضادة للبكتيريا، الغرض العلاجي، طريقة العمل، الإنتاج، التحسين.