



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi- Tébessa -

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

Département : des Sciences de la Nature de la vie

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie Moléculaire

Option : Microbiologie Appliquée à la santé et à l'Environnement

Thème:

**Recherche de l'activité antibactérienne
chez différents isolats des
d'actinomycètes**

Présenté par

Melle :

Abdelmalek Faouzia

Melle :

Aidoudi Samira

Mme:

Menai Sonia

Devant le Jury:

Dr . Smaali .S

Dr . Benhadj .M

Dr. Menasria.T

Dr. Toumi .N

M.C.B Université de Tébessa

M.C.B Université de Tébessa

M.C.B Université de Tébessa

M.C.B Université de Tébessa

Présidente

Promotrice

Co-promoteur

Examinatrice

Date de soutenance : 27Juin 2020

الملخص

إن التطور المستمر لمقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية و ظهور أمراض معدية جديدة هذا ما يبرر ضرورة البحث عن جزيئات المضادات الحيوية الجديدة .

الهدف من هذا العمل في سياق تسليط الضوء على قدرة les actinomycètes لتصنيع جزيئات مضادة للبكتيريا و أخرى مضادة للفطريات ضد كائنات حية أخرى للفحص.

من أجل هذا تم اختيار سلالات des actinomycètes من مجموعة بمخبر عنابة يتم فحصها ضد 10 أنواع بكتيرية (*Staphylococcus aureus* BT1, *Staphylococcus aureus* BT2, *Micrococcus* BT3, *Escherichia coli* BT4, *Salmonell a*BT5, *Klebseilla sp* BT6, *Bacillus* BT7 ; *Staphylococcus aureus* sarm BT8, *Escherichia coli* BT9, *Pseudomonas*BT10).

يتم إجراء اختبار النشاط المضاد للبكتيريا بطريقة قرص أجار. ظهرت النتائج أن سلالات معينة من Actinomycete لها نشاط مضاد للجراثيم. من بين هذه السلالات النشطة ، تعتبر السلالات S170 و S158 و S368 أكثر السلالات نشاطاً.

في نهاية هذا العمل ، تمكنا من إظهار قدرة كبيرة من عزلات Actinomycete.

الكلمات المفتاحية: الأكتينومييسيتات ، النشاط المضاد للبكتيريا ، Streptomyces ، الجزيئات الحيوية .

Abstract

The constant evolution of bacterial resistance to antibiotics and the emergence of new infectious diseases justify the urgency of having new antimicrobial molecules.

The objective of this work is part of the demonstration of the ability of Actinomycetes to produce antibacterial molecules against test microorganisms.

For this, five strains of Actinomycetes are tested against ten bacteria (Staphylococcus aureus BT1, Staphylococcus aureus BT2, Micrococcus BT3, Escherichia coli BT4, Salmonella BT5, Klebsiella sp BT6, Bacillus BT7; Staphylococcus aureus sarm BT8, Escherichia coli BT9, Pseudomonas BT10).

The antibacterial activity test is carried out by the agar disc method. Results show that certain strains of Actinomycete have antibacterial activity. Among these active strains, strains S170, S158 and S368 considered to be the most active strains.

At the end of this work, we were able to demonstrate a large capacity of Actinomycete isolates.

Keywords: Actinomycetes, antibacterial activity, Streptomyces, biomolecules,

Résumé

L'évolution constante de la résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses justifient l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. L'objectif de ce travail s'inscrit dans le cadre de la mise en évidence de l'aptitude des Actinomycètes à produire des molécules antibactériennes contre des microorganismes-tests.

Pour cela, cinq souches d'Actinomycètes sont testées contre dix bactéries (*Staphylococcus aureus* BT1, *Staphylococcus aureus* BT2, *Micrococcus* BT3, *Escherichia coli* BT4, *Salmonella* BT5, *Klebsiella sp* BT6, *Bacillus* BT7 ; *Staphylococcus aureus* sarm BT8, *Escherichia coli* BT9, *Pseudomonas*BT10).

Le test d'activité antibactérienne est réalisé par la méthode des disques d'agar. Les résultats montrent que certaines souches d'Actinomycète ont une activité antibactérienne. Parmi ces souches actifs, les souches S170 ,S158 et S368 considérés comme les souches plus actifs.

A l'issue de ce travail on a pu mettre en évidence une large capacité des isolats d'Actinomycètes.

Mots clés : Actinomycètes, activité antibactérienne, *Streptomyces*, biomolécules,

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions ALLAH pour tous les bienfaits qu'il nous a accordés et pour le courage qu'il nous a attribué afin de compléter ce travail et pour la force qu'il nous a donnée afin de passer devant tous les obstacles que nous avons rencontrés.

*L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par **Mme Benhadj Mabrouka**, maître-assistant à la faculté des sciences de la Nature et de la vie, Université Tébessa. Nous tenons vivement à lui exprimer notre profonde gratitude pour nous avoir données la possibilité de réaliser ce travail sous sa supervision et pour le temps qu'elle nous a consacré, sa patience, ses précieux conseils, son soutien tout le long de la réalisation de notre mémoire ainsi que pour sa gentillesse, sa bienveillance et ses qualités profondément humaines qui ont été remarquables.*

Nos remerciements vont aussi à

*Notre présidente **Mme Smaali.S** de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce travail.*

*Notre examinatrice **Mme Toumi.N** d'avoir ménagé son temps pour examiner et évaluer notre travail.*

Tous les enseignants de microbiologie qui nous ont fait former.

***Melle CHahra** la technicienne de laboratoire de microbiologie pour leur Aide et leur gentillesse.*

Tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour la finalisation de ce travail.

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut..... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, la reconnaissance. Aussi, c'est tout simplement que Je dédie ce modeste travail

*A deux personnes les plus chers au monde **mes parents**, qui m'ont donné beaucoup de soutien et d'encouragement, symbolisant pour moi le sacrifice et la source d'où naît la lumière qui éclaire ma vie, et pour qui aucune dédicace ne m'exprime la profondeur de mon amour.*

*A mes chères sœurs :**Sabrine , Djahida , Saida, Ilhem***

*Et mon frère **Abdou***

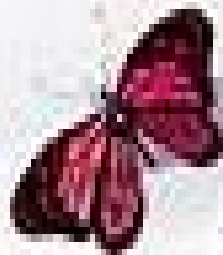
Pour leurs véritables et sincères amours, je les souhaite une vie pleine de succès avec beaucoup de bonheur.

A une personne qui est loin de mes yeux près de moi toute la proximité, tous les remerciements et la gratitude et la promesse de me tenir à mes côtés dans les moments les plus difficiles qui m'ont passé, bien que votre soutien ait toujours été une force pour moi de continuer ce travail.

A tous mes amies mes sœur sans exception

Sans oublier mes braves Amies de la promotion de microbiologie Master II.

Faouzia



Dédicace

Avant tout, nos sincères remerciements reviennent à Allah le tout
puissant pour tous ses dons.

Je dédie ce modeste travail

A ma très chère mère :

*Tu es l'exemple de sacrifice qui n'a pas cessé de m'encourager et de
prier pour moi : puisse ALLAH, le tout puissant, te préserver et
t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

A mon très cher père rabi yarhmo.

A mes chères sœurs: Hanane, Wahiba ,Alima, Rachida.

*A mes amis proches, particulièrement: Lobna , Takwa, Halima, Sara,
Wasimma ,Fouzia*

A mes camarades du département.

Samira

Dédicace

Je dédie ce travail :

A l'âme de mon très cher père,

A ma très chère mère,

A toute ma famille,

A mes amis

SONIA

N°	Table de matière	page
	ملخص	
	Abstract	
	Résumé	
	Remerciement	
	Dédicace	
	Liste des tableaux	
	Liste des planches	
	Liste des figures	
	Liste des abréviations	
	Introduction	
Partie bibliographique		
Chapitre I : les Actinomycètes		
I	Historique	03
II	Définition et principaux caractéristiques	04
II.1	Définition	04
II.2	Les principales caractéristiques	04
III	Morphologie	05
IV	Ecologie	08
V	Taxonomie et identification	12
V.1	Les critères morphologiques	13
V.2	Critères chimio taxonomique	14
V.3	Critères moléculaire	16
VI	Classification	17
VII	Culture et morphologie	18
VIII	Cycle de développement	18
IX	Importance des actinomycètes	19
Chapitre II : les molécules bioactives produite par les Actinomycètes		
II	les Métabolites secondaires produits par les actinomycètes	21

II.1	Définition	21
II.2	Les antibiotiques	21
II.2.1	Définition	21
II.2.2	Historique	21
II.2.3	Notions générales	22
II.2.3.2	Propriétés	22
II.2.3.3	La résistance bactérienne aux antibiotiques	24
II.2.3.3	Mécanismes de l'antibiorésistance	26
II. 3	La production des Antibiotiques	29
II .3.1	Antibiotiques sécrétés par les actinomycètes	29
	Partie expérimentale	
I	Objectif	32
II	Cadre de l'étude	32
III	Matériels utilisés	33
III.1	Matériels non-biologique	33
III.1.1	Grands matériels	33
III.1.2	Petits matériels	33
III.2	Matériels biologiques	34
III.2.1	Les actinomycètes	34
III.2.2	Les germes cibles	34
III.3	Milieus de cultures	35
III.4	Les solutions et colorants utilisés	35
IV	Méthode de travail	35
V.1	Origines des souches	35
IV .2	Repiquage et purification des isolats d'actinomycètes	35
IV.3	Mise en évidences de l'activité microbienne des souches d'actinomycète	35
IV .3.1	Culture des bactéries cibles	35
V	Résultat et discussion	37
V.1	Repiquage et purification des isolats d'actinomycètes	37
V.2	Recherche de l'activité antimicrobienne des Actinomycètes	38
V.2.1	Test d'activités antibactériennes	38
	conclusion	
	Référence bibliographique	
	Les annexes	

Liste des tableaux :

N°	Titre de tableau	page
01	les résidus de végétaux de compost et des produits alimentaires(kumaret <i>al.</i> ,2003).	09
02	Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol(Lechevalier et Lechevalier, 1967).	10
03	Profils des sucres cellulaires totaux des Actinobacteria,(Lechevallier et Lechevallier, 1970).	15
04	Caractéristiques chimiotaxonomiques et morphologiques des principaux groupes génériques d'actinomycètes(Prescott <i>et al.</i> , 2003).	16
05	la division dans la Classe <i>Actinobacteria</i> (Metrouh R , 2017)	18
06	les codes des souches d'actinomycètes	34
07	Caractéristiques des souches bactériennes tests.	34
08	l'inoculum prélevé de chaque bactéries	36
09	Résultats de repiquage et vérification de la pureté des isolats.	37
10	résultats de teste antibactérienne	40

Liste des planches :

N°	Le titre de planche	page
01	Photos représentant les caractères culturaux de quelques isolats sur le milieu ISP2	38
02	Photos représentatives des quelque zones d'inhibition due à l'activité antibactérienne de la souche S170 dans différentes milieux	45
03	Des courbes cinétiques représentent les diamètres des zones inhibitrices de la souche S170 contre différentes bactéries dans des différents jours	46
04	Photos représentatives des quelque zones d'inhibition due à l'activité antibactérienne des souches S158 , S130,S97 et S368 dans des différentes milieux	48
05	Des courbes cinétiques représentent les diamètres des zones inhibitrices des souches S158, S368, S130 et S97 contre différentes bactéries dans des différentes jours.	49

Liste des figures :

N°	Titre de figure	Page
01	une colonie d'actinomycètes la coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec Des hyphes vivants (bleu-vert) et morts (blanc) la figure montre le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospore (Prescott &al, 2010).	05
02	Clichés de microscopie électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre <i>Nocardia</i> qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre <i>Streptomyces</i> en sporulation. Barre d'échelle : 1 µm (Belyagoubi , 2014).	06
03	Représentation schématique et clichés de microscopie électronique à balayage (Belyagoubi ,2014).	07
04	Morphologies rencontrées au cours de cultures liquides (Amanullah et al., 2000).	08
05	Classification phylogénétique des Actinobacteria, basée sur les séquences du gène codant d'ARNr 16S (Zhi, 2009).	17
06	représentation schématique du cycle de vie de sporulation des actinomycètes (Ait Baraka et al., 2016)	18
07	Les modes d'action des antibiotiques (Laura Gonzalez, 2018).	24
08	Les modes d'action des antibiotiques (Laura Gonzalez, 2018).	29
09	Secteur angulaire de la répartition de production des antibiotiques entre les microorganismes (Berdy, 2005)	30

Liste d'abréviation

GYEA: Gélose Yeast extracts Agar.

ISP: International Streptomyces Project.

J: jour

LB:LaureatBertani.

MA:mycéliumaérien.

MH : Mueller Hinton

Mm : millimètre.

MS:Mycélium de substrat.

S : souche

Bt : bactérie

E.coli* :Escherichia coli*

SARM :*staphylococcus aureus* résistant à la méthyciline

ARNr : Acide Ribonucléiques Ribosomaux

introduction

Depuis les temps les plus reculés, l'Homme a utilisé des micro-organismes pour préparer des boissons, des aliments, des vêtements, bien que l'existence de ceux-ci n'ait été reconnue étudiée au XIXe siècle.

Au siècle dernier, les micro-organismes, à mesure de leur découverte, se sont révélés à l'homme surtout comme ses pires ennemis, menaçant sa santé, son alimentation, ses biens. Ils le demeurent dès lors qu'existent des défaillances humaines d'hygiène, de prévention. Avec le progrès de connaissance, il paraît que les micro-organismes peuvent aider l'homme en agriculture, dans l'environnement, dans les industries. Des réalisations telles que la biosynthèse de substances à visé thérapeutique antibiotiques,...) ou des vaccins antiviraux, révolutionnent certains traitements en médecine.

Les métabolites secondaires produits par les microorganismes représentent une large source de composés d'une diversité structurale très vaste et des milliers d'entre eux sont doués d'un potentiel d'activité biologique très important. En pratique, il est prouvé que la capacité de produire différents composés est limitée à des groupes de microorganismes eucaryotes et de bactéries en particulier les actinomycètes filamenteux.

Les actinomycètes, très ubiquitaires, sont rencontrées sur tous les substrats naturels. Ils jouent un rôle dans la décomposition des matériaux biologiques et dans le processus d'humification. Leur nombre dans la microflore tellurique dépend de la nature, la profondeur, le pH, l'humidité et l'aération (Larpen et Sanglier, 1989).

C'est en 1949, après la découverte de l'actinomycine, que ces bactéries sont devenues l'objet de nombreuses recherches et elles sont extrêmement exploitées durant les années 80, en conséquence, de nouvelles structures et surtout celles des antibiotiques sont continuellement isolées à partir de ce groupe de bactérie. Ainsi, ces bactéries sont devenues les premiers fournisseurs de ces métabolites secondaires d'intérêt (Donadio et al., 2002).

Les Streptomyces sont les meilleurs candidats pour la production des métabolites secondaires biologiquement actifs. En effet, ce genre bactérien est à l'origine d'environ 70% des molécules antibiotiques utilisées en médecine et 60% des antifongiques utilisés en agriculture (Sujatha et al., 2005), (Smaoui 2010).

Afin de mettre en évidence, éventuellement, de nouvelles molécules actives vis-à-vis d'un certains nombre de microorganismes choisis pour leur caractères pathogène pour, l'étude a également, porté sur des souches faisant partie de la collection de souches du laboratoire de microbiologie de l'université de la willaya de Tébessa .

La première partie du travail (bibliographique) fait état des connaissances existantes sur le monde de l'infiniment petit d'actinomycètes de leurs capacités à produire des substances

biologiquement actives. Vous y trouverez dans un premier temps les informations générales liées aux actinomycètes: L'écologie, la taxonomie, l'importance et leurs propriétés biologiques

Ainsi qu'un aperçu sur les antibiotiques et d'autres métabolites secondaires synthétisés par les actinomycètes.

La deuxième partie (expérimentale) regroupe l'ensemble des techniques et méthodologies utilisées.

La troisième partie porte sur les résultats et la discussion, suivi par une conclusion générale.

Partie Bibliographique

Chapitre 01

les actinomycètes

// Historique

L'histoire des actinomycètes peut être divisée en 5 grandes périodes.

- **La première période** qui va de 1877 à 1890 environ, a été nommée « période médicale » du fait que l'intérêt porté à ces microorganismes était dû presque exclusivement aux propriétés pathogènes qu'on leur attribuait (Baldacci, 1962). La seconde période (1900-1940) (Mariat et Sebald, 1990) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de (Rossi-Doria, 1890-91, Gasparini, 1891-94, Krainsky, 1914, Waksman, 1919, Lieske, 1921, Orskov, 1925, Jensen, 1931-33 et Krassinikov, 1938). Elle couvre la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des actinomycètes et les premières tentatives pour distinguer deux groupes les pathogènes et les saprophytes.

- **L'époque suivante** est celle de la découverte des antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle commence en 1940 et le nom de Waksman lui est indiscutablement lié avec la découverte, en 1944, de la streptomycine produite par *Streptomyces griseus* (Le minor, 1989 ; Sanglier et Trujillo, 1997). Cette période a résulté en un accroissement brusque du nombre d'espèces décrites (Baldacci, 1962).

- **Ainsi**, la période suivante 1940- 1970 peut être définie comme une période de développement de critères morphologiques et biochimiques pour la classification des actinomycètes, en parallèle avec la meilleure compréhension de la physiologie de ces bactéries de leur intérêt pour la production de métabolites secondaires et leur potentialité de biodégradation de composés organiques.

- **Enfin**, depuis les années 1960, l'essor des méthodes de génétique, initiées par Hopwood (Chater, 1999 ; Hopwood, 1973) puis de génomique (Hopwood, 2003) a révolutionné la classification des espèces (Ventura, 2007) puis les méthodes de découverte de métabolites secondaires (Donadio, 2002) et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes.

II/ Définition et principaux caractéristiques

II.1. Définition

Étymologiquement, le mot actinomycète a été dérivé des mots grecs « Aktis » qui veut dire rayon et « mykes » qui veut dire champignon. Les Actinomycètes ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactérie et champignons. Maintenant, ils sont reconnus comme des organismes procaryotes (Andriambololona, 2010). Les actinomycètes constituent l'ordre des Actinomycetales (Mariat et Sebald, 1990) regroupe les genres *Streptomyces*, *Frankia*, *Actinomyces* et *Nocardia* qui comprennent des bactéries filamenteuses dont la morphologie ressemble à première vue à celle des mycètes filamenteux : c'est pourquoi on les appelle de manière informelle *actinomycètes*. Cependant les filaments des actinomycètes sont en réalité constitués de cellules procaryotes dont le diamètre est beaucoup plus petit que celui des cellules eucaryotes des moisissures (Tortora et al., 2012). Les véritables *Actinobacteria*, également connus sous le nom d'actinomycètes, sont des microorganismes à coloration de Gram positive. Ils ont un type de croissance mycélien (les cellules produisent des filaments et des ramifications) rappelant celui des champignons filamenteux. Un des premiers organismes étudiés dans ce groupe est le genre *Actinomyces* qui a donné son nom au groupe (Perry et al., 2004).

II.2. Les principales caractéristiques

Les actinomycètes (sing. Actinomycètes) sont un grand groupe de bactéries aérobies, à pourcentage G-C élevé, Gram-positives qui forment des filaments ramifiés ou des hyphes et des spores asexuées. Ces bactéries ressemblent étroitement aux champignons dans leur morphologie globale.

- La plupart sont saprophytes, aérobie, neutrophiles et utilise une variété de sources d'énergie ce qui permet de les caractériser comme chimioorganotrophes mais certains sont des chimioautotrophes (Mariat et Sebald, 1990 ; Enseigne et al, 1993), les actinomycètes anaérobies sont des microorganismes à Gram positif se présentent sous la forme de filaments en branche (Ripert, 2013).
- Caractérisés par une croissance lente et souvent par une production importante d'antibiotiques. Plusieurs d'entre eux produisent des spores non mobiles (*Streptosporangium*).
- Leur morphologie est variée entre les différents genres deux formes cocci comme *Micrococcus*, bâtonnets (*Mycobacterium*) et polymorphes (*Nocardia*) jusqu'aux filaments ramifiés qui se décomposent en cellules sphériques ou qui donnent un mycélium aérien avec de longues chaînes de spores. Ce sont des micro-organismes essentiellement telluriques qui sont distribués largement dans des écosystèmes naturels (Erikson, 1949).

- La plupart des actinomycètes sont non immobiles (Djaballah ,2010), la mobilité est présente chez les spores libérés par les sporanges et qui sont flagellés caractéristique présentes chez les actinoplanes (Benouagueni ,2015).

- le temps de génération moyenne est environ 2 à 3 heures. (Messoudi ,2013).

La composition de la paroi cellulaire des actinomycètes varie considérablement d'un groupe à l'autre et revêt une importance taxonomique considérable. Quatre principaux types de parois cellulaires se distinguent dans ces bactéries filamenteuses sur la base des trois caractéristiques de la composition et de la structure des peptidoglycanes. Ces caractéristiques sont (i) l'isomère d'acide diaminopimélique sur la position 3 de la chaîne latérale du térapeptide, (ii) la teneur en sucre du peptidoglycane et (iii) la présence de glycine dans les ponts interpeptidiques. Comme cela est évident dans, les profils de sucre caractéristiques sont présents uniquement dans les types de parois cellulaires II-IV de ces actinomycètes avec de l'acide mésodiaminopimélique (Mukesh Sharma , Pinki Dangi et *al* ,2014) .

La petite sous unité 16S codant pour les ARN ribosomique des actinomycètes est utilisée pour classer les espèces (séquençage nucléotidique des gènes de l'ARNr 16S) (Ripert,2013).

➤ jouent un rôle essentiel dans le recyclage des biomatériaux réfractaires en décomposant des mélanges complexes de polymères dans les plantes mortes, les animaux et les matières fongiques (Mukesh Sharma et *al.*,2014) .

III/La morphologie

La morphologie des actinomycètes ressemble fortement à celle des mycètes, le diamètre des hyphes, habituellement de 0,5 à 1 μm (Eunice, 1983), est deux à dix fois plus petit que celui des champignons (de 2 à 5 μm) (Gottlieb, 1973).

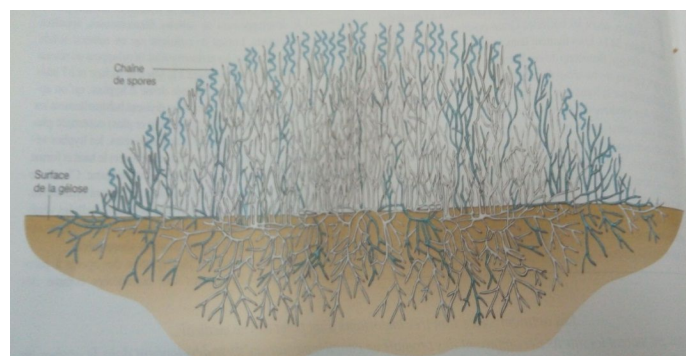
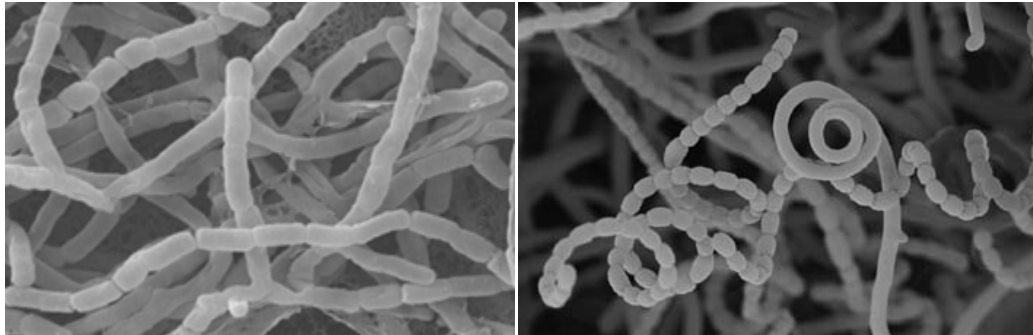


Figure01 : une colonie d'actinomycètes la coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec Des hyphes vivants (bleu-vert) et morts (blanc) la figure montre le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospore (Prescott &*al*, 2010).

Le mycélium des actinomycètes présente une grande diversité de morphologies. On rencontre (i) des espèces dont le mycélium est rudimentaire au point d'être inexistant (la plupart des

Mycobacterium), (ii) d'autres au mycélium fugace, qui se fragmente (certaines *Nocardia*), et enfin (iii) des espèces au mycélium développé et persistant comme dans le genre *Streptomyces* (Belyagoubi , 2014) Les mycéliums fragmentaire et permanent sont illustrés sur la figure02.



Nocardia

Streptomyces

Figure02: Clichés de microscopie électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre *Nocardia* qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre *Streptomyces* en sporulation. Barre d'échelle : 1 µm (Belyagoubi , 2014).

Le mycélium permanent peut être organisé en mycélium végétatif (appelé aussi mycélium de substrat ou mycélium de base) et/ou en mycélium aérien. On distingue trois cas :

- Soit seul le mycélium végétatif est formé (exemple : *Frankia*, *Dactylosporangium*). La croissance a lieu soit au sein, soit à la surface du milieu. Le mycélium est coénocytique : il renferme un cytoplasme commun multi-nucléoïde, et est donc dépourvu de septum.
- Soit il y a formation de mycélium végétatif puis de mycélium aérien mûri en conidies (exemple *Streptomyces*). Le mycélium aérien croît à la surface du mycélium végétatif et utilise ce dernier comme substrat.
- Soit, seul le mycélium aérien est formé, ce qui n'est rencontré que pour le genre *Sporichthya*, dont les hyphes du mycélium aérien sont attachées au substratum par des crampons (Djaballah , 2010).

La plupart des actinomycètes sont immobiles. Cependant, certains produisent des spores flagellées, appelées zoospores, permettant leur dispersion dans les habitats aquatiques. Les spores d'actinomycètes présentent une grande variété d'arrangements. Les spores peuvent être produites isolément (*Micromonospora*), deux à deux longitudinalement (*Microbispora*), en courtes chaînettes (*Actinomadura*), en longues chaînettes (*Streptomyces*). Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales. Elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores. On rencontre également une importante diversité au niveau de la surface des spores : lisse, ridée, avec piquants ou d'aspect velu.

Chez certains genres, les spores sont contenues dans un sporange : compartiment qui se développe à l'extrémité d'une hyphe spécial appelé sporangiophore. Les sporanges contiennent quelques à plusieurs milliers de spores, formant des chaînes enroulées ou parallèles (Belyagoubi, 2014).

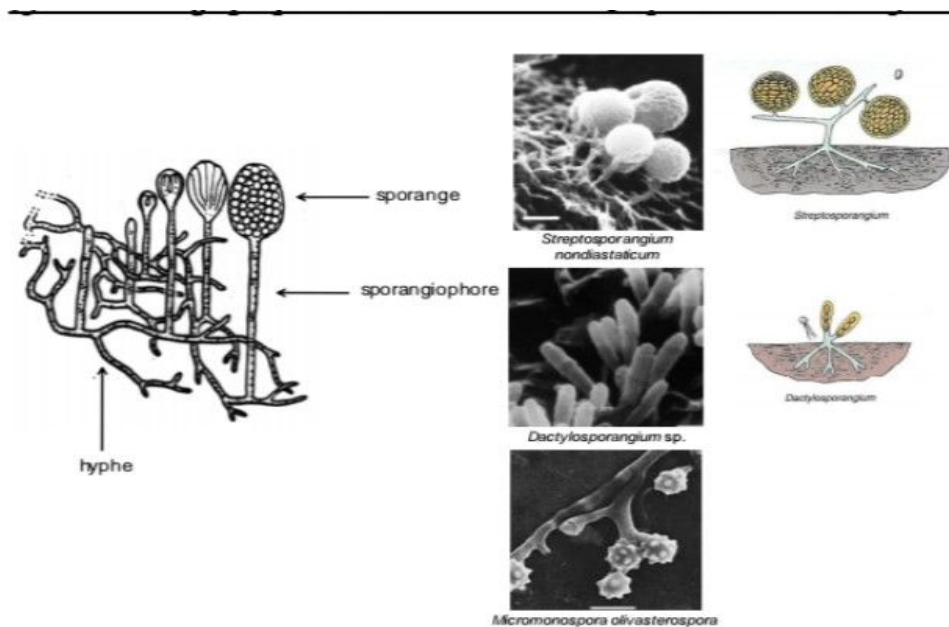
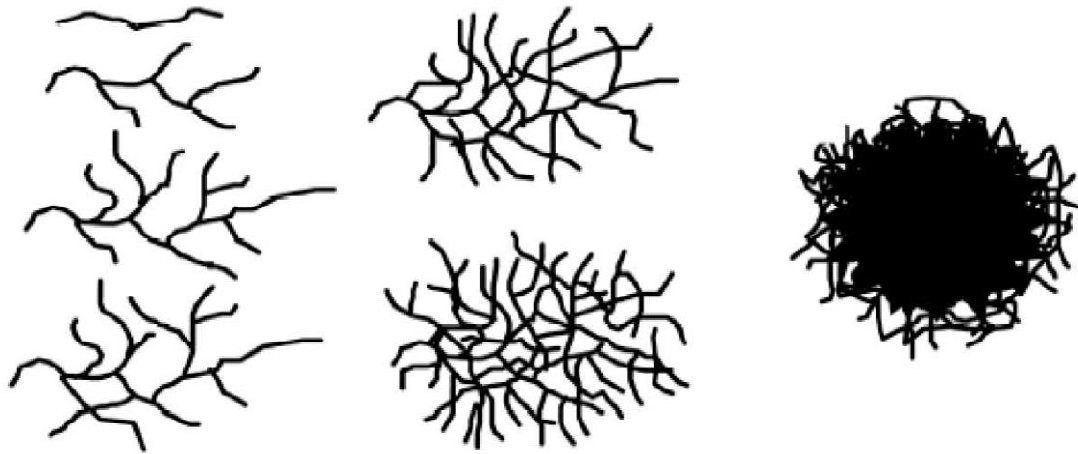


Figure 03.: Représentation schématique et clichés de microscopie électronique à balayage (Belyagoubi, 2014).

montrant différents sporanges d'actinomycètes, les colonies formées sur milieu solide par les actinomycètes sont très particulières. Elles résultent de l'accumulation des hyphes ramifiés et non pas de cellules comme c'est le cas chez les bactéries non filamenteuses. Le diamètre des colonies est variable de 1 à 10 mm. L'aspect des colonies peut être compact, sec, lisse, rugueux à contours lisse ou échancrés. Les colonies sont souvent pigmentées (blanc, crème, jaune, violet, rose, gris,etc (Perry et al., 2004). En culture liquide sans agitation, les hyphes formés après la germination des spores montent en surface pour croître en contact de l'air (Keulen et al., 2003). Cependant, en milieu liquide avec agitation, il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. Les *Streptomyces* forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'entremêlent pour former des agrégats. Ces derniers, généralement sphériques sont composés d'une masse dense d'hyphes enroulés. Les cellules du centre étant privées de nutriment, les agrégats grossissent seulement par la formation de cellules à la surface de la sphère (Reichl et al., 1992; Tamura et al., 1997).



Mycélium libre

Enchevêtrements

Pelote

Figure04. Morphologies rencontrées au cours de cultures liquides (Amanullah et *al.*, 2000).

Enfin, il existe d'autres structures morphologiques plus atypiques. Certains actinomycètes forment des structures particulières qui ne correspondent ni au mycélium ni aux spores et dont la fonction n'est pas toujours définie. Ainsi les **sclérotés** trouvés chez *Chainia* sont constitués par une masse d'hyphes cloisonnés dont les vacuoles sont chargées de triglycérides et d'acides gras ramifiés. Les **Synnemata**, appelés également **corémies** sont des assemblages compacts d'hyphes dressés, parfois fusionnés et portant des conidies apicales ou latérales. Cette structure est caractéristique du genre *Actinosynnema*.

Des vésicules appelés **sporanges**, contenant des spores. Ils peuvent être rencontrés sur le mycélium aérien bien développé ou sur la surface de colonies dépourvues ou ayant un mycélium aérien peu développé. Ils sont présents chez les *Frankia* et les *Dactylosporangium* (Theilleux, 1993). Les **conidies** sont des spores asexuées qui peuvent avoir plusieurs organisations :

- une seule conidie tel que le genre *Micromonospora* .
- une paire de conidies chez le genre *Microbispora* .
- chaînes courtes de conidies formées d'un nombre inférieur ou égale à 20 spores par chaîne .
- longues chaînes de conidies formées d'un nombre plus de 20 spores par chaîne.
- conidies rassemblées dans des synnemata (spores mobiles et qui peuvent être libérées).

IV/Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature

Les actinomycètes sont un groupe de bactéries omniprésent qui se produisent dans la multiplicité d'environnement naturel et synthétique. Ils se trouvent dans différentes niches tels que le sol, l'air, l'eau douce, les océans et sur une variété de matériel comme l'engrais, les résidus de végétaux de compost et des produits alimentaires (**Tableau1.**) (kumar et *al.*,2003).

Tableau 01. : les résidus de végétaux de compost et des produits alimentaires (kumaret *al.*, 2003).

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

4.1. Les actinomycètes de sol

Le sol est le milieu naturel pour les interactions biologiques, pour la végétation et comme habitat pour la faune. Le sol a un rôle majeur dans la détermination de la qualité globale de notre environnement en ce qui abritent de multitude produits chimiques ; organiques ; et inorganiques libérés par les êtres humains soit intentionnellement comme dans le cas de produits chimiques agricoles ou accidentellement. L'environnement du sol est dominé par une phase solide composée de minéraux inorganiques, les plantes, les animaux et les résidus microbiens dans divers stades de décomposition, et une salle de microbiote et de métabolisation (Stotzky, 1986). Le sol héberge de divers genres de micro-organismes. Les actinomycètes sont moins dominants que des bactéries et plus importants que des champignons. Les actinomycètes composent habituellement à 10-50% de la communauté microbienne totale déterminée par la méthode d'électrodéposition dans la terre vierge et cultivée. Leur nombre varie considérablement dans différents types de sol s'étendant de 10⁵ à 10⁶ g dans des zones tempérées. Un nombre peu élevé d'actinomycète a été enregistré dans la région de l'Antarctique, dans les tourbes acides et les sédiments des différentes eaux. Leur présence est maximum dans les couches supérieures du sol, il diminue avec la profondeur. Dans le sol sec alcalin leur abondance relative est haute. Les actinomycètes les plus abondants dans le sol sont les espèces de *Streptomyces* qui peuvent former plus de 2/3 des colonies sur des plaques de dilution, les *Nocardia sp* représentent jusqu'à un tiers et les *Micromonospora* atteignent les 5% (Alexander,

1961 ; Lechevalier et Lechevalier, 1967) ont isolé 5000 actinomycètes issus de 16 sols différents. Plus de 95% étaient des *Streptomyces*.

Tableau 02 : Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol (Lechevalier et Lechevalier, 1967).

Genre	Pourcentage
<i>Streptomyces</i>	95,34
<i>Nocardia</i>	1,98
<i>Micromonospora</i>	1,4
<i>Thermomonospora</i>	0,22
<i>Actinoplanes</i>	0,20
<i>Microbispora</i>	0,18
<i>Mycobacterium</i>	0,14
<i>Streptosporangium</i>	0,10
<i>Actinomadura</i>	0,10
<i>Micropolyspora</i>	0,10
<i>Pseudonocardia</i>	0,06
<i>Microellobosporia</i>	0,04

Les cendres volcaniques et les rizières sont les types de sols propres Japon. Les actinomycètes étaient nombreux ($80 \times 10^5 \text{g}^{-1}$) dans le sol cultivé de cendre volcanique de montagne et moins dans les rizières ($26 \times 10^5 \text{g}^{-1}$). Ils étaient moins dans les sols vierges que dans le sol cultivé. (Kumar et al., 2003).

4.2. Actinomycètes dans les sols de rhizosphères de plantes

La majorité des actinomycètes sont trouvés dans divers types de sols tels que les champs agricoles, les forêts tropicales et les grottes naturelles (Gomes et al., 2000; Nakaew et al., 2009). Certains des actinomycètes sont distribués dans les parties rhizosphériques du sol. Le terme de rhizosphère, tout d'abord utilisé par Martin et Kemp (Hiltner, 1904) et défini comme une zone du sol qui entoure les racines des plants. La densité de ces derniers est plus élevée dans cette zone que dans les sols dépourvus de racines (sols en vrac) (Lynch, 1990). Cette différence est liée à la sécrétion des petits composés organiques par les racines sous forme d'exsudats qui fournissent la nutrition et les sources d'énergie pour la croissance microbienne (Soderberg et Baath, 1998). On sait depuis longtemps que les exsudats contiennent des acides organiques, des acides aminés, des acides gras, des vitamines et des monomères des glucides ; la composition et la quantité des exsudats racinaires varie selon les espèces végétales et les conditions abiotiques tels que de la température et l'humidité de sol (Martin et Kemp, 1980). Cette flore microbienne de la rhizosphère comprend principalement les bactéries, les champignons et les actinomycètes. Les interactions entre les microorganismes procaryotes et les racines des plantes peuvent avoir des effets bénéfiques,

nuisibles ou neutres sur la plante en fonction du type d'interaction symbiote et les conditions de sol (Smith et Read, 1997).

4.3. Les actinomycètes du compost et matériel relatif

Les microbes mésophiles y compris les actinomycètes effectuent la décomposition des substrats riches en nutriments et créent une température plus élevée qui fournissent des conditions idéales pour la croissance rapide des actinomycètes thermophiles. *Thermoactinomyces*, *Saccharomonospora*, *Micropolyspora*, *Pseudonocardia* et *Streptomyces* sp, *Thermonospora* ont été isolés à partir de tels substrats auto-chauffée. Les espèces de *Thermonospora* se développent particulièrement bien pendant la deuxième phase de préparation d'engrais pour la culture de champignon tandis que les *Streptomyces diastaticus* et *Thermoactinomyces vulgaris* prédominent dans le compost cuit à la vapeur et sa poussière. (Kumar et al. ,2003).

4.4. Les actinomycètes de l'air

Les actinomycètes peuvent être démontrés dans l'air par l'utilisation de méthodes de piégeage et d'échantillonnage appropriés. La diffusion aéroportée est principalement liée à la quantité de la poussière à laquelle les spores et le fragment mycélien s'accrochent. N'importe quelle action qui touche le sol sec de la terre jachère, telle que les premières gouttes de pluie, lance des particules de sol dans l'air, produit une augmentation du nombre de *Streptomyces* aéroportés. (Kumar et al.,2003).

4.5. Les actinomycètes aquatiques

4.5.1. Les actinomycètes des eaux douces

Des actinomycètes sont largement distribués dans un environnement aquatique, mais cela ne prouve pas qu'ils fassent partie de la flore microbienne indigène.. Les genres des actinomycètes qui sont fréquents dans l'eau douce incluent *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *streptomyces* de *Rhodococcus* et *Thermoactinomyces* (Williams et al, 1983). les actinomycètes sont généralement plus nombreux dans les courants et les rivières que dans les lacs et les réservoirs. *Streptomyces* et *Micromonospora* sont généralement plus en mousse dans l'eau de la rivière et c'est peut-être à cause de la concentration de spores hydrophobes et les hyphes de l'interface de l'eau et l'air. Les actinomycètes rendent l'eau potable désagréable en développant le goût et les odeurs terreux ou moisi. La chimie et la distribution des composés volatils ont été sondés par (Gerber,1979) ont conclu que la géosmine , le trans-1, 10 diméthyl-9-trans decal et méthyl iso-bornéol se produisent fréquemment.

4.5.2 .Les actinomycètes marins

Certaines souches d'actinomycètes ont été retrouvées dans des environnements marins (Singh et al., 2006 et Imada et al., 2007), dans des sédiments situés à plus de 4000 m de profondeur (Khattabi et al., 2002). Ils sont présents dans les fonds fluviaux ou lacustres. La colonisation normale du milieu marin est un point controversé, selon les uns, il existerait une flore d'actinomycètes spécifique aux sédiments marins caractérisée par sa barotolérance, son halophilie et une température optimale faible ; selon d'autres, les actinomycètes isolés de ces milieux correspondraient à des souches terricoles adaptées à la salinité marine (Larpen et Sanglier, 1989). Les actinomycètes sont également présents dans les lacs extrêmement alcalins, les lacs salés, en revanche il semblerait qu'ils sont absents dans les eaux minières très acides (pH <1) et les sources thermales très chaudes d'origine volcaniques (Lechevalier, 1981).

V/.Taxonomie et identification

La taxonomie des actinobactéries est basée sur un ensemble de caractères morphologiques, physiologiques, chimio taxonomiques et génomiques. L'ensemble des caractéristiques de chaque taxon bactérien est répertorié dans le Manuel de Bergey, un ouvrage de référence pour la taxonomie des bactéries, dont le plus récent comprend un volume en deux parties dédié aux *Actinobacteria* (Goodfellow et al., 2012). Jusqu'à ces dernières années, Les actinomycètes appartiennent au règne des procaryotes, à la division des Firmicutes et à la classe des Thalobacteria, contenant l'ordre des Actinomycetales (Larpen, 2000), qui à lui seul regroupe environ 45 familles et près de 290 genres (Kämpfer, 2010 ; Stanier, 1966), subdivise les actinomycètes en quatre familles

-Famille des Mycobacteriacees

Ce sont des actinomycètes dont la morphologie est la plus voisine de celle des bactéries, le mycélium formé en début de développement se rompt rapidement pour libérer des bâtonnets ramifiés ou irréguliers. Les Mycobactériacées présentent des affinités marquées avec les *Corynebacteriaceas* et les bactéries lactiques. Ils se différencient des autres bactéries et actinomycètes, à l'exception de certains *Nocardia*, par leur acido-résistance. Cette famille est représentée par le seul genre *Mycobacterium* qui comprend des espèces pathogènes dont la plus connue est *Mycobacterium tuberculosis*, agent de la tuberculose (Stanier, 1966).

-Famille des Actinomycetaceas (proactinomycètes)

Cette famille représentée par les genres *Nocardia* et *Actinomyces* occupe une position intermédiaire entre les *Mycobacteriaceas* caractérisées par une structure bactérienne et les *Streptomycetaceas* caractérisées par une structure pseudo mycélienne. Elle diffère des *Mycobacteriaceas* par sa croissance presque entièrement mycélienne avec toutefois une tendance

variable à la segmentation, elle diffère des *Streptomycetaceas* par l'absence de conidies (Stanier, 1966).

-Famille des Streptomycetaceas .

Cette famille est caractérisée par une structure mycélienne. Le genre *Streptomyces* est très répandu dans le sol où il représente souvent 70 à 90 % des actinomycètes. Il se distingue des *Nocardia* par leur mycélium végétatif persistant quelque soit le stade de développement et une reproduction par des conidies en chaîne. Les colonies de *Streptomyces* comprennent un mycélium végétatif très serré, implanté dans le milieu et un mycélium aérien, plus lâche d'aspect poudreux, formé d'hyphes terminés par des conidies en chaînes. Le genre *Micromonospora* est caractérisé par un développement faible ou nul du mycélium aérien : les conidies isolées ou en grappes sont portées directement par le mycélium végétatif. Les différentes espèces pour la plupart thermophiles, se développent surtout dans les fumiers et les composts (Stanier, 1966).

-Famille des Actinoplanaceas

Les espèces appartenant à cette famille ont un cycle qui présente un stade mobile (sporangiospores mobiles), le genre *Actinoplane* est aquatique (Stanier, 1966).

5.1. Critères morphologiques

Les critères morphologiques font appel aux caractéristiques culturelles sur différents milieux de culture et aux caractéristiques morphologiques (Shirling et Gottlieb, 1966). Il s'agit alors de noter :

- La présence ou l'absence de mycélium aérien (MA).
- La couleur du MA et du mycélium de substrat (MS).
- La production et la couleur des pigments diffusibles.
- La production ou non de pigments mélanoïdes.

Les couleurs sont souvent déterminées grâce à l'utilisation d'une charte de couleur. Les colonies formées sur milieu solide par les actinomycètes sont très particulières. Elles résultent de l'accumulation des hyphes ramifiés et non pas de cellules comme c'est le cas chez les bactéries non filamenteuses. Le diamètre des colonies est variable de 1 à 10 mm. L'aspect des colonies peut être compact, sec, lisse, rugueux à contours lisse ou échancrés. Les colonies sont souvent pigmentées (blanc, crème, jaune, violet, rose, gris, etc. ...) (Perry et al., 2004). Les colonies formées sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- Colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
- Colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
- Colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

-Mycélium aérien

Le mycélium aérien est habituellement plus épais que le mycélium de substrat, il montre une différenciation suffisante selon laquelle plusieurs isolats peuvent être séparés en un certain nombre de groupes ayant des caractéristiques morphologiques similaires dans des conditions bien précises. Ceci est désigné comme l'un des critères les plus importants pour la classification du genre *Streptomyces* en espèces, comprenant une structure (cotonnier veloutée ou en poudre), une formation d'anneaux ou de zones concentriques et de pigmentation.

-Mycélium de substrat

Le mycélium de substrat d'actinomycètes a différentes tailles, formes et épaisseurs. Sa couleur varie du blanc ou pratiquement incolore à jaune, marron, rouge, rose, orange, vert ou noir. D'autre part, les critères micromorphologiques importants des actinomycètes selon Bouras (2006) et Boudjella (2007), sont les suivants :

- la fragmentation ou non du MS.
- la formation de spores exogènes sur le MA et/ou sur le MS, leur forme, leur taille et leur agencement (isolées, en chaînes) ; la présence ou non de sporophores, la surface des spores (lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue).
- la présence ou non de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges le nombre de spores par sporange ainsi que la longueur des sporangiophores.
- la présence de spores mobiles (ex : *Planomonospora*, *Actinoplanes*) ou non mobiles (ex : *Streptomyces*, *Streptosporangium*, ainsi que de nombreux autres genres.)

5.2. Critères chimio-taxonomiques

Les études menées par Cummins et Harris (1956), Roman et Nickerson (1956) et Hoare et Worke (1957) rapportées par (Becker *et al.*, 1965) ont établi que les actinomycètes avaient une paroi cellulaire de composition très proche de celle des bactéries à Gram positif et ont également indiqué que la composition chimique de la paroi cellulaire pourrait fournir des méthodes pratiques afin de différencier les genres d'actinomycètes.

-Les acides aminés

La paroi cellulaire des actinomycètes est composée soit d'une :

- Glycoprotéine contenant de la lysine, ce type de paroi est rencontré chez les formes fermentatives, habitants naturels des cavités de l'homme et des animaux, illustrées par le genre *Actinomyces*.
- Glycoprotéine contenant le plus souvent l'acide LL- 2,6 diaminopimélique (DAP), ce type de paroi se rencontre chez les formes oxydatives retrouvées essentiellement dans le sol, tel que les

Streptomyces. La glycine est également présente en quantité importante chez les *Streptomyces* et les *Actinoplanes* (Larpen et Sanglier, 1989).

-Les sucres

La présence ou l'absence de quatre sucres (arabinose, galactose, xylose et madurose) dans les hydrolysats acides de cellules entières permet de classer les actinomycètes de type pariétal II, III et IV contenant du méso-DAP. Sur cette même base, il est aussi possible de répartir en deux sous-groupes les actinomycètes de type pariétal III selon la présence ou l'absence de Madurose. (Becker *et al.*, 1965), (Yamaguchi, 1965) et (Le chevalier et Le chevalier, 1970 b), divisèrent les actinomycètes en huit chimio types sur la base de l'analyse des acides aminés pariétaux et des sucres cellulaires, et dont les plus importants sont :

L'arabinose (Ara.), le galactose (Gal.), le xylose (Xyl.), le madurose (Mad.) et le rhamnose(Rha).

Tableau 03. Profils des sucres cellulaires totaux des Actinobacteria, (Lechevallier et Lechevallier, 1970).

Type de composition en sucres cellulaires	Sucres caractéristiques	Genres représentatifs
A	Arabinose, galactose	<i>Nocardia</i> , <i>Rhodococcus</i> , <i>Saccharomonospora</i>
B	Madurose	<i>Actinomadura</i> <i>Streptosporangium</i> <i>Dermaphilus</i>
C	Aucun	<i>Thermomonospora</i> , <i>Actinosynnema</i>
D	Arabinose, xylose	<i>Micromonospora</i> , <i>Actinoplanes</i>

Les critères morphologiques, fonctionnels et chimiotaxonomiques des actinomycètes ont permis de constituer différents groupes génériques présentant des caractéristiques bien distinctes (Holt *et al.*, 2000), résumés dans le tableau.

Tableau 04 : Caractéristiques chimiotaxonomiques et morphologiques des principaux groupes génériques d'actinomycètes (Prescott *et al.*, 2003).

Groupe générique	Type de paroi (peptidoglycane)	Type de composition en sucres cellulaires	Disposition des spores	Présence de sporanges	Genres représentatifs
Actinomycètes nocardioformes	I, IV	A	Variable	Non	<i>Nocardia</i> , <i>Thodococcus</i> , <i>Nocardioides</i> , <i>Saccharomonospora</i>
Actinomycètes à sporanges à loges multiples	III	B, C, D	Amas de spores	Habituellement	<i>Geodermatophilus</i> , <i>Dermatophilus</i> , <i>Frankia</i>
<i>Actinoplanes</i>	II	D	Variable	Habituellement	<i>Actinoplanes</i> , <i>Pilimelia</i> , <i>Dactulosporangium</i> , <i>Micromonospora</i>
Streptomyces et genres apparentés	I	Sans valeur taxonomique	Chaînes de 5 à plus de 50 spores	Non	<i>Streptomyces</i> , <i>Sporichthya</i>
Maduromycètes	III	B, C	Variable	Oui ou non	<i>Actinomadura</i> , <i>Microbispora</i> , <i>Planomonospora</i> , <i>Streptosporangium</i>
Thermomonospora et genres apparentés	III	C (parfois B)	Variable	Non	<i>Thermomonospora</i> , <i>Actinosynnemata</i> , <i>Nocardioopsis</i>

5.3. Critères moléculaires

Des techniques moléculaires plus récentes basées sur la PCR et l'étude de l'ARN ribosomiaux 16S, pas seulement pour les actinomycètes ; avec le nombre croissant des nouvelles espèces émergentes, et dans le besoin urgent de les classifier, l'étude de la séquence de l'ARNr16S, sa comparaison après alignement avec celles déjà connues et la construction d'un arbre qui met en évidence la distance phylogénétiques entre les espèces s'avère être une technique plus rapide et plus fiable (Prescott, 2010).

S'ajoute à cela, la détection des génomes similaires avec les techniques d'hybridation ADN-ADN des souches plus proches avec celle étudiée en se basant sur la complémentarité de leurs séquences. Un pourcentage élevé ou égale à 97 % considère deux souches comme appartenant à la même espèce (Madigan *et al.*, 2011).

VI. Classification

Les Actinomycètes appartiennent au règne des Procaryotes, à la division des *Firmicutes* et à la classe des *Thalobacteria*, contenant l'ordre des *Actinomycetales* (Larpen, 2000).

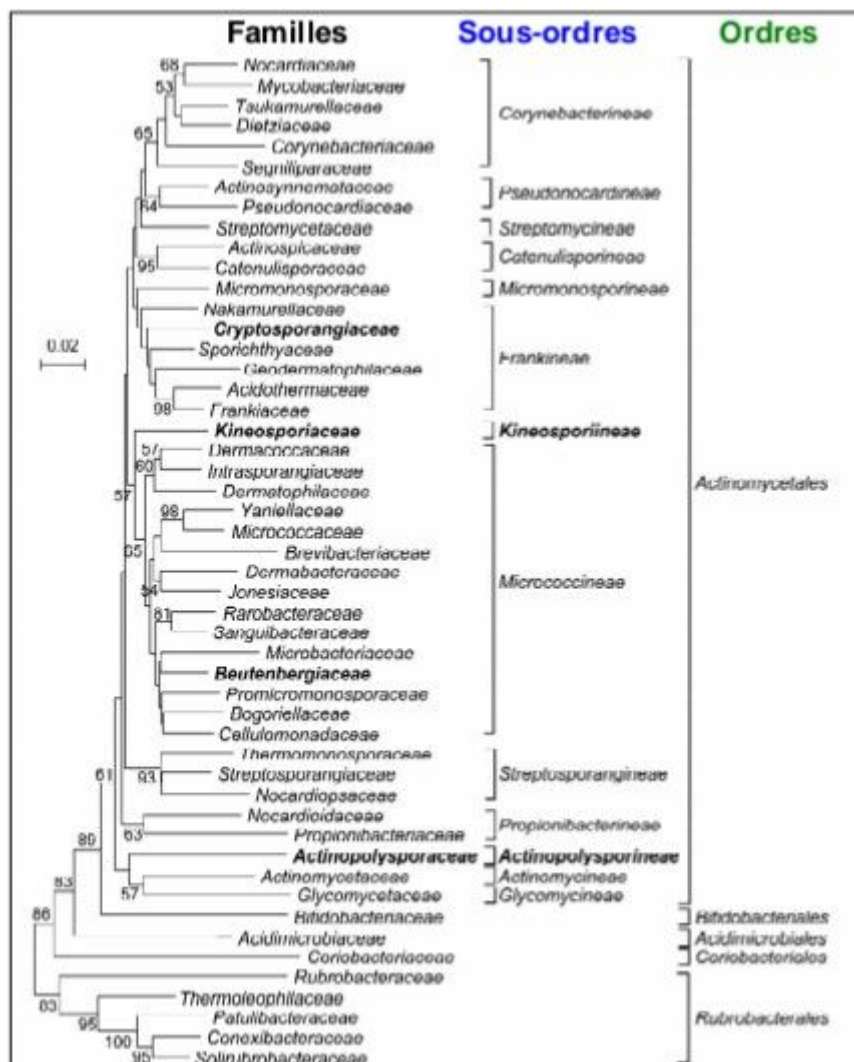


Figure04. Classification phylogénétique des Actinobacteria, basée sur les séquences du gène codant d'ARNr 16S (Zhi, 2009).

La classe des *Actinobacteria* se présente comme suit : 5 sous-Classes, 5 Ordres ,4 Familles (**Tableau 05**) (Ratiba, 2015).

Tableau05: la division dans la Classe *Actinobacteria* (Metrouh , 2017)

Sous-classe	Ordre	Famille
<i>Acidimicrobidae</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	<i>Acidimicrobiaceae</i>
<i>Rubrobacteridae</i>	<i>Rubrobactérales</i>	<i>Rubrobacteraceae</i>
<i>Coriobacteridae</i>	<i>Coriobactérales</i>	<i>Coriobacteriaceae</i>
<i>Sphaerobacteridae</i>	<i>Sphaerobactérales</i>	<i>Sphaerobacteraceae</i>
<i>Actinobacteridae</i>	<i>Actinomycétales</i>	

VII. Culture et morphologie

La croissance des colonies des Actinomycètes est variable en fonction de la composition des milieux de culture. La forme, la taille et la texture de la colonie sont des critères qui aident à différencier les genres. Sur un substrat solide comme la gélose le réseau ramifié d'hyphe formé par les actinomycètes se développe à la fois à la surface du substrat et à l'intérieur de ce dernier pour former un mycélium végétatif (Prescott et *al.*, 2003) ou mycélium primaire mycélium de substrat ou mycélium intra-matriciel, c'est un ensemble de filaments multi-nucléaires formés à partir du tube germinal (hyphe) issue d'une spore. Son développement, sur la surface et à l'intérieur du milieu solide, donne naissance à des jeunes colonies, formées par des filaments attachés en matrice complexe. Cet hyphe s'allonge par croissance apicale et se ramifie à maintes reprises (Mighélez et *al.*, 2000). Sur un mycélium primaire se développe un mycélium secondaire aérien, ces hyphes aériens sont plus épais et beaucoup moins ramifiés que les hyphes du substrat. Elles sont généralement pigmentées et enfermées dans une enveloppe externe hydrophobe (Djaballah, 2010).

VIII. Cycle de développement

Présent un cycle de développement cellulaire asexué similaire à celui des champignons imparfaits (Locci, 1989). Les différents groupes actinomycètes peuvent sporuler soit morcelant certaines hyphes pour former des conidies soit en produisant des endospores hautement résistantes à la chaleur. Leur croissant s'effectue par formation de cloison intracellulaire perpendiculairement à l'axe des hyphes ; mais chez certains genres tels que : *Mataphilus*, *Geodesnaphilus* et *Frankia*, la division cellulaire se produit sur les plans les plus divers lors de la formation des spores. Ces derniers sont mobiles chez les Dermatophiles et *Geodesnaphilus*, mais immobiles chez les *Frankia* (Morakchi H, 2012).

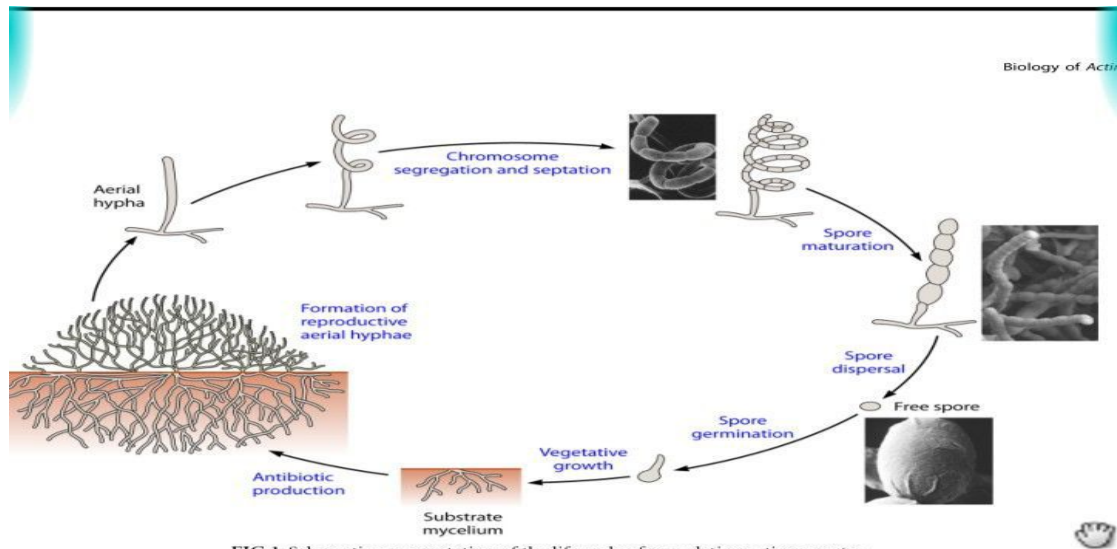


Figure 05. représentation schématique du cycle de vie de sporulation des actinomycètes (Ait Baraka et al., 2016).

IX/ Importance des actinomycètes

Les actinomycètes sont particulièrement utiles à l'industrie pharmaceutique et biotechnologique pour leur capacité à produire des métabolites secondaires de divers structures chimiques et d'activités biologique (Oskay ,2011). Ces métabolites secondaires sont produits durant une étape de leur cycle de développement .

➤ **Domaine médical et pharmaceutique**

Les métabolites secondaires

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

➤ **Dans le domaine agronomique**

En plus de la production d'un grand nombre de métabolites d'importance commerciale, les actinomycètes possèdent d'autres potentiels intéressants (Zaitlin et Watson, 2006) tels que la capacité de produire une large variété d'hydrolases extracellulaires, qui leur confèrent un rôle dans la décomposition de la matière organique dans le sol (Goodfellow et Williams, 1983).

- Ils ont l'avantage sur les autres microorganismes de s'adhérer aux interfaces non miscibles à l'eau en raison de l'hydrophobicité de leur paroi cellulaire. Ils sont aussi capables de dégrader des hydrocarbures chlorés ainsi que des composés organiques complexes (El- Shatoury et al., 2004).

- Les actinomycètes ont un rôle important dans les processus de recyclage et de biodégradation de la matière organique et des éléments minéraux et contribuent ainsi à la fertilisation des sols (Goodfellow et *al.*, 1984).
- Ils ont un grand pouvoir de transformation des substances organiques complexes difficilement ou non dégradables par les autres microorganismes, tels que les polymères complexes, les polysaccharides, les lignocelluloses, la chitine, etc.(Lechevalier, 1981; Goodfellow et Williams, 1983).
- Ils sont aussi capables de dégrader ou de recycler certaines toxines produites par des champignons toxigènes et réduire aussi leur teneur dans les produits finaux en agroalimentaire (Holzapfel et *al.*, 2002).

Chapitre 02

les métabolites secondaires

II. les Métabolites secondaires produits par les actinomycètes

Beaucoup de mycètes et de bactéries peuvent produire des composés appelés métabolites secondaires. Benaissa(2016) Les métabolites secondaires se caractérisent par le fait que, leur production n'est pas indispensable à la croissance du microorganisme .Boiron(1996)Les actinomycètes ont prouvé leur capacité à produire divers métabolites secondaires présentant des activités biologiques très variées telle que : antifongiques, anti tumorale, antibactériennes, immunosuppressives, insecticides et inhibitrices d'enzymes.

II.1. Définition

Les métabolites secondaires sont des composants généralement produits au cours de l'idiophase et peuvent être très diversifiés au niveau de leur structure chimique. Quelques métabolites sont spécifiques à une ou deux espèces alors que d'autres peuvent être produits par différents genres.

II.2. Les antibiotiques, définition, historique et notions générales

II.2.1. Définition

Sur base de l'étymologie du mot « antimicrobien » (du grec *anti* : contre, *mikros* : petit et *bios* : vie), on définit un composé de ce type comme toute substance capable d'agir contre la vie des microorganismes, L'adjectif antibiotique (du grec *anti* : contre, *biotikos* : concernant la vie) utilisé pour la première fois en 1889 (Guardabassi, et Courvalin, 2006).

Un antibiotique est une substance chimique produite par un microorganisme (le plus souvent un champignon) et capable de détruire (bactéricide) ou d'empêcher la croissance d'autres microorganismes (bactériostatique). Par extension, toute substance naturelle ou synthétique susceptible d'empêcher le développement des microorganismes est appelée antibiotique (Richards et Grant, 1995).

II.2.2. Historique

Alors même que la notion d'agent infectieux était inconnue, certains peuples tels que les Chinois ou les Egyptiens utilisaient déjà des préparations à base de moisissures du genre *Penicillium* pour traiter certaines infections de la peau. Ce n'est qu'au cours du 18^{ème} siècle que l'invention du microscope permet de mettre en évidence le développement des bactéries et de ce fait, de mettre en doute la théorie de la maladie comme phénomène spontané (Chatellet, 2007).

La première pierre à l'édifice de la lutte antimicrobienne est apportée en 1877 par Pasteur et Joubert qui montrèrent que l'injection, à un animal, des bactéries responsables de la maladie du charbon, *Bacillus anthracis*, en même temps que des bactéries communes, ces dernières empêchaient les premières de se développer. Cette découverte fait naître la notion d'antibiose par opposition à celle de symbiose. C'est en 1928 que Fleming permet d'élucider cette notion en contaminant

involontairement des cultures de Staphylocoques par des souches de *Penicillium notatum* (Philippon, 2010).

La difficulté à isoler et purifier la substance chimique, la pénicilline complique l'avancée des recherches de Fleming. Ce n'est que 10 ans plus tard que ses travaux sont récupérés par Florey et Chain permettant ainsi l'isolement d'un sel sodique de pénicilline. La réalisation de tests sur diverses espèces animales afin de vérifier l'innocuité du traitement, permet l'investissement d'un industriel Américain, Pfizer, et la production à grand échelle de la pénicilline dès 1943 (Philippon, 2010 ; Chatellet, 2007).

Les antibiotiques peuvent aujourd'hui être d'origine naturelle, semi-synthétique ou produits totalement par génie chimique, Les antibiotique actuellement utilisés en médecine vétérinaire sont généralement issus de bactéries actinomycétales du genre *Streptomyces*, de bacilles ou de champignons (Chatellet, 2007).

II.2.3. Notions générales

II.2.3.1. Classification

Il est possible de classer les antibiotiques (Puyt JD, 1996) :

A. En fonction de leur origine

naturelle (synthétisés par des bacilles, des champignons ou encore des bactéries filamenteuses du genre *Streptomyces*) ou synthétique (issus en partie ou en totalité du génie chimique).

B. En fonction de leur structure chimique

présence de différents dérivés d'acides aminés (hétérosidiques ou polycycliques).

C./ En fonction de leur activité : antibactérienne, antifongique ou antimitotique.

• Nous ne nous intéresserons ici qu'aux antibiotiques à activité antibactérienne.

II.2.3.2. Propriétés

Afin de traiter de manière ciblée la bactérie, il est intéressant de s'attarder sur trois critères principaux (Enriquez, 2007 ; Puyt, 1996) :

✓ Son spectre d'activité

Le spectre d'activité d'un antibiotique représente l'ensemble des espèces bactériennes qui y sont sensibles. Lorsque le spectre est limité à un petit nombre d'espèces bactériennes, celui-ci est qualifié d'étroit. Par contraste, à un spectre dit « large » correspond à un antibiotique actif sur un grand nombre de bactéries.

Pour déterminer l'activité d'un antibiotique il faut déterminer sa Concentration Minimale Inhibitrice ou CMI en interprétant un antibiogramme. Cette méthode consiste à mettre en culture une souche bactérienne (en milieu gélose ou liquide) en présence d'antibiotique dont la

concentration varie dans le milieu. Pour de faibles teneurs en antibiotique, la croissance bactérienne reste normale tandis qu'elle est inhibée pour des concentrations plus élevées. La CMI est alors la plus petite concentration permettant de visualiser l'inhibition de cette croissance bactérienne.

Enfin, la pharmacodynamie et la pharmacocinétique de l'antibiotique permettent de comprendre les relations entre les étapes du traitement et son efficacité clinique et bactériologique.

En associant cette valeur pour un traitement à posologie moyenne et la CMI, il nous est alors possible de classer les souches bactériennes en « **résistantes** », « **sensibles** » ou « **intermédiaires** ».

✓ **Son Activité bactériostatique ou bactéricide**

L'étude de la courbe d'inhibition de la croissance bactérienne par un antibiotique permet de définir deux zones d'activité. Lorsque l'antibiotique limite la croissance bactérienne mais que le nombre de bactéries issues de la multiplication est équivalent à celui des bactéries tuées par l'antibiotique, ce dernier agit par stabilisation de population bactérienne et il est alors qualifié de **bactériostatique**. Au contrario, si le nombre de bactérie issues de la multiplication est inférieur au nombre de bactéries tuées alors l'antibiotique agit par diminution de la population bactérienne et il alorsqualifié de **bactéricide**. Dans ce cas, il est possible de définir la Concentration Minimale Bactéricide ou CMB correspondant à la concentration pour laquelle moins de 1 bactérie sur 1000 survit après 18h de contact avec l'antibiotique.

L'efficacité des antibiotiques bactéricides dépend de deux facteurs : la concentration dans le sérum (L'antibiotique est alors « concentration dépendant ») et le temps pendant lequel l'antibiotique sera présent dans le sérum (l'antibiotique est alors dit « temps dépendant »).

✓ **Son mécanisme d'action**

Les antibiotiques peuvent avoir différents modes d'action soit en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne lors de la membrane cellulaire, soit en modifiant la structure de la membrane cellulaire directement, soit en bloquant la synthèse protéique dans les ribosomes, soit, enfin en bloquant la synthèse protéique en empêchant la réplication de l'ADN bactérien.

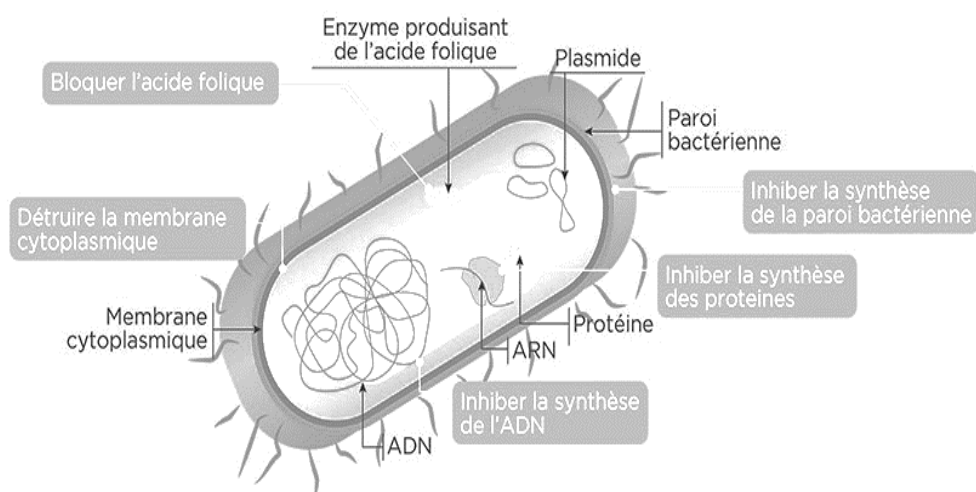


Figure 07 : Les modes d'action des antibiotiques (Laura Gonzalez, 2018).

II.2.3.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Aujourd'hui, souvent d'origine synthétique et produits par l'homme, les antibiotiques sont au départ des substances naturelles générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries.

Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger. Il s'agit là de résistance naturelle aux antibiotiques. (Lozniewski., Rabaud C., Nancy. Juillet 2010)

L'antibiorésistance est donc une réponse physiologique de la bactérie. Cette réponse peut être naturelle ou acquise au cours du temps.

3.2.1. Résistance naturelle

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques. On dit que cette résistance est innée ou naturelle. Leur patrimoine génétique leur permet de se défendre grâce à plusieurs techniques. La résistance peut être due à la structure de la bactérie (par exemple, les mycoplasmes par leur absence de paroi sont insensibles aux bêta-lactamines) ou à l'impossibilité l'antibiotique de pénétrer dans la cellule (les bactéries à Gram négatives avec leur membrane externe sont insensibles à la vancomycine). Ces résistances sont retrouvées dans l'ensemble des souches d'une même famille d'antibiotique et représentent donc le spectre d'activité naturel des familles et sous famille d'antibiotiques (Scott, 2009 ; Guerin-Fauble, 2010).

3.2.2. Résistance acquise

Plus inquiétante, la résistance acquise entraîne la résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était sensible auparavant. Cette résistance peut survenir via une mutation (directement sur le chromosome bactérien) ou plus fréquemment par acquisition de matériel génétique mobile (plasmide, transposon, intégrons, ...etc) permettant dans les deux cas de contourner l'effet délétère de l'antibiotique (Scott, 2009 ; Guerin-Fauble, 2010).

3.2.3. Résistance par mutation chromosomique

De manière rare et spontanée, des mutations chromosomiques peuvent avoir lieu au niveau du génome bactérien. Si une de ces mutations permet l'acquisition d'une résistance à un antibiotique, celui-ci en créant une pression antibactérienne révèle cette résistance. Si la mutation est viable, elle est alors transmise aux cellules filles par reproduction bactérienne. La transmission est alors exclusivement héréditaire et ne concerne généralement qu'un seul antibiotique. C'est le cas par exemple des *E.coli* dont la mutation du gène codant la protéine S12 du ribosome leur confère une résistance à la streptomycine (AFSSA, 2006 ; Perrot, 1998 ; Scott, 2009).

Néanmoins, cette mutation n'est un avantage pour la bactérie que si elle est en présence d'antibiotique. En effet, les mutants sont souvent plus fragiles et perdent de leur virulence. On parle de « coût biologique » qui serait dû à une synthèse supplémentaire de protéines *a priori* non essentielles en absence d'antimicrobien (Collectif, 2008 ; Giguere et al., 2007 ; Perrot, 1998).

3.2.4 Résistance par acquisition de matériel génétique exogène

Ce type de résistance procède de l'acquisition de gènes de résistance par l'intermédiaire d'un plasmide ou de transposons à la faveur de 3 mécanismes d'échange possibles : conjugaison, transformation ou transposition. Généralement, on observe une augmentation brusque de résistance plutôt qu'une augmentation par paliers du niveau de résistance. Cette transmission via des gènes de résistance via du matériel génétique mobile met en jeu trois types de transferts : la transduction, la transformation et la conjugaison.

A/- La transformation

Correspond au transfert passif d'ADN d'une bactérie à une autre. Ce type de transfert est le plus limité car il est partiel (moins de 1% du génome bactérien transféré), nécessite une bactérie receveuse dite « en état de compétence » et seules les espèces bactériennes proches en sont capables. La fréquence d'apparition de ce transfert est de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-6} . Toutefois, s'il y a transfert, la bactérie receveuse acquiert alors de nouveaux caractères génétiques stables et transmissibles (AFSSA, 2006 ;

B/- La transduction

Correspond au transfert de matériel génétique d'un virus bactériophage à une bactérie receveuse. Pour être recombinant, le matériel transmis par le bactériophage doit être issu d'une autre bactérie à l'origine.

Ainsi, la bactérie receveuse peut intégrer et acquérir des gènes nouveaux comme des gènes de résistance aux antibiotiques.

Il existe un transfert du matériel génétique du virus directement à la bactérie que l'on appelle conversion et qui peut également donner de nouveaux caractères intéressants pour la bactérie comme par exemple la sécrétion de la toxine diphtérique ou la sécrétion de la toxine érythrogyne du streptocoque A. Le transfert par transduction est un peu plus efficace que par transformation mais moindre que la conjugaison, en effet la fréquence d'apparition de ce phénomène approche les 10^{-6} et représente un échange d'à peu près 1 à 2% du génome bactérien (AFSSA, 2006 ; Maurin, 2013).

C/-La conjugaison :

Peut-être chromosomique ou extra-chromosomique. Ce dernier, contrairement à la conjugaison chromosomique qui permet le transfert d'ADN entre bactéries de même espèce, correspond au transfert le plus efficace et le plus répandu. Il permet de transférer un plasmide sur lequel se trouve un gène appelé facteur F. Ce dernier -16- a la capacité de coder la biosynthèse d'un pili sexuel permettant l'accolement de la bactérie donatrice à la bactérie réceptrice et de mobiliser le fragment d'ADN entre les deux bactéries. Le plasmide transféré peut alors être recombinant c'est à dire qu'il s'intègre au chromosome de la bactérie réceptrice grâce à des transposons ou rester libre dans le cytoplasme et peut à son tour être transmis à d'autres bactéries (AFSSA, 2006 ; Maurin, 2013).

Comme nous l'avons vu plus haut, le transfert *via* des plasmides concerne souvent plusieurs familles d'antibiotiques et a un fort pouvoir de dissémination ce qui rend ce mécanisme inquiétant en clinique (Andremont, 2000 ; Davison et *al.*, 2000 ; Collectif, 2008).

Cette transmission horizontale représente plus de 80% des résistances rencontrées en clinique (Ferron, 1994 ; Maurin, 2013).

II.2.3.3. Mécanismes de l'antibiorésistance

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant

➤ - Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des beta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour les groupes MLS (Macrolides, Lincosamides, Streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des

phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

➤ **Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique**

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible.

➤ **Le remplacement de la cible de l'antibiotique**

Est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamides, les diaminopyrimidines (triméthoprime) et les beta-lactames dont les SARM (*Staphylococcus aureus* Résistants à la Méthicilline) ainsi qu'à toutes les beta-lactames d'usage vétérinaire qui sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (Penicillin Binding Protein) possédant une affinité moindre pour la méthicilline -12- (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

3.3.4 Pompes à efflux actif

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilise par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. On classe ces pompes à efflux sur base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (*Specific Drug Resistance*), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (*Multiple Drug Resistance*). (Rodriguez et al., 2008).

➤ **Perméabilité réduite**

Contrairement aux bactéries à Gram positives, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycanes que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries à Gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable. Ainsi, au sein des bactéries Gram négatives, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique. La membrane externe de certaines bactéries telles que *Pseudomonas aeruginosa*, et moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère un niveau moins élevé de sensibilité aux antimicrobiens. En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Citons comme exemple, la réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E.coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux beta-lactames, aux tétracyclines et au chloramphénicol (Guardabassi et Courvalin, 2006).

➤ Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrite pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines et les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome. Depuis quelques années des souches présentant des résistances subcliniques dites à bas niveau aux fluoroquinolones ont été observées. Ces résistances sont notamment dues à la présence de gènes plasmidiques QnR (Quinolone Resistance) dont cinq groupes existent. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries Gram négatives à travers le monde, et des analogues de ces gènes ont également été décrits chez des bactéries à Gram positives (Rodriguez et al., 2008).

Les protéines QnR en se fixant sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (Robiczek et al., 2006 ; Cavaco et al., 2009 ; Wang et al., 2009).

➤ Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprime ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux

glycopeptides chez certaines souches de *Staphylococcus aureus*, et à la tobramycine chez *E.coli* (Guardabassi et Courvalin, 2006)

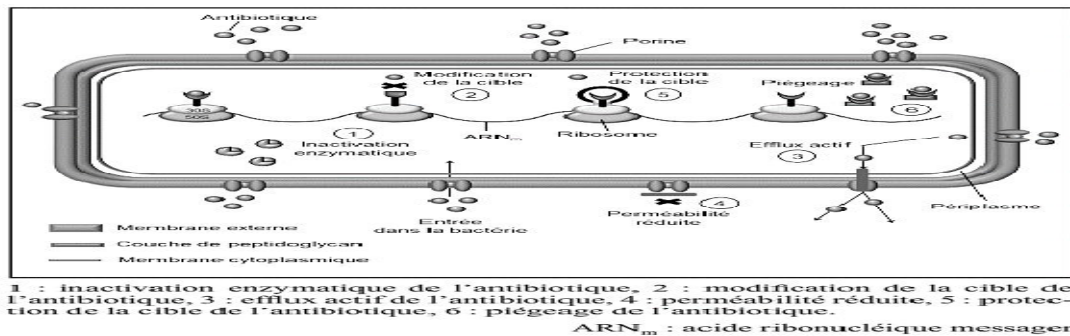


Figure 08 : Différents mécanismes d'antibiorésistance dans une bactérie à Gram négative (Guardabassi et Courvalin, 2006)

II. 3.La production des Antibiotiques

Les antibiotiques constituent la part la plus importante des applications industrielles des actinomycètes. Ces molécules d'origine naturelle manifestent des activités biologiques de nature principalement antibactérienne, antifongique, anticancéreuse, antivirale ou antiparasitaire (Leveau et Bouix, 1993).

Les quatre premiers métaboliques bioactive isolés sont :

- * L'actinomycine en 1934, antitumorale;
- * La streptomycine en 1944, antibactérienne, y compris antituberculeuse;
- * La neomycine en 1949, antibactérienne;
- * La candidine (1953), antifongique. (Boudjaleb, 2009)

II .3.1. Antibiotiques sécrétés par les actinomycètes

Les actinomycètes tiennent une très grande importance dans le domaine de la biotechnologie des antibiotiques, malgré les progrès de synthèses chimiques. En effet, 45% des antibiotiques connus, sont naturellement issus des actinomycètes et plus particulièrement du genre *Streptomyces* (Sibanda et al., 2010). Parmi les antibiotiques qui ont des applications thérapeutiques on peut citer : les aminoglycosides, les anthracyclines, les glycopeptides, les beta-lactamines, les tétracyclines, les macrolides, les nucléosides...etc.

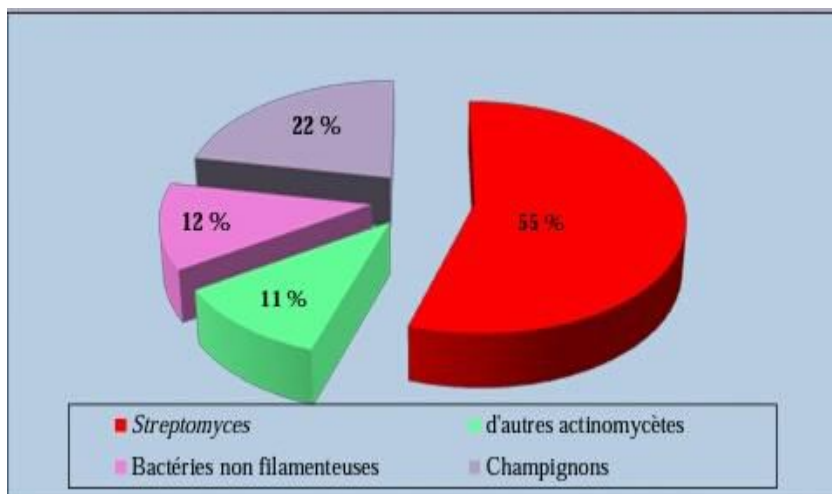


Figure 09. Secteur angulaire de la répartition de production des antibiotiques entre les microorganismes (Berdy, 2005)

Outre les antibiotiques, les actinomycètes produisent d'autres molécules qui ont des applications biotechnologiques variées (Uyeda, 2004), telles que :

- **Anti tumorales** : actinomycine, adriamycine, rebeccamycine-
- **Antivirale**, antiparasite ;
- **Insecticides** : nikkomycine-, miticides herbicides : phosphinothricines.
- **Piscicides** : antimycine A-,

Ainsi que d'autres substances ayant des activités biologiques les plus diverses (immunosuppressives, immunostimulantes) (Sanglier et al., 1993).

Les antibiotiques produits par *Streptomyces* représentent aujourd'hui un marché considérable de vingt-huit milliards de dollars au niveau mondial (Thomson et al., 2004).

Outre les antibactériens, l'activité de ces molécules peut s'exercer vis-à-vis des champignons. L'antifongique le plus exploité en thérapeutique est la nystamine, un tétraène extrait de culture de *Streptomyces noursei* (Ouhdouch, 2001).

Les antibiotiques issus des Actinomycètes sont utilisés en élevage comme adjuvants pour l'alimentation animale en stimulant la croissance et en améliorant le rendement alimentaire ou en protégeant les jeunes en début d'élevage. C'est le cas des bambermycines utilisées chez le porc et les volailles. Les antibiotiques sont aussi largement utilisés en médecine

vétérinaire, comme l'ivermectine produite par *Streptomyces avermitilis*, qui est un anthelminthique (contre les nématodes chez les animaux) (Stapley et Woodruff, 1982).

Partie Expérimentale

I. Objectif

De nombreux antibiotiques ont été isolés dans une variété de microorganismes et ont été employés dans beaucoup de domaines : l'industrie, l'agriculture, science vétérinaire et pharmaceutique (Oskay et *al.*, 2004). Les actinomycètes représentent les principales sources de métabolites secondaires à activité anti cellulaire. Ce groupe produit plus de 3.000 antibiotiques à activité antibactérienne ou (Belyagoubi, 2014).

Cette étude porte sur la recherche de l'activité antimicrobienne d'actinomycètes mène à un objectif principal :

l'étude de l'activité antibactériennes de différents souches d'actinomycètes.

II. Cadre de l'étude

Ce travail a été réalisé au sein de laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'université Larbi Tébessi –Tébessa, sous la direction de Mme Benhadj M. pendant la période allant du 12/02/2020 à 10/03/2020

III. Matériels utilisés

III.1. Matériels non-biologique

III.1.1. Grands matériels

- Agitateur
- Autoclave
- Bain marie
- Balance
- Etuve
- Hotte bactériologique
- Hotte biochimique
- Loupe binoculaire
- Microscope optique
- Plaque chauffante
- Réfrigérateur
- Rhotavape
- Table à niveau
- Vortex

III.1.2. Petits matériels

- Anse de platine
- Barreaux magnétique
- Bec bunsen
- Boites de Pétri
- Portoirs
- Entonnoir
- Film photographique
- Lames
- Micropipette
- Papier watman
- Picette
- Pipettes Pasteur
- Spatule
- Virreris: béchers gradués, éprouvettes graduées, tubes à essai stériles, les flacons, et

Les earlens

III.2. Matériels biologiques

III.2.1/ Les actinomycètes

Les 5 isolats d'actinomycètes étudiés proviennent d'une collection de souches d'actinomycètes isolées a partir d'un système lacustre (Benhadj et al.,2018)

. chacune avait un code selon le tableau suivant :

Tableau n°06: les codes des souches d'actinomycètes.

Souche	Code
S1	ACT170
S2	ACT 97
S3	ACT130
S4	ACT368
S5	ACT158

III.2.2/ Les germes cibles

L'activité antibactérienne a été testée contre les bactéries cibles rapportées dans le Tableau n°07

Tableau n°07 : Caractéristiques des souches bactériennes tests.

Souche bactérienne	Gram de souche	code
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positive	BT1
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positive	BT2
<i>Micrococcus</i>	Positive	BT3
<i>Escherichia coli</i>	Négative	BT4
<i>Salmonella</i>	Négative	BT5
<i>Klebseilla sp</i>	Négative	BT6
<i>Bacillus</i>	Positive	BT7
<i>Staphylococcus aureus sarm</i>	Positive	BT8
<i>Escherichia coli</i>	Négative	BT9
<i>Pseudomonas</i>	Négative	BT10

III.3.Milieux de cultures

- Bennet
- GYEA (Gléucose Yeast Extracts Agar)
- LB molle(Luria Bertani)
- ISP2 (International Streptomyces Project)
- ISP1 (International Streptomyces Project)

La composition de chaque milieu est présente dans la partie annexe

III.4.Les solutions et colorants utilisés

- L'eau distillée stérile
- L'eau physiologique stérile

IV. Méthode de travail

IV.1. Origines des souches

Les cinq souches d'actinomycètes étudiées dans ce travail proviennent d'une collection de souches d'Actinomycètes isolée d'un système lacustre (lac Fed Zara) Annaba (benhadj et *al*,2018)

IV .2.Repiquage et purification des isolats d'actinomycètes

La première étape dans notre travail est la purification des souches d'actinomycète étudiées. Cette étape est très essentiel, elle permet de donner des colonies isolés et pure. Le repiquage des souches se fait par la méthode d'ensemencement par stries d'épuisement dans des boites pétri contenant le milieu ISP2, ces boites sont incubées à une température 30°C pendant 7 jours, car les actinomycètes ont une croissance lente (Eriskon, 1949).

IV .3. Mise en évidences de l'activité antibactérienne des souches d'actinomycète

IV .3.1.Culture des bactéries cibles

Les 10 bactéries cibles sont ensemencés dans dans les milieux solides .

Ces bctéries cibles sont : «*Staphylococcus aureus* BT1, *Staphylococcus aureus*BT2, *Micrococcus*BT3, *Escherichia coli*BT4, *Salmonella*BT5, *Klebseilla sp*BT6, *Bacillus*BT7 ; *Staphylococcus aureus sarm*BT8, *Escherichia coli*BT9, *Pseudomonas*BT10»

A l'aide d'anse de platine ces bactéries sont ensemencées par la méthode de strie d'épuisement sur les milieux Chapman, LB solide, et Mac conkey, puis incubé à 30°C et 37°C selon la bactérie pendant 24h pour vérifier leur pureté.

- **Préparation de l'inoculum**

Après l'incubation de 24h sur les milieux cités précédemment, un inoculum est préparé pour chaque bactérie test en milieu Luria Bertani (LB) liquide puis les incuber pendant 24h.

- **Technique des disques d'agar** (Tortorant et *al.*, 1979)

Cette méthode consiste à ensemencer les 5 souches d'actinomycètes à testé sur les milieux (ISP1 ,ISP2, GYEA, Bennet) en stries serrées puis les incubées a 30°C. Pendant le 3^{ème} jours d'incubation, à l'aide des cônes bleus stériles, les cylindres d'agar portant des colonies d'actinomycètes, de 07 mm de diamètre sont découpés à partir de ces milieux, et déposés à la surface du milieu LB molle préalablement ensemencées avec les différentes bactéries cibles

Tableau n°08 : l'inoculum prélevé de chaque bactéries

Bactérie	L'inoculum prélevé(µl)
Staphylococcus aureus	380
Staphylococcus aureus	350
Micrococcus	530
Escherichia coli	420
Salmonella	670
Klebseilla sp	440
Bacillus	340
Staphylococcus aureus sarm	500
Escherichia coli	590
Pseudomonas	270

Les boîtes ensemencées sont maintenues au réfrigérateur pendant 30min avant d'être incubé, pour permettre la diffusion des substances actives tout en empêchant la croissance des bactéries, puis incubée à 30°C et 37°C (selon la bactérie cible) pendant 24h (Kitouni, 2007).

Ce test a été répété pour des cultures d' Actinomycètes a difjours d'incubatons férents (Jours 03 ,jours7 ,jours 10, jours 14 et jours 21). Les diamètres des zones d'inhibition apparues sont mesurés autour des cylindrs d'agar (Shomura et *al.*, 1979; Saadoun et Al moumani, 1997; Petrosyan et *al.*,2003;Boudjelal et *al.*, 2011).

V. Résultat et discussion**V.1.Repiquage et purification des isolats d'actinomycètes**

Après le repiquage des souches d'actinomycètes sur le milieu ISP2 par la méthode d'épuisement les résultats montrent que les isolats purs ont un mode de croissance différent, sauf les souches S97 et S 130 qui ont une croissance faible. La croissance des souches est moyenne dans le 3ème jour, tandis que la croissance est importante du 7ème jour jusqu'à 21ème jour.

La croissance est différente d'une souche à une autre et la couleur de mycélium de substrat et le mycélium aérien varie également le **Tableau 09** et la **Planche 1** illustre les résultats.

Tableau n°09. Résultats de repiquage et vérification de la pureté des isolats.

numéro de la souche d'actinomycètes	Mode de croissance	Mycélium aérien	Mycélium de substrat	pigmentation
S 170	Important	blanc	blanc	Beige foncé
S 158	Important	blanc	blanc	Marron et rouge
S 368	Important	Beige foncé	blanc	Absence
S 130	faible	Absence	blanc	Absence
S 97	faible	Absence	blanc	Marron et rouge

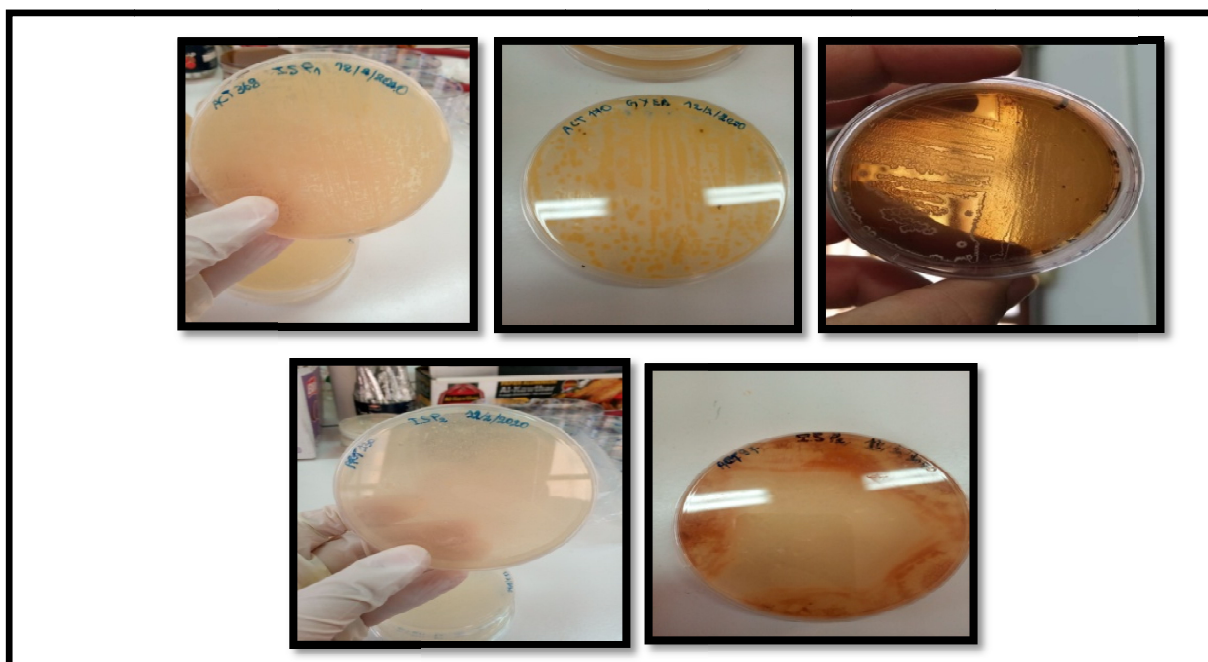


Planche n°1. Photos représentant les caractères culturels de quelques isolats sur le milieu ISP2MA ; Mycélium aérienne MS : Mycélium de substrat.

V.2. Recherche de l'activité antimicrobienne des Actinomycètes

V.2.1. Test d'activités antibactériennes

Le spectre d'activité antibactérienne des souches d'actinomycètes retenue, a été recherché par la méthode de cylindres d'agar vis-à-vis de dix souches de bactéries Gram+ et Gram-sur des différents milieux (ISP1, ISP2, GYEA ET Bennet) et dans des différents jours (3ème,7ème,10ème,14ème ,17ème et 21ème jour).

Les résultats de cette étude montrent que l'activité est différente selon les bactéries Actinomycétales (résultat différent d'une souche à une autre) et les résultats sont également différent d'une bactérie test a une autre (les bactéries Gram positif ou négatif), aussi pour la même souche Actinomycétale le résultat est différent d'un jour au un autre (3ème, 7ème, 10ème, 14ème ,17ème et 21ème jour). Les milieux de cultures des souches d'actinomycètes influencent également sur les résultats du test d'activité antibactérienne (**Tableau 10**).

Dans le troisième jour (J3), trois souches d'Actinomycètes c'est-à-dire 60% ont une activité antibactérienne contre au moins une bactérie-test dans des milieux différents (ISP1 ,ISP2 ,GYEA et Bennet). Tandis que le test effectué dans le 7ème jour le pourcentage des souches actives est de 40%. Par contre dans le 10ème, 14ème ,17ème et 21 ème jour le pourcentage des souches actives est de 80%.

Le pourcentage des souches actives est élevés que le pourcentage des souches actives dans l'étude de (Bleyagoubi ,2011) qui trouve 38 souches d'Actinomycètes isolées de différents sol,

seulement 23 souches (60,5 %) ont montré une activité contre au moins un germe cible, et le même pourcentage dans l'étude de (Harir, 2018), qui trouve 4 souches actives de sur 6 souches, sauf que dans le 3ème jour l'activité est diminuée.

Le pourcentage d'activité des souches d'actinomycètes est élevé lorsque les disques d'agar proviennent du milieu GYEA et Bennet par contre le pourcentage de l'activité démunie lorsque les milieux sont ISP1 et ISP2. Ce résultat confirme que les meilleurs milieux de production des actinomycètes pour trouver un bon résultat est GYEA et Bennet, notre résultats est le même que le résultat trouvé par (Boubetra, 2013) qui démontre que les milieux GYEA et Bennet sont les meilleures pour la production des antibiotiques. Si on se réfère aux inhibitions maximale observées chez *Bacillus subtilis* (46 mm sur GYEA et 35mm sur ISP2). Les résultats obtenus lors des travaux menés par Muiru et

Tableau n°10 : résultats de teste antibactérienne.

	J3															J7																								
	ISP1					ISP2					GYEA					BNNET					ISP1					ISP2					GYEA					BNNET				
	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158
Bt1	18	7	7	7	7	7	7	7	7	7	15	7	7	7	25	7	7	7	7	7	19	7	7	7	7	7	7	7	7	7	8	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Bt2	20	7	7	7	7	20	7	7	7	7	7	11	7	7	7	7	7	21	23	7	7	7	7	7	7	18	7	7	7	7	8	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Bt3	30	7	7	7	7	7	7	7	7	7	37	7	29	34	25	7	7	40	33	25	23	7	7	7	18	7	7	7	7	16	17	7	7	7	7	15	7	7	7	7
Bt4	11	7	7	7	7	7	7	18	21	7	7	16	20	17	21	7	7	21	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	15	7	7	7	7	7
Bt5	7	7	7	7	7	7	7	18	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	24	7	7	7	7	7	7	7	7	7	19	7	7	7	7	7
Bt6	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	10	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Bt7	27	7	7	7	7	7	7	7	7	7	25	7	7	7	7	7	7	7	7	7	30	7	7	7	15	30	7	7	7	7	19	7	7	7	7	20	7	7	7	7
Bt8	7	7	7	7	7	25	7	13	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	15	7	7	7	7	7	7	14	10	13	11	7
Bt9	7	7	7	7	11	7	7	7	7	7	7	7	7	7	14	7	7	7	7	7	7	7	7	7	10	7	7	7	10	7	7	7	7	7	12	7	7	7	7	7
Bt10	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7

Résultats et discussion

	J10																				J14																								
	ISP1					ISP2					GYEA					BNNET					ISP1					ISP2					GYEA					BNNET									
	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158					
Bt1	7	7	7	7	7	18	7	7	7	7	7	7	12	7	47	15	7	14	17	45	7	7	7	7	7	17	7	7	7	7	7	38	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Bt2	7	7	7	7	7	22	7	13	7	7	40	7	7	7	7	15	7	7	7	7	7	7	7	7	15	18	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	8	15
Bt3	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	22	7	7	7	7	7	22	7	26	7	7	7	28	27	7	7	7	22	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	22	7
Bt4	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	15	7	7	7	7	7	7	7	16	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Bt5	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	15	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Bt6	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	18	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	9	7	7
Bt7	1 5	7	7	13	7	35	7	7	7	7	24	7	7	7	7	25	7	7	7	7	7	7	7	14	13	24	7	7	7	7	18	7	7	7	46	16	7	12	25	12					
Bt8	7	7	7	7	7	12	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	12	11	7	7	7	7	7	7	19	7	7	7	7	7					
Bt9	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	8	7	7	7	7	7	7	24	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	25	7	7	7					
Bt10	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7					

Résultats et discussion

	J17															J21																								
	ISP1					ISP2					GYEA					BNNET					ISP1					ISP2					GYEA					BNNET				
	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158	170	97	130	368	158
Bt1	35	7	7	7	7	7	7	7	7	9	35	40	7	7	12	7	35	7	7	40	7	7	7	7	9	12	7	7	7	7	7	35	32	14	45	33	43	39	7	40
Bt2	7	7	7	7	7	7	7	7	16	12	7	7	7	7	7	7	7	7	7	13	7	7	7	7	15	7	7	7	7	25	7	7	7	7	45	7	7	7	7	7
Bt3	20	7	7	7	13	19	7	7	7	18	19	7	7	7	27	16	20	7	7	15	16	7	7	7	16	7	7	7	7	7	18	16	7	7	20	7	7	7	7	11
Bt4	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	24	18	7	7	7	26	7	7	7	22	24	7	7	19	25	27	21	7	7	37	24	22	7	7	18
Bt5	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20	7	24	7	25	7	7	7	7	22	7	7	7	16	21	7	7	7	16	7	20	25	7	25	20	25	17	7	21
Bt6	7	7	7	7	7	10	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	17	14	7	17	7	7	7	7	7
Bt7	30	7	7	7	15	30	7	7	7	7	19	7	7	7	7	20	7	7	7	15	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	13	7	7	7	7	7
Bt8	7	7	7	7	17	7	7	7	7	15	7	7	7	7	7	14	10	13	1	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	11	7	7	7	7	7	
Bt9	7	7	7	7	7	10	7	7	7	10	7	7	7	7	12	7	7	77	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	
Bt10	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7

ses collaborateurs (2008), stipulent que les milieux de culture utilisés pour l'identification des Actinomycètes n'ont pas d'impact sur les caractères morphologiques, mais plutôt sur les caractéristiques physiologiques comme la production de pigments mélanoides et la production de pigmentation peut être expliquée par la production des molécules bioactives (Muiru et *al.*, 2008).

Les résultats du test d'activité antibactérienne expliquent la présence des molécules bioactives c'est-à-dire la présence des antibiotiques agissant contre des bactéries à Gram positives et Gram négatives

Les deux souches S170 et S 158 ont un spectre d'activité vis-à-vis de la majorité des bactéries testées (soit Gram positives ou négatives) avec des zones d'inhibitions de 14 jusqu'à 47mm de diamètre.

La souche S368 possède un spectre d'activité vis-à-vis de toutes les souches des bactéries Gram positives testées a une zone d'inhibition de 40 mm de diamètre contre *Micrococcus* BT3.

La souche 130 à un spectre d'activités différentes sur les germes cibles soit à Gram positives ou négatif testées a une zone d'inhibition de 12 jusqu'à 4 (**Tableau10**).

La souche S97 à un spectre d'activité vis-à-vis des quelques souches des bactéries Gram négatives.

Les résultats confirment que les bactéries à Gram positif sensibles aux antibiotiques produites par les actinomycètes plus que les souches bactérienne Gram négative, ces résultats concordent avec ceux de (Boubetra, 2013) qui trouvent que l'activité des molécules produits par la souche *Saccharothrix* est surtout dirigée contre les Gram positif ,et parfois contre les champignons et rarement contre les Gram négatif. Ce résultat est expliqué par la composition chimique de la membrane des bactéries Gram positif par le peptidoglycane et l'absence de couche lipopolysaccharide (LPS) qui est présente chez les bactéries Gram négatif. Cette couche rend la membrane cellulaire imperméable aux substances lipophiles (Kim et *al.*,1994), nos résultats sont similaires à ceux trouvé par d'autres auteurs évoquant la sensibilité des bactéries à Gram positif aux sécrétions d'actinobactéries par rapport aux bactéries à Gram négatif (Sabaou et *al.*,1998 ; Prescott et *al.*, 2002).

La souche S170 à une activité contre la bactérie *Bacillus* BT7 dans le 3ème jour (**planche 02- A**) est le diamètre est de 25mm sur milieu GYEA et de 27mm sur le milieu ISP1 par contre dans le milieu ISP2 et Bennet aucune activité n'a été détecté.

L'activité antibactérienne est augmentée dans le 7ème jour elle est sur le milieu ISP1 avec 30 mm (**Planche 02- B**) mais diminue sur le milieu GYEA à 19 mm et apparaisse sur le milieu ISP2 avec une zone d'inhibition de 30 mm et sur milieu Bennet avec 20 mm.

Dans le 10ème et le 14ème jour l'activité diminue avec des zones de 24mm sur milieu ISP2, 18mm sur milieu GYEA et 16mm sur Bennet le remarquable que cette activité est différente dans les 4 milieux (ISP1, ISP2, GYEA et Bennet). Cette différence explique notre changement de milieu de production car chaque milieu a des différentes compositions, ces dernières peuvent influencer sur la production des antibiotiques, nos résultats sont comparables avec les travaux de Aharonowitz et Demain (1978); Omura et Tanaka(1986); Cheng et *al.*;(1995); Sanchez et Demain(2002), la nature et la concentration des composants du milieu de culture ont un effet remarquable sur la capacité et la quantité de métabolite secondaire produit par les microorganismes producteurs.

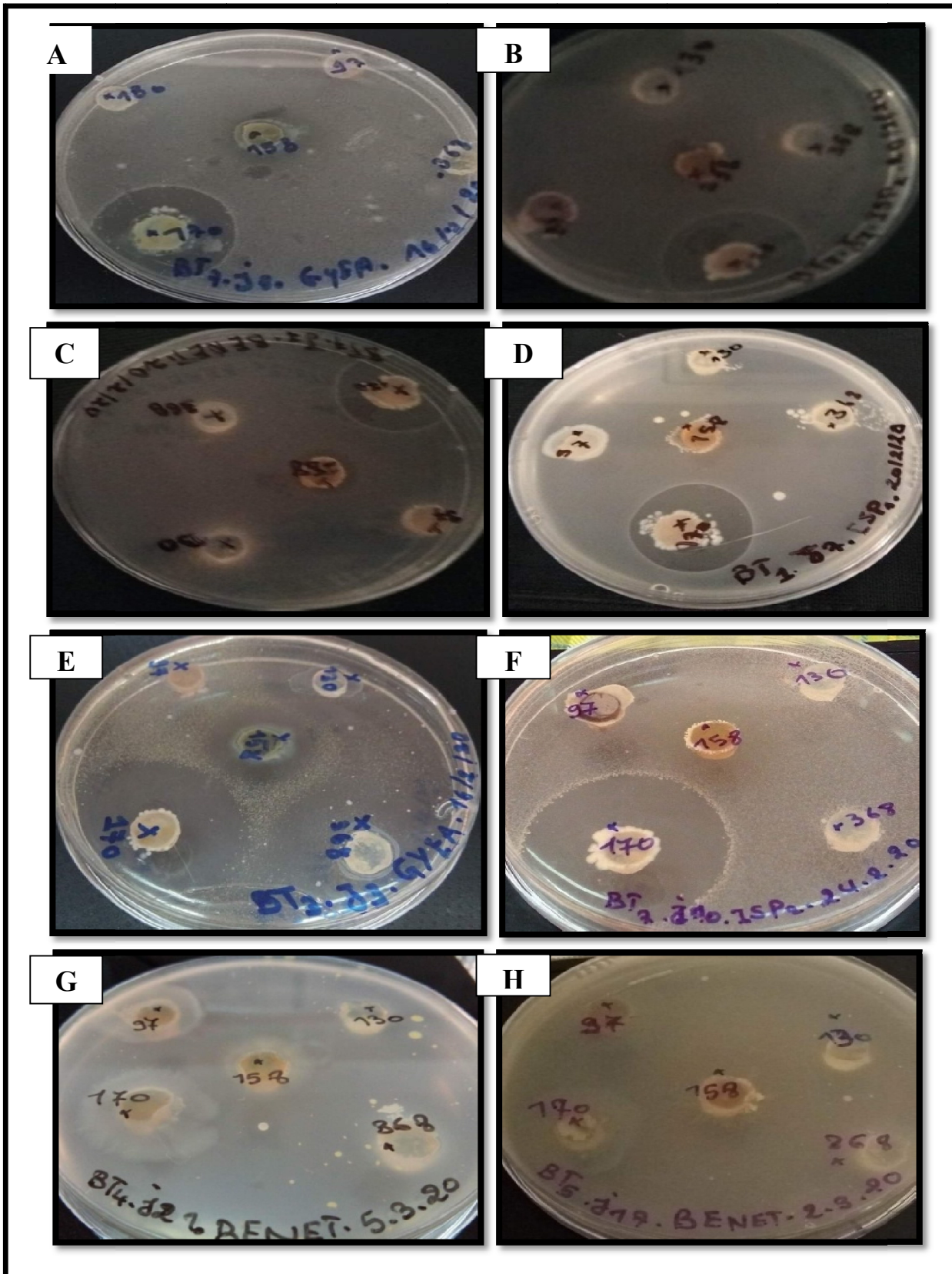


Planche 02. Photos représentatives des quelques zones d'inhibition due à l'activité antibactérienne de la souche S170 dans différents milieux

L'activité antibactérienne de cette souche contre la bactérie Gram- *Escherichia coli* BT4 est moindre dans le 3ème jour dans milieu ISP1 avec une zone d'inhibition de 11mm de diamètre mais l'activité disparaît dans les 7ème ,10ème ,14ème et 17ème jour. Le remarquable qu'une augmentation importante dans le 21ème jour dans tous les milieux avec d'importantes zones d'inhibition (26 mm sur ISP1, 24 mm sur ISP2, 27mm sur GYEA et 24mm a Bennet) (La **Planche 03** illustre les cinétiques de production de la souche S170).

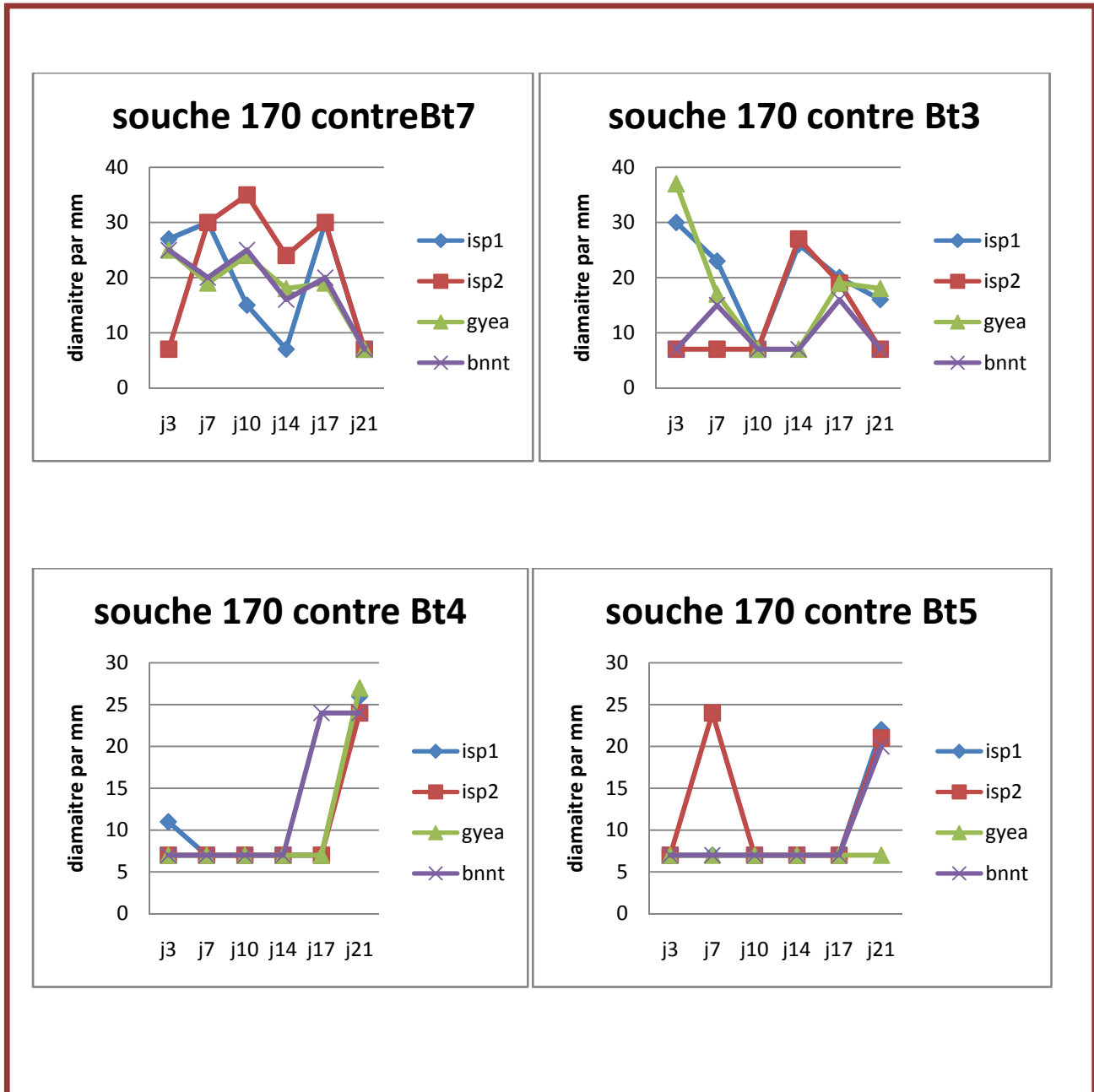


Planche 03. Des courbes cinétiques représentent les diamètres des zones inhibitrices de la souche S170 contre différentes bactéries dans des différents jours.

D'après les résultats du **Tableau 10** on note qu'une moindre augmentation de l'activité antibactérienne de la souche S158 contre la bactérie *Staphylococcus aureus* BT2 dans les 14^{ème} et 17^{ème} jours (15mm sur ISP1 et 15mm sur Bennet) mais dans le 21^{ème} jour l'activité est augmentée avec 45mm de diamètre sur GYEA et 25 mm sur ISP2 par contre aucune activité n'a été signalé dans les 3^{ème},7^{ème} et 10^{ème} jour. Cette souche aussi possède une activité contre *Escherichia coli* BT4 dans le 3^{ème} et 7^{ème} jour, l'activité est notée sur un seul milieu GYEA (15 à 21 mm), elle est disparu dans le 14^{ème} et le17^{ème} jour mais réapparaisse dans le 21^{ème} jour dans tous les milieux (22mm sur ISP1, 25mm sur ISP2, 37mm sur GYEA, 18 mm sur Bennet).

L'absence de l'activité antibactérienne peut être expliquée par le développement d'une résistance contre les molécules bioactives (substances antibactériennes), en effet la résistance bactérienne vis-à-vis des antibiotiques d'actinobactéries peut être attribuée à l'inactivation enzymatiques de l'antibiotique ou à la perméabilité membranaire des bactéries (Harir, 2018).

La souche 368 a une forte activité antibactérienne contre la bactérie *Micrococcus* BT3 dans le 3^{ème} jour dans deux milieux 34 mm sur GYEA et 33 mm sur milieu de Bennet, l'activité disparaissent dans le 7^{ème} jour et revienne dans le 10^{ème} jour pour le milieu Bennet avec un zone d'inhibition de 22mm de diamètre, cette dernière elle diminue au14^{ème} jour (12 mm sur Bennet) par contre dans le 17^{ème} et le 21^{ème} jour elle disparu.

D'après la **planche 04** la souche S130 à une activité contre *Staphylococcus aureus* BT2 dans le 3^{ème} jour sauf dans les deux milieux ISP2 avec 20 mm et 21 mm sur GYEA .Cette souche elle a perdu l'activité dans les autres jours (7^{ème}, 10^{ème}, 14^{ème}, 17^{ème}, et 21^{ème}).

Par rapport aux bactéries Gram négatives, la souche S130 et S97 ont une activité antibactérienne contre *Escherichia coli* BT4 la souche 130 dans le J3 (18mm sur ISP2, 20 mm sur GYEA, 22 mm sur Bennet) par contre les jours J7 , J10 , J14 , J17et J21, l'activité a disparu. La souche 97 a une activité dans un seul milieu 16 mm sur GYEA dans les 7^{ème}, 10^{ème}, 14^{ème} et 17^{ème} jour, cette activité a disparu et apparait dans le 21^{ème} jour dans deux milieux (21mm sur GYEA et 22mm sur Bennet).

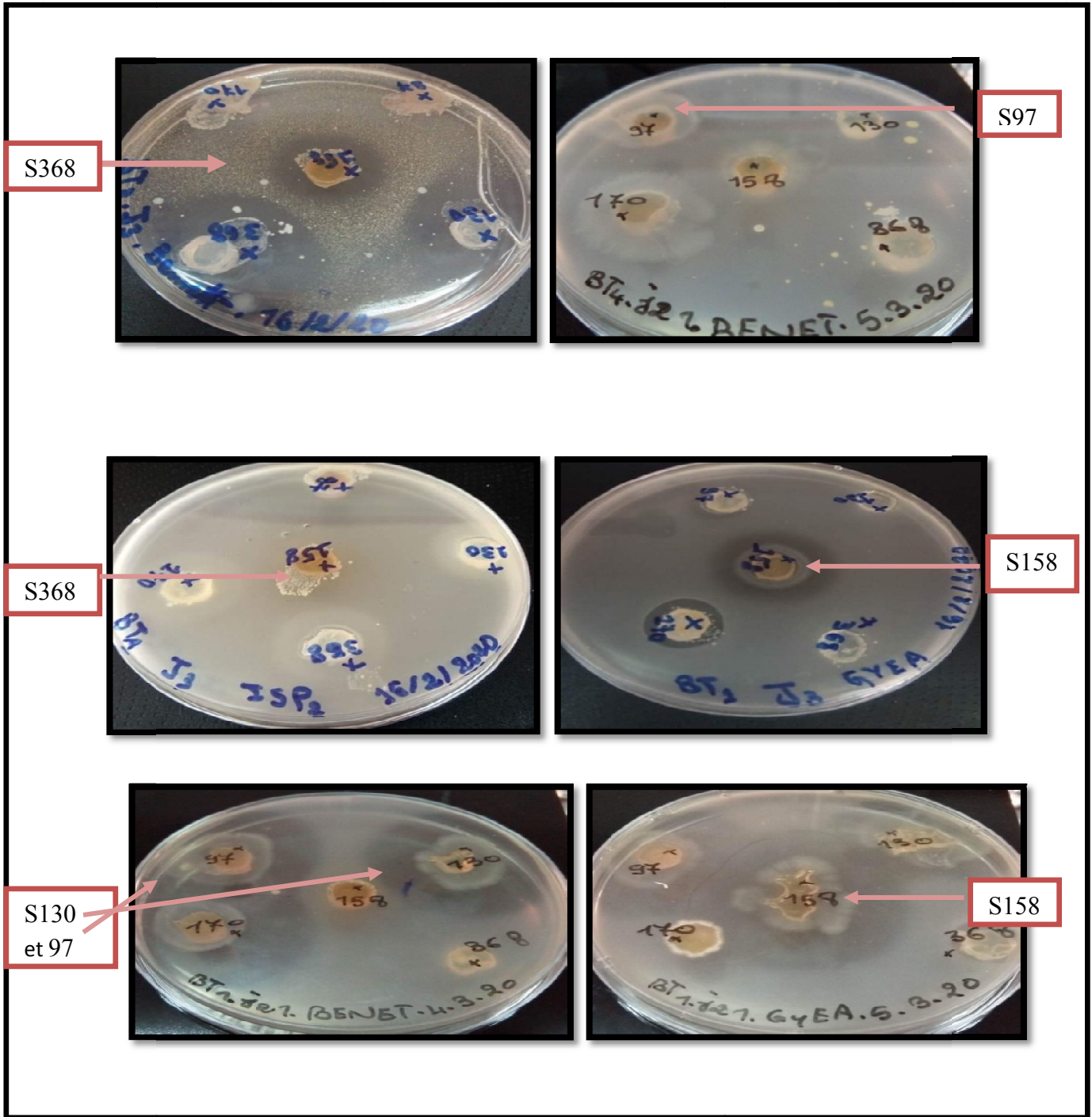


Planche n°04 : Photos représentatives des quelques zones d'inhibition due à l'activité antibactérienne des souches S158 , S130,S97 et S368 dans des différents milieux

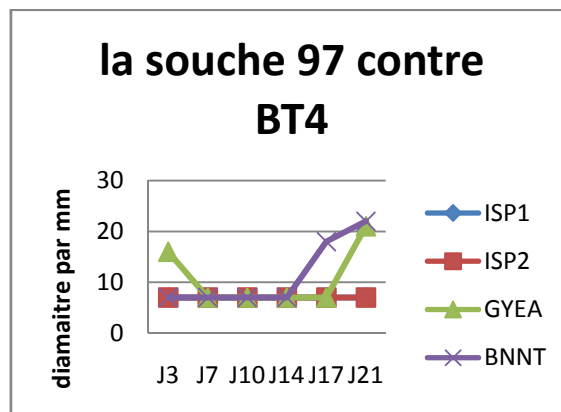
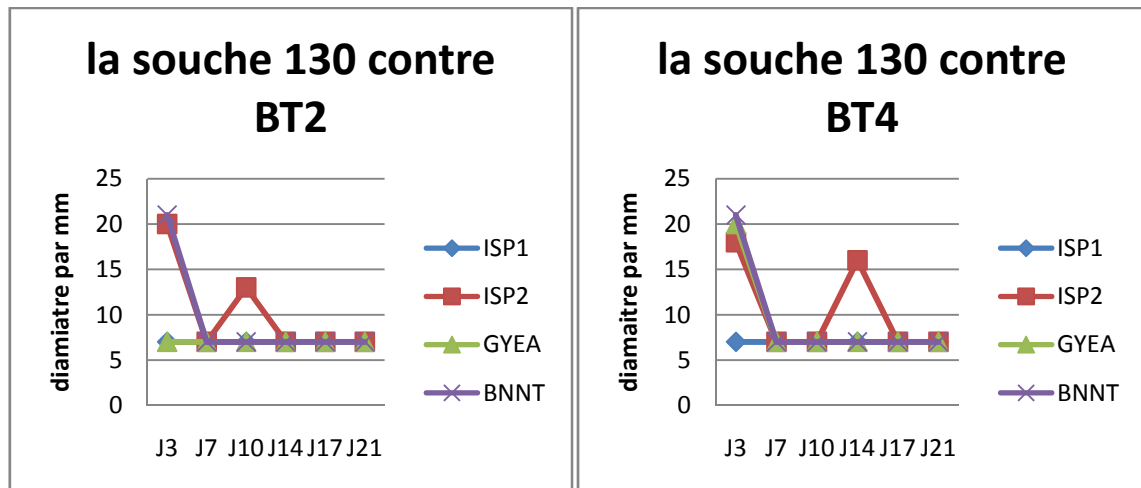
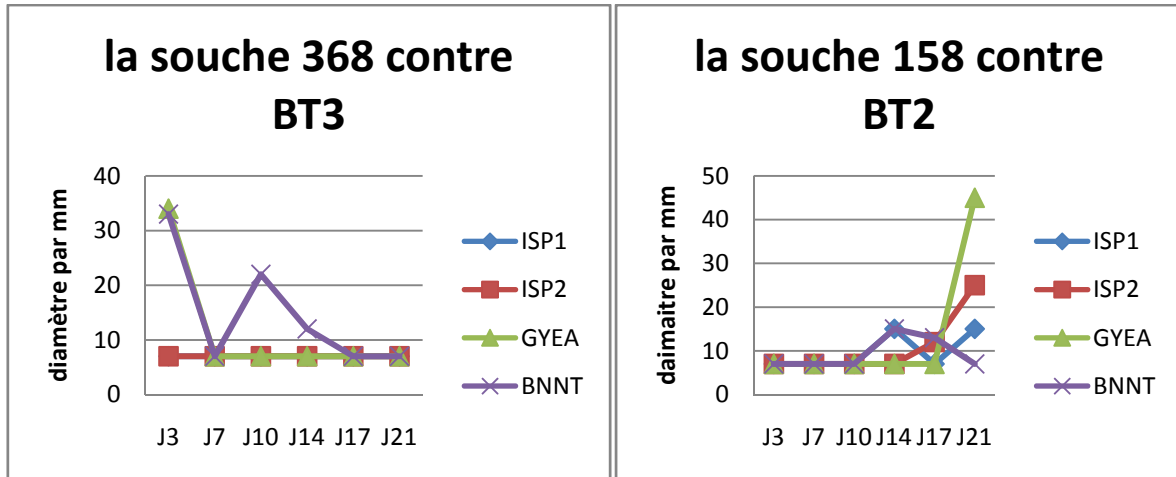


Planche n°05 : Des courbes cinétiques représentent les diamètres des zones inhibitrices des souches S158, S368, S130 et S97 contre différentes bactéries dans des différents jours.

Nous remarquons que la plupart des souches d'actinomycètes ont une activité antibactérienne contre au moins une bactérie testée, parmi les 5 souches d'actinomycètes testées, les souches S170, S368 et S158 ont une activité antibactérienne contre presque toutes les souches bactérienne Gram positives et négatives notre étude comparables avec l'étude de (Bleyagoubi, 2011).

L'activité antibactérienne est différenciée d'un jour à l'autre on note qu'elle apparait dans le 3ème jour et diminue dans le 7ème jour par contre elle augmente les autres jours (J10, J14, J17et J21, les plus grandes zones ont été observés avec la souche S170. Les meilleurs milieux pour une bonne activité sont le GYEA (47mm) et Bennet (43mm de diamètre).

Les bactéries les plus sensibles aux production des molécules bioactives sont les *Bacillus* BT7, *Staphylococcus aureus* BT2 et *Micrococcus* BT3 a Gram positives plus que les (*Escherichia coli* BT4, *Salmonella* BT5, *Klebseilla sp* BT6 et *Escherichia coli* BT9) à Gram négatives. Notre résultats montrent que toutes les souches d'actinomycètes ne présentent aucune activité contre *Pseudomonas* BT10. Des résultats sont motionnés par (Şahin et Uçur ,2003) ou deux souches parmi les 15 souches de *Streptomyces* isolée sont actives avec des zones d'inhibition entre 10 et 20 mm de diamètre.

L'usage intensif à conduit, surtout en milieu hospitalier à une sélection fréquente de souche de *Pseudomonas aeruginosa* , résistante à la majorité des antibiotiques (Véron,1990).

Selon les testes d'évaluation de l'activité antibactérienne, l'espèce la plus résistante était *Pseudomonas aeruginosa*. Les travaux de (Şahin et Uçur ,2003)), coïncide avec nos résultats.

conclusion

La résistance microbienne aux molécules constitue un problème important lorsqu'elle concerne des microorganismes pathogènes. Cette résistance se traduit par la capacité acquise d'un microorganisme à résister aux effets d'un agent chimiothérapeute pour lequel il est normalement sensible ; la propagation de ses bactéries est devenue une préoccupation sanitaire majeure (Bleyagoubi, 2014).

Dans le cadre ce présent travail, qui entre dans le cadre de l'axe de recherche de métabolites biologiquement actifs produit par cinq souches d'actinomycètes, nous nous sommes intéressés à la recherche des biomolécules actives contre des bactéries.

La recherche des activités antibactériennes a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé par la technique des cylindres d'agar.

Les résultats obtenus montrent que la plupart des souches d'Actinomycètes étudiées présentent une activité antibactérienne contre au moins une souche bactérienne testée. Les plus grandes zones d'inhibitions ont été observées avec la souche S170 avec une activité contre la bactérie *Micrococcus* BT3 (35mm) et contre *Staphylococcus aureus* BT2 (40 mm de diamètre), et la souche S158 contre *Staphylococcus aureus* BT1 (47mm) et aussi contre *Bacillus* BT7 (46mm).

Ces résultats permettent de confirmer que les deux souches d'actinomycète (S170 et S158) sont les meilleurs producteurs de molécules bioactives.

Dans ce travail, on peut dire que nos souches d'Actinomycètes possèdent des propriétés significatives et importantes dans la production de très nombreux métabolites bioactives antibactériens.

A l'issue de ce travail plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

- ✓ L'étude de l'activité sur une large gamme de bactéries tests.
- ✓ L'étude de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de souche pathogènes dont le mécanisme de résistance aux antibiotiques est connue.
- ✓ L'étude de l'influence de plusieurs milieux de culture sur la production des métabolites antibactériennes.

Références Bibliographiques

A

- **Afssa. (2006).** Usages Vétérinaires Des Antibiotiques, Résistance Bactérienne Et Conséquences Pour La Santé Humaine. Rapport Du Groupe De Travail "Antibiorésistance". /En Ligne/. Maisonsalfort : Afssa, 214 Pages. Disponible Sur : [Http://Www.Afssa.Fr/Documents/Sant-Raabr.Pdf](http://www.afssa.fr/Documents/Sant-Raabr.Pdf).
- **Aharonowitz Y., Demain A.L. (1978).** Carbon catabolite regulation of cephalosporin production in *Streptomyces clavuligerus*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 14: 159- 164.
- **Alekshun M.N., Levy S.B. (2007).** Molecular Mechanisms Of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell*, Pages **128, 1037-1050**.
- **Andremont A. (2000).** Impact Des Antibiotiques Sur L'écologie De La Résistance Bactérienne : Rôle Du Tube Digestif. *Med Mal Infect*, **30(3)**, 178–184.
- **Andriambololona ,T,(2010) -** Etude bibliographiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d'ANKAFOBE. Mémoire de recherche pour l'obtention du Diplôme d'études approfondies de biochimie. Université d'antananarivo, Madagascar : 5p

B

- **Baldacci, E. (1962).** Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. *Ann Soc Belge Méd Trop*, 4 : 633–646.
- **Becker B ; M .P. Lechevalier & H.A. Lechevalier (1965).** Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various form genera of aerobic actinomycetes. *Appl. Microbiol* .P:236-242.
- **Benhadj , M ,Gacemi , D , Maxime ,T, Laurence , Cyril ,B , Raphaél , E , Bertrand , A , Pierre , L(2018) .** Diversity and anti microbial activities of *Streptomyces* Isolates
- **Benaissa (2016).** Isolement des microorganismes (actinomycètes et moisissures) Producteurs de substances antimicrobiennes à partir du sol d'une grotte dans la région de Tlemcen (Tagema).mémoire de master. En Microbiologie. UNIVERSITE de TLEMEN Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers.pp95.
- **Berday J.,Aaszalos A. and Mc Nitt K.L.(1987)-**CRC Handbook of antibiotic
- **Berdy J., (2005).** Bioactive microbial metabolites. *J antibiot*. 58 :1-26.Biological
- **Berdy, J. 2005.** Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot (Tokyo)* 58. Pp: 1-26.
- *Biotechnol*. 8 (13): 3007-3017.
- **Bleyagoubi.L (2014) ;** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat Biologie, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.

- **Bleyagoubi.L (2014)** ;Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens.Thèse de doctorat Biologie, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.
- **Boiron P. (1996)**. Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris.
- **Boubetra-Biskeri, A (2013)**, Nouvelles espèces de *Saccharothrix* isolées des sols sahariens et nouveaux antibiotiques secrétés par *Saccharothrix* SP. SA 198. Thèse de doctorat en science Agronomique. Ecole Nationale supérieure Agronomique
- **Boudjella H., (2007)**. Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des Streptosporangium des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques secrétés par trois souches. These de Doctorat institut National Agronomique ElHarrach (Alger).p177.
- **Boudjellab, Zineeddine. . M. Ounissi(2009)**,Etude microbiologique ,physicochimique et organoleptique de l'eau potable de la région d'annaba Ed. Université Badji Mokhtar.-[s.l] : [s.n],.-.
- **Bouras N.,Merrouche R., Lamari L.,Mathieu F., Sabaou N., Lebrihi A., (2008)**.Precursor directed biosynthesis of new dithiolopyrrolone analogs by *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137-Process Biochemistry, 43(11),1244-1252.

C

- **Cavaco L.M., Hasman H., Xia S., Aarestrup F.M. (2009)** Qnrd, A Novel Gene Conferring Transferable Quinolone Resistance In *Salmonella Enterica* Sérovar Kentucky And Bovismorbificans Strains Of Human Origin. Antimicrob. Agents Chemother , 53, 603-608.
- **Chatellet M-C. (2007)**. Modalités D'utilisation Des Antibiotiques En Elevage Bovin. Th. Méd. Vét. Maisons-Alfort.
- **Chater, K. (1999)**. David Hopwood and the emergence of *Streptomyces* genetics. Int Microbiol, 2(2): 61–68.
- **Collectif (2008)**. Résistance Des Micro-Organismes Aux Agents Antibactériens. In Le Manuel Vétérinaire Merck. 3rd Ed Française, Edition D'après, 2053–2054.
- compounds 1990-1995. *Exp. Opin. Invest. Drugs*, **5**, 207-223p.

D

- compounds.vol.XIII.Microbialmetabolites.par 1,2,3.Florida,USA.CRC Press,Boca
- **Davison Hc., Low Jc., Woolhouse Mej. (2000)**. What Is Antibiotic Resistance And How Can We Measure It? *Trends Microbiol.*, **8**, 554–559.
- **Djaballah C., (2010)**-Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha de Ain M'Lila. Memoire de l'obtention du Diplome de Magister en Micbiologie. Université Mentouri Costantine : 102p.

- **Donadio, S., Sosio, M., Lancini, G. (2002).** Impact of the first Streptomyces genome sequence on the discovery and production of bioactive substances. *Appl Microbiol Biotechnol*, 60(4) : 377–80.

E

- **E.O. Stapley, H.B. Woodruff. H. Umezawa, et al.** (Eds.), Trends in Antibiotic Research, Japan Antibiotics Research Association, Tokyo (1982), pp. 154-170.
- **Enriquez B. (2007).** Les Antibiotiques En Médecine Vétérinaire. Pharmacie Et Toxicologie Expérimentales Et Cliniques : Notions Générales Sur Les Antibiotiques, Les
- **Erikson(1949).** The morphology, cytology and taxonomy of the actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*. (1949); 3: 23-54
- **Erikson. D ; (1949);**Themorphology, cytology and taxonomy of the actinomycetes.

F

- **Ferron A. (1994).** Chapitre 76 : La Résistance Des Bactéries Aux Antibiotiques, In *Bactériologie Médicale*. 15th Ed., Ed. C. Et R., Paris, 12 Pages.
- Freshwater Actinomycetes Isolated from the Eastern Cape Province of South Africa. *Int J Mol Sci*. Vol : 11. N° 7. 2612–2623p.

G

- **Gasperini, G., (1892).** *Ann. Igiene Sper. Roma*, 1 (n.s.), 339–428.
- **Gasperini, G., (1894).** *Centralbl. f. Bakt. Parasitenk. II. Abt.* 15, 684.
- **Giguere S., Prescott Jf., Baggot Jd., Et Al. (2007).** *Antimicrobial Therapy In Veterinary Medicine*, 4th Ed, Blackwell Scientific Publications, Wiley-Blackwell, Usa, 626 Pages.
- **Goodfellow M., (2012).** Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In: Goodfellow et al. (Editors). *Bergey Manuel of Systematic Bacteriology, The Actinobacteria*, second edition, vol. V, part A, New York, Dordrecht, Heidelberg, London. pp. 1–28.
- **Guardabassi L., Courvalin P. (2006)** Modes Of Antimicrobial Action And Mechanisms Of Bacterial Resistance. In: Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial Resistance In Bacteria Of Animal Origin*. Asm Press : Washington, 1-18.
- **Guerin-Fauble V., (2010).** Les Mécanismes De Résistance Des Bactéries Aux Antibiotiques. In : *Journées Nationales Gtv, Lille*, P. 93–101.

H

- **Harir, M ;(2018),** caractérisation des molécules bioactives produits par des souches d'actinobactéries isolées des sols arides et semi arides d'AlgérieThèse de Doctorat en biotechnologie, Université Ahmed ben Bella, Oran.221p..

- **Hiltner L (1904)** Uber neue Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderes Berucksichtigung der Grundugungen und Brauche. Arb Dtsch Landwirt Ges Berl 98:59–78
- **Hopwood, D.A. (1973).** Genetics of the Actinomycetales. Soc Appl Bacteriol Symp Ser, 2: 131–53.
- **Hopwood, D.A. (2003).** Streptomyces genes: from Waksman to Sanger. J Ind Microbiol Biotechnol, 30(8): 468–471.

J

- **Jensen, P.R., Dwight, R., Fenical, W. (1991).** Distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. Appl Environ Microbiol, 57(4):1102–1108.

K

- **Kämpfer P., (2010).** Actinobacteria. Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology Part 19,1819–1838. Kanoh K., Matsuo Y., Adashi K.
- **Khattabi A, Hilali L, Dari K, Assobhei O, Gavini F. (2002).** Isolement de microorganismes d'origine marine (Maroc) antagonistes de Yersinia ruckeri et Yersinia pseudotuberculosis. Rev. Biol. Biotech.;2:28–32.
- **Kim C, leek,kwono,yool and shimaz,leek,kwono,yool and shimazia A (1994),**selective isolation of actinomycètes by physicalpertreatment of soilkorean journal of Appliedmicrobiological and biotechnology , 22,222-225.
- **Kitouni, M. (2007).** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Th doctorat :Microbiologie : Université Mentouri Constantin
- **Krainsky, A., (1944).** Centralbl. f. Bakt. Parasitenk. II Abt, 4 1 , 649-688.
- **Krassilnikov, N. A. (1938).** Microbiologia (U.S.S.R.), 7, 335.
- **Kumar.A, Bohra.C, singh.C.K.(2003).**Environment pollution and management. India: New delhi-110035(Ed), Pp532-534.

L

- **Larpent JP, Sanglier JJ. (1989).** In: Biotechnologie des antibiotiques. Paris: Ed. Masson. p. 481.
- **Larpent-Gourgaud M., Larpent J-P. (1997).**Mémento technique de microbiologie. Tec & Doc-Lavoisier,.3ème édition. Paris. P :7430-7563.
- **Lechevalier, H.A., Lechevalier, M.P. (1967).** Biologie of actinomycetes. Ann Rev Microbiol, 21: 71–100.

- **Leveau .J.Y &M Bouix ., (1993).** Microbiologie Industrielle. Paris. P : 424-439.
- **Lieske, R., (1921).** Morphologie und Biologie der Strahlenpilze, Lipsia.
- **Lozniewski, A., Rabaud, C., Nancy. (2010).** Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Fiches Conseils Pour La Prévention Du Risque Infectieux – Infections Associées Aux Soins. Cclin Sudest.

M

- **Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A,Clark D.P., (2011).** Brock biology of microorganisms. 13th Edition Hardcover.ISBN-13 :978-0-321-64963-8.
- **Mariat F., Sebald M, (1990).** Actinomycétales..In:Le Minor. L., Véron M. Bactériologie médicale. Medecine-Sciences. Flammarion. France. Deuxième partie : 933-999
- **Martin JK, Kemp JR (1980)** Carbon loss from roots of wheat cultivars. Soil Biology and Biochemistry 12:551-554.
- **Maurin M. (2013).** *Résistances Aux Antibiotiques.* Polycopié [En Ligne]. Disponible Sur : [Http://Umvf.Cerimes.Fr/Media/Resswikinu/P2d1/Maurin_Max_3a_P02/Index.Htm](http://Umvf.Cerimes.Fr/Media/Resswikinu/P2d1/Maurin_Max_3a_P02/Index.Htm)
- **Maurin M. (2013).** *Résistances Aux Antibiotiques.* Polycopié [En Ligne]. Disponible Sur : [Http://Umvf.Cerimes.Fr/Media/Resswikinu/P2d1/Maurin_Max_3a_P02/Index.Htm](http://Umvf.Cerimes.Fr/Media/Resswikinu/P2d1/Maurin_Max_3a_P02/Index.Htm)
- **Messaoudi. O (2013) ;** Contribution à la caractérisation de souche d'actinomycètes de métabolites antibactériennes isolées de la Sebkhia Kenadesa (Bechar). Mémoire de Magistère en Microbiologie appliquée, Université ABOU BAKR BELKAID de Tlemcen.
- **Metrouh R , (2017).** Recherche de molécules bioactive produites par les Actinomycètes : essai préliminaire d'extraction des biomolécules. Université de Larbi Tébessi-Tébessa , de soutenu 2017- Tébessa.p28
- **Mighélez E.M., Hardisson C. and Manzanal M.B. (2000).** Streptomycetes: A new model to study cell death. J. Cell. Biol. 3: 153–158.
- **Morakchi H ,(2012).** Thèse de doctorat en microbiologie, isolement et identification de souches d'actinomycètes productrice des molécules bioactives au niveau du lac Oubiera. Université de Badji Mokhtar Annaba. soutenu 2012. Annaba.p34.
- **Mukesh Sh, Pinki D and Meenakshi Ch.,(2014)-** Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci (2014) 3(2): 801-832.

N

- **Nikaido H. (2009).** Multidrug Resistance In Bacteria. Annu. Rev. Biochem, 78, 119-146.

O

- **Orskov, J., (1923).** Investigations into the morphology of the ray-fungi. Copenhagen.

- **Oskay, M., Tamer, A.Ü., Azeri, C. (2004).** Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afr J Biotechnol*, 3(9): 441–446.
- **Ouhdouch. Y. Barakate. M. Finance. C. 2001.** Actinomycetes of Moroccan habitats: Isolation and screening for antifungal activities. *European Journal of Soil Biology*. Vol: 37. N°: 2. Pp: 69–74.

P

- **Perrot V. (1998).** Une Evolution Sans Doute Réversible. *La Recherche* 314, 68–69.
- **Perry J.J., Staley J.T., et Lory S, (2004).**-Microbiologie. Edition Dunod
- **Perry J.J., Staley J.T., Et Lory S., (2004).**-Microbiologie. Edition Dunod.
- **Philippon A. (2010).** Résistance Des Bactéries Aux Antibiotiques. Cours De La Faculté Médecine De Paris Descartes. [En Ligne]. Disponible Sur: [Http://Cstvn.Free.Fr/Downloads/Philippon1.Pdf](http://Cstvn.Free.Fr/Downloads/Philippon1.Pdf)
- **Prescott & al., (2010).** Microbiologie. 3eme édition. Paris.p: 589-603.
- **Prescott, L., Harley, J.P., Klein, D.A. (2003).** Microbiologie. De Boek Ed (Berlin), 2^{ème} édition, pp 539.
- **Puyt J-D. (1996).** Bases Bactériologiques De L'antibiothérapie, In : *Antibiothérapie Vétérinaire. Quel Avenir ?* Page 9–21.

R

- **Reichl, U., King, R., Gilles, E.D. (1992).** Characterization of pellet morphology during submerged growth of *Streptomyces tendae* by image analysis. *Biotechnol Bioeng*, 39(2): 164–170.
- **Richards W, G. Grant (1995).** “Computational Chemistry”, Oxford Chemistry Primers, Oxford.
- **Ripert Christan; 2013.** Mycologie Médicale : Actinomycoses. Lavoisier Librairie. France.
- **Robicsek A., Strahilevitz J., Jacoby G.A., Macielag M., Abbanat D., Park C.H., Bush K., Hooper D.C. (2006).** Fluoroquinolone-Modifying Enzyme: A New Adaptation Of A Common Aminoglycoside Acetyltransferase. *Nat. Med.*, 12, 83-88.
- **Rodriguez-Martinez J.M., Velasco C., Briales A., Garcia I., Conejo M.C., Pascual A. (2008).** Qnr-Like Pentapeptide Repeat Proteins In Gram-Positive Bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* Page: 61, 1240-1243.
- **Rossi-Doria, T. (1891).** *Ann. Igiene Sper. Roma*, 1 (n.s.), 339–428.

S

- **Sabaou, N. (1988).** Contribution à l'étude des Actinomycètes des sols des palmeraies Algériennes: systématique et écologie. Thèse de Doctorat en Microbiologie des sols. Université des Sciences et de la technologie Houari Boumediene. Alger. 192p.
- **Şahin, N., Uçur, A. (2003).** Investigation of the Antimicrobial Activity of Some Streptomyces Isolates. Turk J Biol,27(2): 79–84.
- **Sanglier J.J, Haag T.A., Huck T.A. and Fehr T. (1993).** Review of actinomycetes
- **Sanglier, J.J., Trujill M., (1997).** Substances bioactives produites par les actinomycetes, strategie de selection de souches. Bull Soc Fr Microbiol, 12(3): 269–276.
- **Scott, G., (2009).** Antibiotic Resistance. Medicine (Baltimore) 37, 551–556.
- **Shirling, E.B., et Gottlieb, D., (1966).** Retrospective evaluation of international Streptomyces project taxonomic criteria-the Boundary Microorganisms. Toppan Printing Co Ltd., 161, 9-41.
- **Sibanda, T. A. (2010).** Antibiotic Producing Potentials of Three Freshwater Actinomycetes Isolated from the Eastern Cape Province of South Africa. Int J Mol Sci. (7), 2612–2623.
- **Sibanda, T., Leonard. V. Mabinya. L. V, Mazomba. N, Akinpelu. D. A, Bernard.**
- **Soderberg KH, Baath E (1998)** Bacterial activity along a young barley root measured by the thymidine and leucine incorporation techniques. Soil Biology and Biochemistry, 30(10-11): 1259–1268.
- **Solanki, R., Khanna, M., et Lal, R.** Bioactive compounds from marine actinomycètes. Ind. J. Microbiol. (2008); 48, 410-431.
- **Stapley, E. O., and Woodruff, H. B. (1982).** Avermectins, antiparasitic lactones produced by Streptomyces avermitilis isolated from a soil in Japan. In “Trends in ...
- studies of halophilic streptomyces sp. Isolated from saltpan environment.

T

- **Tamura, S., Park, Y., Toriyama, M., Okabe, M. (1997).** Change of mycelial morphology in tyrosin production by batch culture of Streptomyces fradiae under various shear conditions. J Ferment Bioeng, 83(6): 523–528.
- **Theilleux, J. In Levreau, J.Y., Bouix, M. (1993).** Microbiologie industrielle. Les microorganismes d'intérêt industriel. Lavoisier, Paris. C h: 6 : 425–481. Technique et documentation. Lavoisier. Paris.
- **Thomson, C.J., Power, E., Ruebsamen-Waigmann, H., Labischinski, H. (2004).** Antibacterial research and development in the 21(st) Century-an industry perspective of the challenges. Curr Opin Microbiol, 7(5): 445–50.
- **Tortora G.J., Funke B.R. et Case C.L, (2012)**-Introduction à la microbiologie . Edition de Renouveau pédagogique, Québec: 152-408.

U

- **Uyeda, M. (2004).** Metabolites produced by actinomycetes--antiviral antibiotics and enzyme inhibitors. *Yakugaku Zasshi*, 469-479.

V

- **Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G.F., Chater, K.F., van Sinderen, D. (2007).** Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol Mol Biol Rev*, 71(3): 495–548.
- **Véron M. (1990).** Pseudomonaceae. In : *Le Minor. L., Véron M. Bactériologie médicale. Médecine- Sciences. Flammarion. France. Ch 22: 555- 587.*

W

- **Wang M., Guo Q., Xu X., Wang X., Ye X., Wu S., Hooper D.C. (2009).** New Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Gene, Qnrc, Found In A Clinical Isolate Of *Proteus Mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 1892-189.

Y

- **Yamaguchi T., (1965).** Comparaison of the cell-wall composition of morphologically distinct actinomycetes. *J. Bacteriol.*, 89: 444-453.

Les annexes

Annexe I : Milieux de culture

Milieu Bennett

Extrait de levure.....	1g
Extrait de viande.....	1g
Peptone.....	2g
Glucose.....	10g
Eau distillée.....	1L
PH = 7,2	

ISP2

-Extrait de Malt	10g
-Extrait de levure.....	4g
-Glucose.....	4g
-Agar.....	15g
-Eau distillée.....	1000ml
PH :7.0 à 7.2	

Milieu LB molle

Treptone.....	4g
Extrait de levure.....	2g
Na Cl.....	2g
Eau distille	800ml
PH : 7.2	

GYEA

Extrait de levure.....	10g
Glucose.....	10g
Agar.....	18g
Eau distillée.....	1000ml
PH : 6,8	

Annexe II : Solutions et Réactifs

Eau physiologique

NaCl.....	9g
H2O distillée.....	1000ml