République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Yahia Fares - Médéa

Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de Master En Biologie

Spécialité : ***Microbiologie Appliquée***

Thème :

Isolement et sélection des souches d'actinomycètes productrices d'Antibiotiques

Présenté par **: HAMMANI Chaimaa**

HAMZAOUI Bouchra

Soutenue: le 13 / 07 /2021 devant le jury composé de :

Nom et Prénom		Grade		
Mme	**BOUMEDIENE F.**	MCB	UNIV de Médéa	Présidente
Mr	**AINAS M.**	MCB	UNIV de Médéa	Examinateur
Mme	**ZERGOUG A.**	MCB	UNIV de Médéa	Promotrice

Année Universitaire : ***2020-2021***

Remerciements

Tout d'abord, Nous tenons à remercier le bon Dieu « Allah » Tout Puissant, le Généreux et le miséricordieux de nous avoir donnés la force, la santé, la patience, la volonté et le courage de terminer ce modeste travail, et pour nous avoir guidés vers la lumière de la recherche du savoir et de la science

Nous tenons à remercier :

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide de notre adorable encadrante Dr ZERGOUG AMINA maître de conférences A à l'université de médea ,on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire. la confiance qu'il nous a accordés durant l'étude pratique, ,Sa précieux conseils, sa compréhension et son soutien moral lors de la rédaction de ce manuscrit.

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait Mme BOUMADIEN MCB à l'université de Médéa en étant président du jury et Mr AINES MCB à L'université Yahia Fares Médéa d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos profonds remerciements vont également à Madame Bouhrama Amina et Monsieur NABI Ibrahim pour la fourniture des produits.

Nos remerciements s'adresse au groupe saidal antibiotical de Médéa particulièrement le service de laboratoire de microbiologie et physico-chimie , nous citeraons tout particulièrement (Madame TOUMI Nadjat , Mr :Laidi KARIM , BENAISSI.M, ZOUMBIA.F, BENAISSA .B ,BOUCHNAFA.M...) pour avoir mis à notre disposition les produits et le matériel nécessaire pour la réalisation et la réussite de ce travail. Et pour son aide pratique et ses encouragements.

Nos profonds remerciments vont à la famille HAMMANI , et la famille HAMZAOUI ainsi qu'à toutes personnes qui nous ont aidés et soutenue de prés ou de loin.

DEDECACE

Je dédie ce modeste travail A Allah le Tout Puissant, le Clément, le Miséricordieux.
A son envoyé le Prophète Mouhamad , Bénédiction et Paix sur Lui.
Je dédie ce Travail A toutes les personnes qui me sont chéres :

A mon très cher père Hammani Aissa « Ma force »

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es.
Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, , ta compréhension. , Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A la lumière de ma vie , ma très chère mère

Si Dieu a mis le paradis sous les pieds des mères, ce n'est pas pour rien.

Ma très chère maman, Je ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous , Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur,Je t'aime maman.

A Mon très cher et adorable frère bien aimé Oussama Mouhamed el Amine

Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je te porte.Ton encouragement tout au long de mes années d'étude, ton amour et ton affection,ont été pour moi l'exemple de persévérance.Je trouve en toi le conseil du frère et le soutien del'ami. que Dieu te protège, t'accorde santé, succès et plein de bonheur dans ta vie.

'Une sœur est un cadeau pour le cœur, une amie pour l'esprit'

A ma soure de coeur ABIR (my twin),A mes chères sœurs:Zakia et son mari Khaled et Samia et son mari Mounir ,je vous souhaite beaucoup De réussite et tout le bonheur du monde.

A Mon Petit adorable frère Youcef Yazan

Je veux dire au monde que j'ai le meilleur petit frère du monde , Que Dieu te protège, t'accorde santé, succès et plein de bonheur dans ta vie., je t'aime youyou.

A mon neveux adam ,Et A mes nièces roudaina et rinada, et israa.

A ma grand mére maternel ,Que Dieu te donne bonne santé et longue vie .

A lamémoire de mon grand père maternel et ma grand mére paternel,Que dieu leurapporte paix et miséricorde
A la mémoire de mon grand père paternel, ABDELKADER , que j'ai perdue récemment.

Comment t'oublier ?ta bonté reste encore gravée dans ma mémoire,Merci pour ta grande sagesse et de m'avoir transmis tout plein de belles valeurs, Merci pour les belles histoires du soir ... Que Dieu t'accorde la paix éternelle et t'accueille dans son paradis.

A toute ma famille, oncles et tantes.. , A mes aimables amies : ouissal, loubna , mouna .
Merci à tous ceux qui m'ont aidée, fait grandir, fait avancer depuis ces 22 belles années .

Chaimaa Hammani

DEDECACE

Je remercie ALLAH le Généreux pour m'avoir guidé vers la lumière de la recherche du savoir et de la science.

Je dédie ce travail à :

Mes parents qui sont toujours présents pour faire mon bonheur. QueDieu les protège et leur donne longue vie pleine de santé et qu'ils trouvent ici lapreuve de ma reconnaissance infinie et d'un profond amour.

Mon mari Lakhiderd'être toujours à mes côtés pour me soutenir et surtout pour me donner la force pour surmonter tout les obstacles et les difficultés. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à lui. Que Dieu lui donne longue vie et le protège, j'espère qu'il trouve ici le témoignage de mon profond amour,

attachement et respect.

Mes sœurs WARDA ET NASSIMA et leurs enfants.

Mes frèresRACHID ,Samir,bachir,yasser,hadje et leurs femmes et leurs enfants.

Mon cher amie nawel en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Bocuhra HAMZAOUI

Liste des abréviations

ATCC: American Type Culture Collection

BEN NT : ben chicao non traité

BEN T : ben chicao traité

CH N T : chiffa non traité

CH T : chiffa traité

DO : Densité Optique

DO: Densité Optique

E.coli : Escherichia coli.

GC : Guanine-Cytosine

GLM : Glucose à l'extrait de Malt et de Levure

GN : Gélose nutritive

H2S: Sulfure d'hydrogène

H2SO4 : Acide Sulfurique

ISP: The International Streptomyces Project

MA: Mycélium aérien

MH : Mueller- Hinton

MH: Muller Hinon

MS: Mycélium de substrat

NR: N itrate Réductase

OU N T :ouzera non traité

OU T :ouzera traité

pH: potentiel Hydrogène

RM: Rouge de Méthyle

S :souche

S.aureus : Satphylococcus aureus

SCA:Starch Casein Agar

TEM N T:Tamusguida non traité

TT : Tamusguida traité

V/V : Volume par Volume

VP: Voges Proskauer

Liste des tableaux

Tableau 1: Répartition de quelques genres d'actinomycètes par type d'habitat..... **05**

Tableau 2 : Classification des antibiotiques selon leur structure chimique..... **14**

Tableau 3 : Références des bactéries indicatrices. **34**

Tableau 4 : Résultats de l'isolement des actinomycètes à partir des 4 échantillons.....**41**

Tableau 5 : coloration de Gram **44**

Tableau 6 :Paramètres physicochimiques des quatre échantillons de sol **45**

Tableau 7 : Type de sol en fonction du taux d'humidité. **46**

Tableau 8 : Type de sol en fonction de la conductivité **46**

Tableau 9 : Tests physiologiques et biochimiques des isolats d'actinomycètes. **47**

Tableau 10 : Sensibilité des isolats d'actinobactéries aux différents antibiotiques **52**

Liste des figures

Figure1 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec des hyphes vivants (bleus-verts) et morts (blancs). Le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiosporessonreprésentés..... **04**

Figure 2 : Principaux genres dans les Actinomycètes **08**

Figure 3 : Applications biotechnologiques des actinomycètes..... **.....** **13**

Figure 4 : Principaux cibles et modes d'action des antibiotiques **16**

Figure5: pigements diffusibles produits par diverses actinobactéries dans le milieu amidon-caséine agar..... **20**

Figure 6 : Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes **22**

Figure 7 : Les différentes étapes du protocole expérimental **24**

Figure 8 : Localisation géographique de (Google Maps, 08/06/2021). **25**

figure 9: Sites de prélèvement (1chiffa,2 tamesguida,3 ben chicao,4 ouzera). **25**

Figure10 : Site de prélèvement des échantillons **26**

Figure 11: Préparation de la suspension-dilution et ensemencement sur le milieu de Gausse..... **29**

Figure 12:méthodes de conservation des souches à longue therme. **30**

Figure 13:préparation des frottis **31**

Figure14:les Antibiotiques utilisés **32**

Figure 15 Reactivation des souches de Référence (ATCC) **35**

Figure 16 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries sur milieu Mueller-Hinton par la méthode des cylindres d'agar. **36**

Figure17: l'activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries sur milieu Soja -Agar par la méthode des cylindres d'agar. **36**

Figure 18 : Résultats de l'isolement des actinomycetes à partir des trois échantillon de sol sur Milieu du ISP2. ..... **40**

Figure 19 : Cultures pures d'actinomycète à différentes pigmentations diffusibles **42**

Figure 20: Aspect microscopique de quelques souches d'actinomycètes après coloration..... de Gram(Gx40)..... **44**

Figure21 :Test de catalas positif **45**

Figure 22 :Test d'Hydrolyse de l'amidon est positif pour les isolats des actinomycètes **48**

Figure 23 :Test d'hydrolyse de la Lécithine en présence des actinomycètes. **49**

Figure 24 :Tests positif deréduction des nitrites pour les souches desactinomycètes. **50**
Figure 26 :Tests de sensibilité aux antibiotiques. **53**
Figure 27 : Cinétique de croissance des souches ben cheffa..... **54**
Figure 28 :Activité des isolats d'actinomycètes déterminée par la technique des cylindres d'agar vis à vis des germes cibles testés (*Escherichia coli, Salmonella typhimurium , Pseudomonas aeruginosa* .).
..... **59**
Figure 29 : Activité des isolats d'actinomycètes par la technique des cylindres d'agar..**60**
Figure 30 : Représentation graphique des pourcentages des isolats actinomycétales ayant une activitéantibactérienne vis-à-vis des souches tests utilisées. **61**
Figure 31 :Activité antagoniste des souches, déterminée par la méthode des cylindres d'agar vis-à-vis des germes cibles (*Escherichia coli ,Candida albican*). **62**

Sommaire

Abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux
Résumé
Introduction..... 01

1/ Revue bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les actinomycètes

1-1 les actinomycètes..... 03

1.2Morphologie 04

1.3 Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature..... 05

1.4. Physiologie des actinomycètes 06

2. Taxonomie des actinomycètes 07

3-Classification..... 08

4. Critères actuels d'identification 09

6- Importance des actinomycètes 11

Chapitre II : Les antibiotiques produits par les actinomycètes

II.1.Classification des antibiotiques 14

II.2.Mode d'action des antibiotiques 15

II.2.1.Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne 16

II.2.2.Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines..... 16

II.3 Métabolites des actinomycètes..... 17

II.3.1.Le métabolisme primaire..... 18

II.3.2. Le métabolisme secondaire..... 18

II.4.Les substances bioactives..... 18

III.Extraction et purification des antibiotiques..... 19

Parité II : Partie expérimentale

2/MATERIEL ET METHODES

I. ***Isolement des actinomycètes et mise en évidence de l'activité antimicrobienne (criblage).***

I.1.Période et lieu de stage..... 23

I.2. .L'objectif global 23

I.3. Protocole expérimental général..... 23

I.4.Site des prélèvements des échantillons..... 23

I.5. Caractéristiques physicochimique des échantillons..... 27

I.6. PréTraitement des échantillon …….. 27
I.7. Milieux de cultures utilisé …….. 27
I.8.Isolement des actinomycètes …….. 28
I.9. Purification des souches…….. 29
I.10. Conservation des souches…….. 29
II.Etude des caractéristiques des actinomycètes …….. 30
II.4.caractérisation physiologique et biochimique…….. 31
II.4.1..Hydrolyse de l'amidon…….. 31
II.4.2.Recherche de l'Uréase…….. 32
II.4.3. Test de sensibilité aux antibiotiques …….. 32
III. Mise en évidence de l'activité antibiotique des souches d'actinomycètes..... 34
III .1. Mise en évidence de l'activité antibiotique sur milieu solide …..…. 34
III.1.1. Microorganismes cibles…….. 34
III.1.2. Standardisation de l'inoculum …….. 34
III.1.3. Technique des cylindres d'agar…….. 35
III.2. Cinétique de croissance et de productio n d'antibiotique et suivi du pH…..… 37
III.2. 1. Cinétique de croissance…….. 37
III. 2.2 Cinétique de production d'antibiotique…….. 37
III.2.3. Evolution du pH…….. 38
3/Resultats et discussion
I. Isolement des actinomycètes ……. 39
I.1. Site et nature de prélèvement …….. 39
I**.2.** Isolement des souches actinomycétales isolées à partir le sol ……..39
I.3. purification et conservation des actinomycètes…….. 40
II. Etude morphologique ……. 43
III.Les caractéristiques physicochimiques des échantillons ……. 45
IV. caractérisation physiologique et biochimique …….. 47
IV.1. Etude cinétique de la croissance et de la production d'antibactériens ..…….. 53
V-Criblage des souches d'actinomycètes ..…….. 59
1-Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la technique des cylindres d'agar 59
Conclusion 64
Références bibliographiques
Annexes.

Résumé

L'objectif principal de cette étude est l'isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de nouvelles molécules bioactives.

L'isolement des souches d'actinomycètes a été fait en utilisant des échantillons de sol provenant du 4 régions par deux méthodes : tout les échantillons de sol provenant de tamesguida et ouzera et ben chicao et chiffa ont subis un traitement chimique au CaCO3 et traitement physique par chaleur.

des testes biochimiques et phisyolgique réalisés, a permis de rattacher des souches. au genre Streptomyces.

La mise en évidence de l'activité antimicrobiennes est réalisée sur milieu solide par la technique des cylindres d'agar et la production d'antibiotiques sur milieu SCA liquide, le suivie de la production d'antibiotiques et la cinétique de croissance et mesure du pH sont effectués quotidiennement,

Sur cinquante souches d'actinomycètes purifié , 16 souches ont été choisies pour la production d'antibiotiques en milieu liquide,

Ces résultats indiquent que les actinomycètes isolés du ces quatre régions constitue une source prometteuse pour l a découverte de nouvelles substances bioactives.

Mots clés : actinomycète, bioactive, activité antimicrobienne, *streptomyces,* cylindres d'agar

Abstract

The main objective of this study is the isolation and selection of actinomycetes strains producing new bioactive molecules.

The isolation of actinomycetes strains was done using soil samples from 4 regions by two methods: all soil samples from tamesguida and ouzera and ben chicao and chiffa underwent a chemical treatment with CaCO3 and physical treatment by heat.

Biochemical and phisyolgic tests carried out, allowed to attach strains to the genus Streptomyces.

Antimicrobial activity was demonstrated on solid medium by the agar cylinder technique and antibiotic production on liquid SCA medium. Antibiotic production and growth kinetics were monitored and pH was measured daily,

Out of fifty purified actinomycetes strains, 16 strains were selected for antibiotic production in liquid medium,

These results indicate that actinomycetes isolated from these four regions constitute a promising source for the discovery of new bioactive substances..

Key words: actinomycete, bioactive, , antimicrobial activity , *streptomyces*, agar cylinder.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو عزل واختيار سلالات من الفطريات الشعاعية التي تنتج جزيئات جديدة نشطة بيولوجيا.

تم عزل سلالات الفطريات الشعاعية باستخدام عينات التربة من أربع مناطق بطريقتين: جميع عينات التربة من تمزقيدة وزرة بن شيكاو وشفة خضعت للمعالجة الكيميائية باستعمال كربونات الكالسيوم و المعالجة الفيزيائية بالحرارة.

أجريت الاختبارات البيوكيميائية والفيزيولجية ، مما سمح بربط السلالات إلى جنس Streptomyces.

يتم الكشف عن النشاط المضاد للميكروبات على وسط صلب SCA باستعمال تقنية اسطوانات اجار.

يتم إجراء اسطوانات أجار وإنتاج المضادات الحيوية على وسط SCA ، ومراقبة إنتاج المضادات الحيوية وحركية النمو وقياس الأس الهيدروجيني يوميًا .

من بين خمسين سلالة من الفطريات الشعاعية المنقى ، تم اختيار 16 سلالة لإنتاج المضادات الحيوية في الوسط السائل.

تشير هذه النتائج إلى أن الفطريات الشعاعية المعزولة من هذه المناطق الأربعة تشكل مصدرًا واعد لاكتشاف مواد نشطة بيولوجيا جديدة.

الكلمات المفتاحية :الفطريات الشعاعية, نشطة بيولوجيا. اسطوانات أجار, *streptomyces* , نشاط مضاد للميكروبات.

Introduction

Depuis que l'utilisation répandue de la chimiothérapie antimicrobienne a commencé dans les années 1950, il est apparu, grâce à la surveillance des résistances, que presque tous les microorganismes pathogènes avaient développé une résistance à des agents chimiothérapeutiques, ceci en grande partie en raison de leur mauvaise utilisation. Les molécules de pénicilline et de sulfamide, les premiers agents chimio-thérapeutiques couramment employés, connaissent aujourd'hui une utilisation plus limitée parce que beaucoup de microbes pathogènes y sont résistants. Même les organismes où toutes les souches restent sensibles à la pénicilline, comme *Streptococcus pyogenes* (bactérie responsable d'angine, de la scarlatine et de rhumatismes articulaires) exigent maintenant des doses plus fortes de pénicilline qu'il y a dix ans, pour une efficacité de traitement égale **(Madigan et Martinko, 2007).**

Devant cette émergence de l'antibiorésistance, la découverte de nouvelles molécules représente donc un besoin qui ne peut être comblé selon**(Kitouni, 2007)** que soit par :

- L'extraction de nouveaux dérivés chez des mutants de souches répertoriées.
- La réalisation de nouvelles molécules semisynthétiques à partir de structures connues ou la synthèse de nouveaux dérivés.
- L'analyse des produits de fermentation de nouvelles espèces bactériennes ou fongiques isolées d'écosystèmes peu ou pas explorés.

Pour ces trois approches, les actinomycètes sont les candidats les plus potentiels pour la production d'antibiotiques.

La principale source d'antibiotiques est représentée par les microorganismes qui, depuis longtemps font l'objet de nombreuses recherches et ont permis et permettent toujours la découverte de métabolites secondaires intéressants et exploitables par l'homme. Selon **(Breton *et al* ; 1989)**, Les actinomycètes représentent la principale source de métabolites à activité anticellulaire 43 %.. Ces actinobactéries sont des microorganismes procaryotes ayant un pourcentage de guanine-cytosine élevé (supérieur à 55%) qui les différencie des autres bactéries. En outre, elles forment phylogénétiquement une branche à part et sont caractérisées par une très grande diversité morphologique, pouvant aller de la forme cocci à la forme mycélienne parfaite **(Goodfellow, 2012).**

L'intérêt des actinomycètes dans les différents domaines est d'une grande importance. En effet, ils sont très utiles dans la biodégradation de la matière organique et le recyclage des éléments dans les sols et interviennent dans la lutte biologique contre les maladies des

plantes, grâce à leur grande aptitude à produire différentes substances inhibitrices vis-à-vis des autres microorganismes telluriques **(Goodfellow et Williams, 1983).**

Dans le présent mémoire nous nous sommes fixés comme objectif d'isoler les souches d'actinomycètes, de sélectionner et de déterminer les meilleures souches actives contre des bactéries et des champignons pathogènes, de les identifier et d'étudier les antibiotiques produits par la meilleure souche antagoniste.

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire pédagogique de l'université Dr Yahiya Fares Médea, ainsi qu'au laboratoire de microbiologie et physiquo-chimie du groupe Saidal antibiotical, Médea, Dans cette optique, l'objectif principal de notre étude consiste en l'isolement de souches d'actinomycètes productrices de substances à activité antibactérienne à partir le sol.

Ce travail est présenté en trois chapitres:

- Le premier chapitre est relatif à une synthèse bibliographique en rapport avec le thème abordé.
- Le deuxième chapitre est consacré à la présentation du matériel utilisé et à la description des méthodes effectuées.
- Le troisième chapitre comporte les résultats et discussions lesquels sont présentés en quatre parties:
    - L'isolement des souches d'actinomycètes à partir d'échantillons de sols provenant de quatre régions : Cheffa ,Tameuzguida ,Ben chicao ;Ouzera
    - La mise en évidence de l'activité antibactérienne de souches sélectionnées vis-à-vis de bactéries pathogènes et, levures et champignons.
    - identification des souches sélectionnées par l'étude des caractères morphologiques, phisico-chimique.
    - Sélection des souches productrices d'antibactériens et la mise en évidence de cette activité.
    - Production d'antibiotique sécrétées par les actinomycètes.

Enfin, le manuscrit se termine par une conclusion qui permettra de tirer quelques perspectives de prolongement à ce travail.

Chapitre I

Généralités sur les actinomycètes

1. Les actinomycètes

1.1. Définition et historique

Waksman divise en quatre grandes catégories l'histoire des actinomycètes **(Boudmaghe, 2007)** :

- La première période de (1874-1890) est celle de la découverte de leur rôle dans la pathologie.
- La seconde période (1900-1919) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de Kraisky, de Cohn, de Waksman et de Curtis .
- La troisième période (1919-1940) au cours de laquelle une meilleure connaissance des germes a été acquise grâce aux recherches de Waksman, de Lieske, de Krassilnikov.
- La dernière époque historique, enfin, est celle des antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle commence en 1940 et le nom de Selman Waksman lui est indissolublement lié.

Les Actinomycètes sont des bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies circulaires constituées d'hyphes **(Eunice et Prosser, 1983),** c'est-à-dire de filaments qui irradient par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance. **(Gottlieb,1973; Lechevalier et Lechevalier, 1981; Eunice et Prosser, 1983).**

Le mot «Actinomycètes» provient de deux substantifs grecs « Aktis » et «mykes» qui signifient «champignons à rayon» ou «champignons rayonnants». Leur cycle biologique est semblable à celui de certains champignons, mais leur structure procaryotique, sans noyau distinct,Ils sont classés parmi lesbactéries.

Les Actinomycètes constituent l'ordre des Actinomycétales **(Mariat et Sebald, 1990).** Ce sont des procaryotes à coloration Gram positif **(Williams *et al ;* 1993; Sanglier et Trujillo,1997)** dont le coefficient de Chargaff (GC%) est supérieur à 55%, généralement compris entre60 et 75% **(Ensign, 1978; Larpent et Sanglier, 1989; Chunetal.,1997).** Leur croissance est plus lente que celle des autres bactéries; le temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures **(Ottow et Glathe, 1968; Larpent et Sanglier, 1989).** Physiologiquement, les Actinomycètes sont aérobies mais certaines sont aérobies facultatives. La plupart des Actinomycètes sont neutrophiles, avec une croissance maximale à pH neutre ou légèrement alcalin **(Lee et Hwang, 2002).** Ils sont généralement mésophiles, cependant, il existe des souches thermophiles isolées à une température située entre 50°C et 60°C **(Edwards,1993).** En général, les Actinomycètes sont des microorganismes hétérotrophes

mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimioautotrophe **(Ensign *et al* ;1993).**

1.2 Morphologie

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, séptées, ramifiées, à coloration de Gram positive **(NANJWAD *et al* ; 2010).** La morphologie des différents groupes d'actinomycètes est très variable, elle va de formes peu évoluées comme Mycobacterium, à des formes très évoluées comme le genre Streptomyces qui forme un véritable mycélium non fragmenté et sporulant **(SMAOUI, 2010)**

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier ce compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forme seulement une masse de filaments ramifié.

Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier **(LECHEVALIERetLECHEVALIER, 1985).** La figure ci-dessous nous montre une coupe transversale d'une colonie d'actinomycète.



Figure 1 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec des hyphes vivants (bleus-verts) et morts (blancs). Le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores sont représentés **(PRESCOTT et al., 2003).**

Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

· Des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu

· Des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides

· Des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

1.3 Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux écologiques **(GOODFELLOW*et al* ;1983)** . Elles peuvent être dans les sols, dans les eaux douces ou salines et dans l'air. Toutefois, elles sont particulièrement abondantes dans le sol, spécialement dans les sols alcalins et les sols riches en matières organiques où elles constituent une part importante de la population microbienne **(LOQMAN, 2009).**

Tableau 1 :Répartition de quelques genres d'actinomycètes par type d'habitat **(GOODFELLOW*et al* ; 1983).**

Genre	Habitat
Actinomadura	Sol
Actinoplane	Sol,Eau,Litière
Frankia	Nodules des racines
Microbiospora	Sol
Micromonospora	Sol, Eau
Rhodococcus	Sol,Eau,Fumier,Litière,Matière en décomposition
	Sol,Eau,Litière
Saccharomonospora	Sol, Eau
Streptomyces	Matière en décomposition et en fermentation
Steptosporangium	

1.3.1 Les sols

Les actinomycètes sont largement répandus dans tous les sols à l'exception des sites exposés à des conditions extrêmes. Ils sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol et jusqu'à 2 m de profondeur. Ils produisent des substances spécifiques tels quela géosmine et le 2-méthyl isobornéol (MIB) qui sont responsables de l'odeur d'humus caractéristique des sols **(Omura, 1992 ; Zaitlin*et al ;* 2003).** Leur nombre varie dans de fortes proportions selon les cas mais il est courant dans des terres fertiles de dénombrer 106 unités formants colonies par gramme de terre sèche.

Leurs proportions par rapport aux autres microorganismes oscillent entre 10 et 50 %. Les genresStreptomyces, Nocardia et Micromonosporasont les plus fréquents, le genre Streptomycescouvre, à lui seul, 95 % des souches d'actinomycètes isolées **(Omura, 1992 ; Zaitlin*et al ;* 2003**).

1.3.2 L'air

La présence d'Actinomycètes dans l'air, sous forme de propagules, est proportionnelle aux poussières dispersées par le vent.

L'aire constitue pour les actinomycètes un moyen de transport non pas un habitat **(Gazenko *et al* ; 1989 ; Reponen et al., 1998).** Les actinomycètes se développent et libère leurs spores dans l'air provoquant lorsque elles sont inhalées des maladies respiratoires **(Gazeno *et al* ;1985 ; Suntari *et al* ;2002).**

1.3.3 Les composts

Des actinomycètes ont été isolés des composts, il s'agit de genres thermophiles tels que Thermoactinomyces, Sacharomonosporaet d'autres thermotolérants tels que Microbispora, Micropolyspora, Pseudonocardia. Les actinomycètes sont actifs dans les derniers stades du compostage. Ils se sont spécialisés dans l'attaque des structures plus résistantes comme la cellulose, l'hémicellulose et la lignine **(Ensign*et al* ;1993 ; Lacey, 1997; Song *et al* ; 2001).**

1.3.4 Eaux douces et milieux marins

Les Actinomycètes ont été également isolés à partir des environnement aquatiques tels l'eau marine et les sédiments marins **(Jansen *et al* ;1991 ; Ghanem *et al* ;2000)**

L'écologie des actinomycètes marins a été discutée par Goodfellow et Williams en 1983 **(Goodfellow et Williams, 1983)** , Il a été démontré que les actinomycètes constituent une petite partie de la flore totale marine, mais leur nombre est faible par comparaison à celui dans dans les eaux douces ou les sols **(Kitouni *et al* ;2005).**

1.4 Physiologie des actinomycètes

Au niveau du sol, les actinomycètes représentent l'une des principales communautés microbiennes. Leur présence est significativement influencée par les conditions environnantes l'humidité, la température, le pH, la salinité, le type de sol, la profondeur dans le sol, les faibles taux d'humidité, la nature et l'abondance de la matière organique et la végétation du sol **(Sykes et Skinner, 1973 ; Basilio, 2003).**

1.4.1 Le taux d'humidité

En général, les actinomycètes ont été isolés dans des sols contenant des taux faibles jusqu'à modérés d'humidité, ce qui suggère qu'ils ne sont pas beaucoup influencés par les conditions semi-arides **(Oskay *et al* ; 2004 ; Prescott *et al* ;2007).**

1.4.2 Oxygène

On peut deviser les actinomycètes en deux groupes selon leurs types respiratoires :

- Les formes fermentatives anaérobies strictes ou facultatives, représentées par le genre typeactinomyces, ils sont commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs.

- Les formes oxydatives aérobies, telles que les Streptomyces, sont abondantes dans la¬ nature en particulier sur le sol **(Avril *et al ;* 1992).**

1.4.3 .Température

La température optimale des actinomycètes mésophiles est situé entre 25 et 30 C°. Selon **(Holt *et al ;*1994),** il existe des espèces thermophiles et même psychrophiles dans le genreThermoactinomyces dont la température optimale peut atteindre 60°C, comme Streptomycesthermocoprophilus(**Kim *et al ;* 2000 ; Rangaswami *et al ;*2004).**

1.4.4. pH :

La plupart des actinomycètes du sol sont neutrophiles et croissent dans un intervalle de pH compris entre 5 et 9 avec une croissance optimale à pH neutre ou légèrement alcalin **(Lee et Hwang, 2002).** Les procédures d'isolement ont été traditionnellement basées sur ce caractère de neutralité

Des travaux ont montré l'existence d'une large diversité d'actinomycètes acidophiles qui différent morphologiquement des espèces neutrophiles (Basilio, 2003). Les souches acidophiles croissent à des valeurs de pH comprises entre 3.5 et 6.5 avec un pH optimal de croissance compris entre 4.5 et 5.5 tel que : Streptacididiphillusjiangxiensis **(Huang *et al* ;2004)** et Streptacidiphilusorzae **(Wang *et al ;* 2006).**

1.4.5 Activité de l'eau

Généralement, les actinomycètes ont été isolés à partir des sols à des taux faible jusqu'à modérés d'humidité, ce qui permet de dire qu'ils ne sont pas trop influencés par les conditions semi-arides **(Oskay et al., 2004 ; Prescott *et al ;* 2007).** L'activité d'eau optimale pour leur croissance et leur développement est d'environ 0,98 **(Zvyagintsev *et al ;*2005).**

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

2. Taxonomie des actinomycètes

Les actinomycètes appartiennent au règne des Procaryotes, à la division des Firmicuteset à l'ordre des actinomycétales, ce dernier est divisé en 10 sous ordres Actinomycineae, Micrococcineae,Corynebacterineae,Micromonosporineae,Propionibacterineae, Pseudonocardineae, Streptomycineae,Streptosporangineae,Frankineae et Glycomycineae **(Larpent, 2000).** En se basant sur les caractéristiques de la paroi : le type de l'acide diamino-pimélique, la présence de la glycine dans les ponts inter-peptidiques et le contenu en sucres du peptidoglycane **(Lechevalier,1980).**

D'autres propriétés morphologiques et génétiques précieuses sont utilisées dans la taxonomie des actinomycètes, telles que, la couleur des mycéliums et des sporanges, la disposition des conidiospores, le pourcentage en GC de l'ADN, la composition en phospholipidique des membranes cellulaires et la résistance des spores à la chaleur **(Prescott *et al ;*2003).** Les bactéries associées au groupe des actinomycètes filamenteux sont toutes très proches d'un point de vue phylogénétique **(Madigan et Martinko, 2007).**Des techniques plus nouvelles ont été appliquées à la taxonomie des Actinomycètes, la comparaison des séquences de l'ARNr 16S s'est révélée précieuse **(Prescott *et al ;*2003).**Une autre technique consiste à extraire des fragments d'ADN digérer par des enzymes de restriction, séparer et comparer par la technique d'électrophorèse en champ pulsé **(Prescott *et al ;*2003).**

Cependant, la classification traditionnelle, comportait quatre grandes familles à été profondément remaniée par les techniques nouvelles citées ci-dessus.

Actuellement, dans l'ordre des Actinomycétales, plus de trentaine familles telles que Mycobactériacées, Actinomycétacées(ou Proactinomycètes), Streptomycétacées, Actinoplanacées **(Figure 2) (Henri, 1969).**

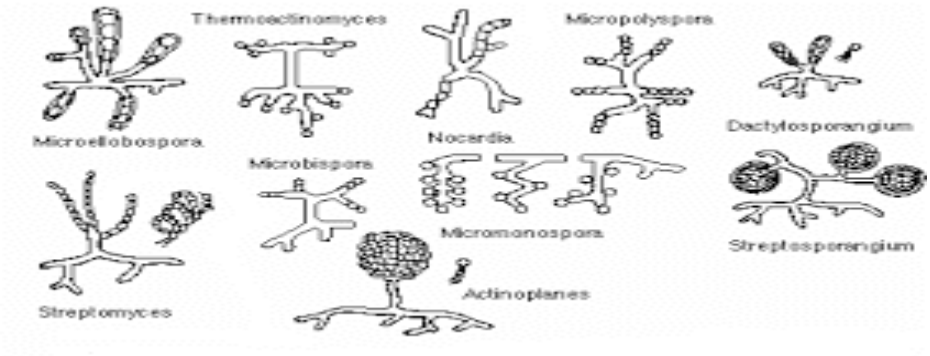


Figure 2 : Principaux genres dans les Actinomycètes **(Stanier, 1965).**

3. Classification

3.1. Mycobactériacés

Ceux-ci ont une morphologie voisine à celle des bactéries, comme ils ont des affinités avec les Corynebacteries et les bactéries lactiques. L'acido résistance est la seule propriété quiles fait séparer des autres familles. Spécialisés avec leur mycélium rompant avec bâtonnetsramifiés et irréguliers. Leur genre illustrant Mycobacteriumcompte certaines espècespathogènes d'où la plus connue est Mycobacteriumtuberculosis l'agent de la tuberculose**(Stanier, 1965).**

3.2. Actinomycétacées (ou Pro-Actinomycètes)

Cette famille est représentée par les genres Nocardiaet Actinomyces. Le genre Nocardiacomprend de nombreuses espèces très répandues dans le sol. Les colonies, difficiles à distinguer des colonies bactériennes **(Figure. 2) (Stanier, 1965)**.

3.3 Streptomycètacés

Il s'agit d'un groupe hétérogène mais dont tous les membres possèdent de l'acide diaminopimélique et de la glycine dans le peptidoglycane. Des hyphes stables sont formés et peuvent produire des mycéliums aériens avec de longues chaines de spores (c'est le cas de Streptomyceset de Streptoverticillium) **(Locci, 1989).**

Parmi les genres de cette famille : **Le genre Streptomyces**

Les Streptomyces représentent le genre majoritaire des Streptomycetacés (95,34 %). Il s'agit de bactéries du sol filamenteuses, dont les hyphes, de longueur variable, ont un diamètre compris entre 0,5 et 2,0 µm. ils se diffèrent par rapport à Nocardiapar leur mycélium végétatif persistant à n'importe quel stade du développement en plus par leur reproduction qui se fait par les conidies en chaine. Leur cycle biologique est semblable à celui des champignons **(Breton et al.,1989).** Quelques espèces sont pathogènes pour les hommes et les animaux et d'autres sont phytopathogénes **(Locci, 1889).**

3.4.Les actinoplanacées

Les espèces appartenant à cette famille ont un cycle qui présente un stade mobile (sporangio sporesmobiles). Le genre Actinoplanesest aquatique (**Figure. 2**) **(Stanier,1965).**

4. Critères actuels d'identification

La définition des genres et des espèces se fonde sur un ensemble de caractères morphologiques, fonctionnels, chimio taxonomiques et génomiques. L'ensemble des caractéristiques de chaque taxon bactérien est répertorié dans le manuel Bergey, un ouvrage

de référence pour la taxonomie des bactéries, qui comprend un volume en deux parties dédié aux Actinobacteria **(Bergey'sManual of Systematic Bacteriology,2012).**

4. 1 Critères morphologiques

Les caractères morphologiques principalement utilisés dans la classification des actinomycètes sont **(Silini, 2012)** :

- La présence de l'importance et la disposition des hyphes du mycélium du substrat ou du mycélium aérien
- La présence de spores, leur mobilité, leur disposition sur les hyphes et leurs formes.

4.1.1 . Caractéristiques micromorphologiques

La micromorphologie de quelques genres principaux est schématisée dans la **figure2**. Elle est déterminée par observation directe au microscope optique (objectifs 10 et 40) des cultures poussant sur les milieux gélosés. Certains détails nécessitent l'observation entre lame et lamelle en utilisant l'objectif 100 du microscope optique ou parfois l'utilisation du microscope électronique à balayage ou à transmission **(Tresner et al., 1961).** Les observations portent sur le MA et le MS.

4.1.1.1.Mycélium aérien (MA)

- MA stérile, fragmenté ou sporulant.

- spores mobiles ou non, isolées ou regroupées par 2, par 4 ou en chaînes plus ou moins longues.

Les spores peuvent être sessiles ou portées par des sporophores courts ou longs ou encore formées anarchiquement sur le MA. Les chaînes de spores peuvent être droites à flexueuses (type RF = Rectus Flexibilis), en crochets ou en boucles fermées (type RA = Retinaculum Apertum) ou encore spiralées (type S = Spira). La surface des spores (observée au microscope électronique) peut être lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue.

- présence ou non de structures particulières comme les sporanges, les sclérotes les synnemata ou les endospores.

4.1.1.2.Mycélium du substrat (MS)

MS stérile ou non, fragmenté ou persistant. production ou non de spores (mobiles ou non) ou de sporanges.

5. Caractéristiques micromorphologiques

La taxonomie et l'identification des genres des actinomycètes sont basées sur plusieurs critères ; morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires **(Smaui S , 2010)**

5.1.Morphologiques : le mycélium est fragmenté ou non, présence ou non de mycélium aérien, couleur des mycélia, production des spores, etc.

5.2.Moléculaires : détermination du (G+C)%, séquençage des gènes de l'ARNr 16S, Hybridation ADN-ADN.

6- Importance des actinomycètes

6.1.Dans le domaine pharmaceutique, médical et vétérinaire

Les actinomycètes sont particulièrement utiles à l'industrie pharmaceutique pour la capacité de produire des métabolites secondaires de diverses structures chimiques et d'activité biologique **(Oskay, 2011).** Les actinomycètes sont les producteurs d'antibiotiques les plus efficaces dumonde vivant. Plus des deux tiers des quelques six mille antibiotiques isolés jusqu'icisont produits par cet ordre de bactéries par exemple : l'actinomycine, streptomycine,néomycine, candicidine, etc. **(Berdy, 2005).**

Près de 20% des antibiotiques sécrétés par les streptomycètes ont un pouvoir antifongique, les 80% restants ayant des propriétés assez diverses :antibactériennes, antibactériennes et antifongiques à la fois, antivirales, insecticides, antihelminthes etc.**(Buckingham, 1997).** Ce qui a fait des streptomycètes les principaux organismes producteurs d'antibiotiques exploités par l'industrie pharmaceutique. Les membres de groupe streptomycètes sont, en outre, producteurs de médicaments antitumoraux cliniquement utiles tels que les anthracyclines (aclarubicine, daunomycine et doxorubicine), les peptides (bléomycine et actinomycineD), les acides auréoliques (mithramycine), les édiédynnes (néocarzinostatine), l'antimétabolites (pentostatine), carzinophiline, mitomycines et autres **(Olano*et al*. 2009).**Plusieurs études ont fait état d'actinomycètes produisant de nouveauxmétabolites ayant des activités antivirales contre plusieurs virus pathogènes,notamment le virus de l'encéphalite équine occidentale, le VIH-1, le virus Zika, le virusde l'herpès simplex résistant à l'acyclovir de type 1 ainsi que les virus grippaux A et B (**Jakubiec-Krześniak*et al.*2018 ; Chiba *et al.*2004 ; Sacramento *et al ;*2004).** Les antibiotiques des actinomycètes sont utilisés aussi dans le traitement de certaines maladies des plantes **(Tomita *et al* ;1990).** En plus, les antibiotiques produitspar les actinomycètes ont également trouvé une application dans les élevages industriels d'animaux **(Khachatourians, 1998).** En effet ils sont utilisés non seulement pour combattre

les maladies, mais aussi dans l'alimentation pour accroitre les rendements zootechniques **(Schwarz *et al* ; 2001).**

6.2. En agronomie

Les actinomycètes ont un rôle important dans le recyclage de la matière organique grâce à leur capacité de dégrader des substances complexes et incapables d'êtres décomposer par les autres bactéries non mycéliennes et les champignons **(Lamari, 2006),** telles que la lignine, la cellulose, la chitine, la kératine **(**cité par **Bakour, 2006).** Ils participent donc activement à la fertilisation des sols et décomposent les déchets urbains à haute teneur en produits chimiques

Les actinomycètes exercent une influence sur la croissance des plantes, et protègent les racines contre les invasions des champignons **(Yilma *et al* ; 2008).** Certains antibiotiques sécrétés par les actinomycètes ont trouvé une application dans la lutte contre quelques maladies des plantes, comme c'est le cas de la kasugamycine, les polyoxines et la blasticidine. Ces derniers ont été isolés grâce à leur très forte activité contre certaines maladies du riz et sont utilisés depuis longtemps et à grande échelle dans l'agriculture japonaise **(Lamari, 2006).**

6.3. En biotechnologie

Ce sont des microorganismes d'intérêt industriel par excellence, un producteur important des antibiotiques et d'autres molécules et substances bioactives **(Yala, 2001).** Jusqu'ici, environ deux tiers des antibiotiques connus ont été sécrétés par les actinomycètes **(Xue, 2009),** le genre Streptomyces sécrète plus de 80% de ces molécules et il est très exploité **(Badji *et al* ; 2006).**

La majorité des antifongiques naturels est d'origine microbienne et près de la moitié est synthétisée par les actinomycètes, en particulier, par Streptomyces **(Badji *et al* ; 2005).** En ce qui concerne l'activité antifongiques des actinomycètes, elle ne se limite pas seulement aux champignons filamenteux mais s'entend aux levures et aux dermatophytes.

Ils sont également une source prometteuse de large gamme d'enzymes importantes, qui sont produites à l'échelle industrielle (Laccase, tyrosinase et cellulase…ect). Ils produisent des inhibiteurs enzymatiques utiles pour le traitement du cancer et les immunomodifiants qui améliorent la réponse immunitaire, ils ont la capacité de dégrader une large gamme d'hydrocarbures, de pesticides et de composés aromatiques et aliphatiques **(SKplovska *et al* ;2003),** ils effectuent des transformations de composés organiques.

De nombreux genres d'actinomycètes peuvent être potentiellement utilisés dans la bioconversion des déchets agricoles et urbains sous-utilisés en produits chimiques de haute

valeur. Leur potentiel métabolique offre un domaine de recherche important, la **Figure 03** (ci dessous) présente une brève description des applications importantes des actinomycètes

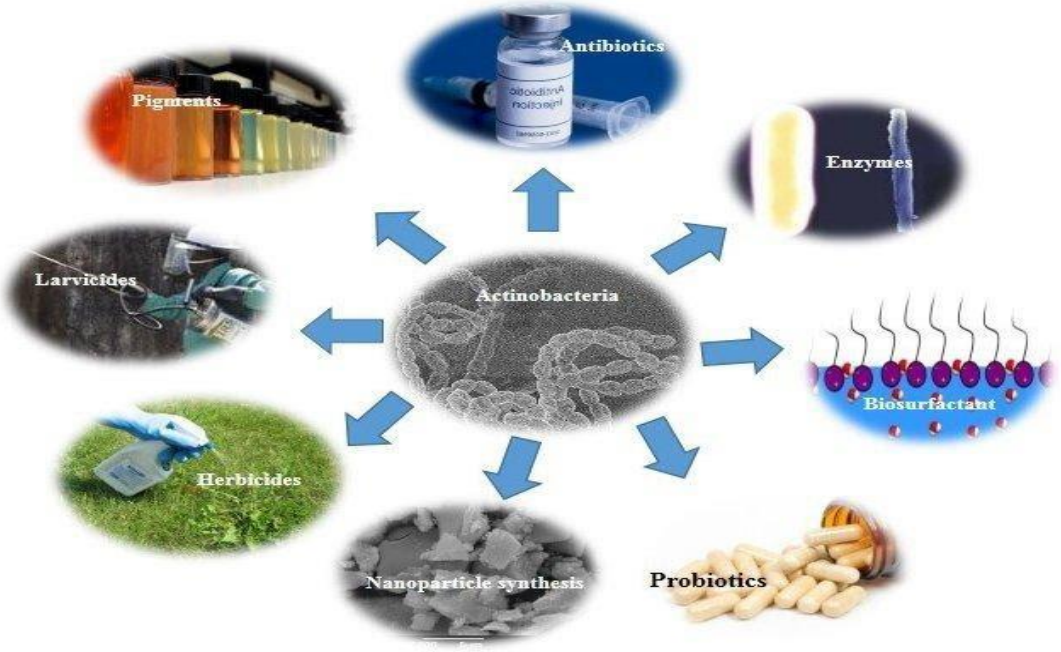


Figure 3 :Applications biotechnologiques des actinomycètes **(Anandan, 2017).**

6.4.Les Actinomycètes en tant que microorganismes pathogènes et nuisibles

Les actinomycètes peuvent être phytopathogènes. Nocardia vaccini, Rhodococcus fasciens et quelques espèces de Streptomyces dont S.scabies, infectent plusieurs plantes. Dont la pomme de terre **(GoodFellow et Williams, 1983)**. Plus nombreux sont les genres et espèces d'actinomycètes pathogènes pour l'homme et les animaux. Certains sont connus depuis très longtemps, comme les agents de la tuberculose et la lèpre (Mycobacterium). Des espèces comme *Nocardia asteroides, Actinomyces israelii, Dermatophilus congolensis, Streptomyces somaliensis*, sont également responsables de diverses infections telles que les antimycoses, les nocardioses pulmonaires et systémiques. D'autres genres et espèces peuvent être des pathogènes opportuniste **(Mishra *et al* ; 1980; Lechevalier1981)**. Certains sont responsables de sérieuses réactions d'hypersensibilité et d'allergies pulmonaires **(Lacey, 1981)**.

Chapitre II

Agents antimicrobiens des actinomycètes

II .Les antibiotiques produits par les actinomycètes

II.1Classification des antibiotiques

La diversité et la complexité des antibiotiques imposent la nécessité de les classer selon plusieurs critères :

II 1.1.Structure chimique

Selon la structure chimique assez proche des antibiotiques, près de 7000 de ces molécules ont été classées dans 9 familles et dans de nombreuse sous familles **(Boudjelal, 2012).**

Tableau 2 :Classification des antibiotiques selon leur structure chimique **(Boudjel *et al* ;2012).**

Familles	Sous familles	Exemples
Antibiotiques contenant des glucides	-Glucides purs -Aminoglycosides -Glycopeptides	-Nojirimycine -Streptomycine, gentamicine, kanamycine. -Vancomycine, ristocétine
Lactones macrocycliques	-Macrollides -Polyènes -Macorlactames	-Erythromycine, spiramycine -Nystatine, amphotéricine -Maytansine
Quinones et antibiotiques apparentés	-Composés polycycliques linéairement accolés -Anthraquinones -Naphtoquinones -Benzoquinones	-Tétracyclines -Anthracycline -Rubomycin -Mitomycines, saframycine
Acides aminés et peptides	-Dérives d'acides aminés -Homopeptides -Depsipeptides -Lipopeptides	-Péniciline, cyclosérine -Bacitracine -Valinomycine -Polymyxines
Antibiotiques hétérocycliques contenant l'azote	-Hétérocycle non accolés -Hétérocyles condensés	-Mildiomicine -Phénazines
Antibiotiques hétérocycliques contenant l'oxygène	-Dérivés du furane -Polyéthers	-Monensine

Antibiotiques aromatiques	-Composés benzéniques -Composés aromatques condensés -Autres dérivés	-Chloramphénicol -Griséofulvine -Novobiocine
Antibiotiques alicycliques	-Dérivés du cyclo-alcane -Terpène -Oligoterpènes	-Cycloheximide -Acide marasmique -Acide fusidique
Antibiotique aliphatiques	-Dérivés d'alcanes -Dérivés des acides carboxyliques aliphatiques -Composés contenant du phosphore	-Elaiomycine -Cérulénine -Fosfomycine

II.1.2.Spectre d'action

Le spectre d'action d'un antibiotique se caractérise par l'effet de cette molécule sur une espèce bactérienne en tenant compte des résistances naturelles et acquises de cette dernière. L'établissement de ce spectre est une étape primordiale avant la mise sur le marché d'un antibiotique donné. Ce spectre est évolué en fonction de l'apparition de résistances chez certaines espèces et de l'expérience clinique **(Cavallo et Mérens, 2008).**

II.1.3. Origine de l'antibiotique

Les antibiotiques proviennent des moisissures ou champignons, des bactéries ou même de la synthèse partielle ou totale. Les espèces de Streptomycesreprésentent les plusimportantes sources d'antibiotiques utilisées en thérapeutique **(Mazri, 2015).**

II .2.Mode d'action des antibiotiques

Le mode d"actiond"un antibiotique est en relation avec sa structure chimique. En général, à chaque classe d'antibiotique est associé un site d"action dans la cellule microbienne. Ce site peut être la paroi cellulaire, la membrane plasmique, les ribosomes ou les composants génétiques (figure 4). Cette activité se manifeste sous forme d"inhibition enzymatique de type compétitif par analogie structurale (ex.:cyclosérine), de fixation sur les sous-unités ribosomiques (ex.: macrolides), d"inhibition de la formation des liaisons peptidiques au

niveau des ribosomes (ex.: chloramphénicol), de complexion avec des enzymes (ex.: sulfamides), etc.

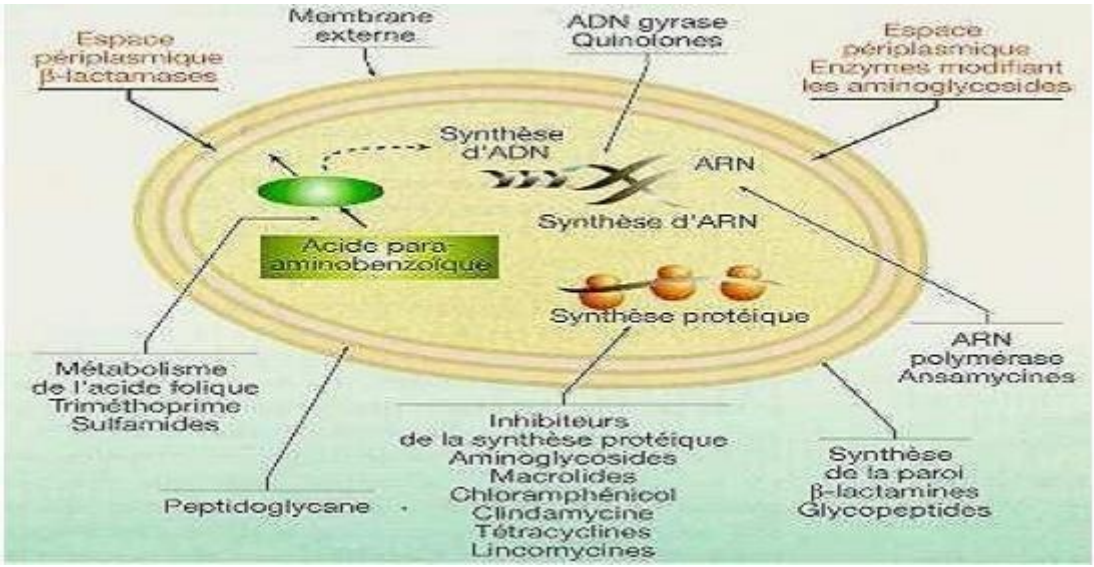


Figure 4 :Principaux cibles et modes d'action des antibiotiques **(Davies et Mazel, 1997)**

II.2.1. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne

La synthèse de la paroi bactérienne comporte trois étapes successives : qui se passe à l'intérieur de la bactérie, consiste en la formation des unités de base, l'UDPacéthyl-glucosamine et l'UDPpassage par un système de transporteurs lipidiques à travers la membrances deux précurseurs et leur addition pour former une molécule de disaccharide. Au cours de la troisième étape, cette molécule s'intègre au peptidoglycane préexistant et, à cestade, deux enzymes essentielles interviennent : une transglycosylase **(Smaoui, 2010).**Chacune de ces trois étapes peut être perturbée par l'action des antibiotiques. Parexemple, les β-lactames inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane.

II .2.2.Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines

Ce sont les plus nombreux, comprenant notamment les macrolides, les streptogramines, les tetracyclines, les aminosides (ou aminoglycosides), le chloramphenicol, l'acide fusidique (**NyOnyNdrinarijaona, 2004).**

II 2.2.1.Macrolides

Les macrolides sont des macrolactones qui inhibent la synthèse protéique bactérienne en se fixant sur l'unité 50 S du ribosome. Ils sont des bactériostatiques **(Hazar, 2010).**

II 2.2.2Aminoglycosides

Les aminosides agissent également au niveau des ribosomes bactériens. Ils se fixent sur des sites des sous-unités 30S et/ou 50S des ribosomes entraînant leur déformation et perturbent ainsi la synthèse des protéines. Les aminosides induisent également des erreurs de lecture de l'ARN messager provoquant ainsi une synthèse protéique anormale **(Merad, 2014).**

II 2.2.3.Chloramphénicol

On trouve, le thiamphénicole, le florfénicole, et le chloramphénicol. Ce sont des bactériostatiques, ils agissent au niveau de la sous unité 50 S du ribosome, et ceci a pourconséquence une inhibition de la synthèse des protéines (Hazar, 2010). Ils ont un effetbactériostatique **(Lavigne, 2007).**

II .2.2.4. Tétracyclines

Les tétracyclines sont des molécules naturelles et hémi-synthétiques qui inhibent la traduction en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome et bloque ainsi la croissance bactérienne **(Oberlé, 2012 ; Lavigne, 2007).**

II .3.Métabolites des actinomycètes

II .3.1.Le métabolisme des actinomycètes

La différenciation morphologique s'accompagne d'une différentiation métabolique. Un métabolisme secondaire se met en place donnant lieu à la biosynthèse de composés d'une extraordinaire diversité de structures et d'activités biologiques **(Choulet, 2006).** Deux des propriétés les plus significatives des Actinomycètes sont leur capacité à se développer sur les substrats les plus divers et leur aptitude à synthétiser de très nombreux métabolites bioactifs **(Theilleux, 1993).** En effet, la streptomycine fut le premier antibiotique ayant pour origine une souche de Streptomyces.

D'après **(Tarkka et Hampp ,2008),** les métabolites secondaires des Streptomycètes peuvent être séparés en quatre classes distinctes en fonction de leur activité biologique :

-Agents antagonistes, comportant des antibiotiques, des antifongiques, des antiprotozoaires et même des antiviraux.

- Agents pharmacologiques tels que des antitumoraux et des inhibiteurs d'enzymes.
- Agents agrobiologiques tels que des pesticides et des herbicides.
- Composés à activité régulatrice, tels que des facteurs de croissance.

Ces propriétés traduisent la richesse tout à fait remarquable du métabolisme cellulaire dece groupe microbien **(Theilleux, 1993).**

La diversité métabolique de la famille des Actinomycetaceaeest due à leur génome de grande taille qui renferme des centaines de facteurs de transcription contrôlant l'expression des gènes, leur permettant de répondre à des besoins spécifiques **(Singh *et al ;* 2006).**

II 3.2.Le métabolisme primaire

Le métabolisme primaire des actinomycètes est semblable à celui des autres organismes. Les métabolites primaires ou généraux essentiels forment la structure cellulaire et permettent le fonctionnement du métabolisme général **(Theilleux, 1993).**

II 3.2.Le métabolisme secondaire

Le métabolisme secondaire se différencie du métabolisme primaire par le fait qu'il concerne des métabolites non directement impliqués dans la croissance et la vie de l'organisme **(Theilleux, 1993).** De manière générale, le métabolisme secondaire est considéré comme l'ensemble des voies de synthèse de composés qui n'ont ensuite pas des fonctions apparentes dans le métabolisme cellulaire **(Colombié, 2005).**

Parmi les microorganismes producteurs de métabolites secondaires possédant une activité anticellulaire, 70% appartiennent au groupe des Actinomycètes et parmi eux, on trouve 95% de Streptomyces. Environ 21% de ces métabolites présentent une activité antifongique se répartissant également entre substances de structure polyénique et nonpolyénique**(Bastide *et al* ; 1986).**

Après les antibiotiques, les enzymees sont les produits industriels les plus importants des actinomycètes **(Theilleux, 1993).** En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telles que des amylases, des cellulases, des xylanases et des lipases **(Park *et al* ;2002).**

Les protéases d'actinomycètes sous forme libre ou immobilisées sont employées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, en tannerie et comme additifs dans les détergents (ex : **pronase de S.griseus) (Theilleux, 1993).** Par ailleurs, les Actinomycètes produisent de fortes quantités de chitinases et de β-1-3- glucancase et causent des plasmolyses et des lyses des parois cellulaires des germes pathogènes **(Conn, 2005).**

II .4.Les substances bioactives

II.4.1. Les enzymes

Les enzymes sont les produits industriels les plus importants desactinomycètes **(Theilleux, 1993)**. En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes àutilisation industrielle telles que les protéases, les chitinases **(Tanaka et Omura, 1990 ;Vonothini *et al ;* 2008)**, les amylases, les cellulases, les xylanases et les lipases **(Park *et al ;*2002)**. A titre d'exemple : la D-xylose isomérase, plus connue sous le nom de glucoseisomérase, produite par l'espèce *Actinoplanesmissouriensis*et plusieurs espèces de*Streptomyces*, est utilisée pour obtenir des sirops riches en D-fructose.Un complexe amylasique issu de *Streptomyceshydroscopicus*et *Streptomyces. praecox*a été exploité pour préparer des sirops riches en maltose. Les protéasesd'actinomycètes sous forme libres ou immobilisées sont employées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, en tannerie et comme additifs dans les détergents (ex : pronase de *S. griseus*) **(Theilleux, 1993)**.

Par ailleurs, les actinomycètes produisent de fortes quantités de chitinases et de β-1-3-glucanase et causent des plasmolyses et des lyses des parois cellulaires des pathogènes (**Conn, 2005**). D'après **Park *et al* ; (2002)**, les chitinases produites et sécrétées par les actinomycètes agissent sur les cuticules des nématodes adultes et provoquent ainsi leur mort. Notamment l'espèce *Streptomycescoelicolor*qui sécrète de nombreuses hydrolases incluant : 60 protéases/ peptidases, 13chitinases/ chitosanases, 8 cellulases/ endoglucanases, 3 amylases et 2 pectates lyases (**Bentley *et al ;* 2002**).

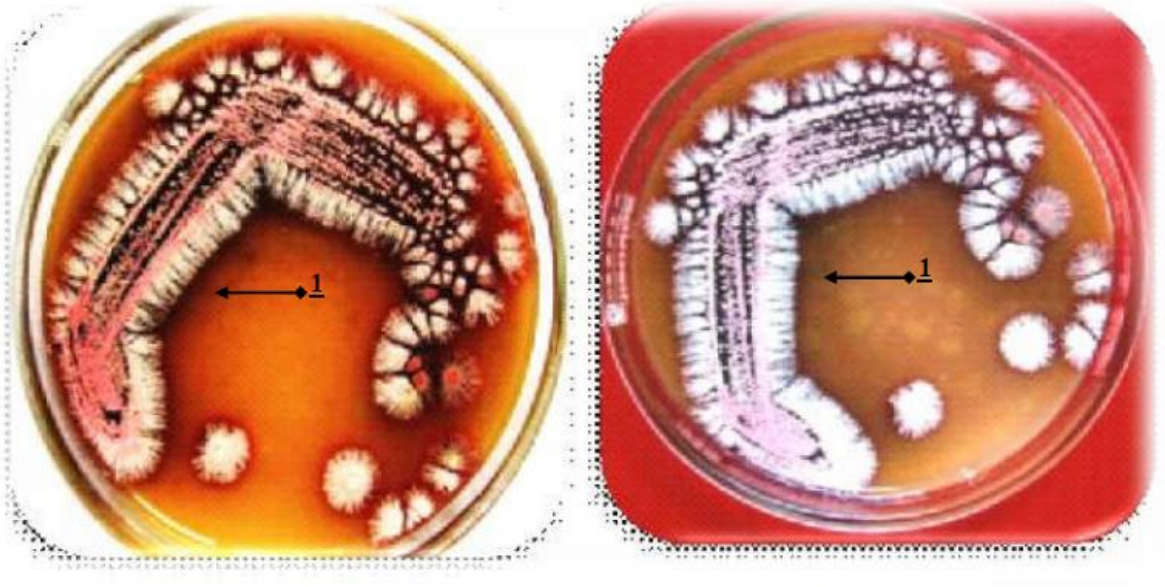
II .4.2.Les vitamines

La vitamine B12 telle qu'elle existe dans la nature peut être produite par des bactéries ou des actinomycetes. L'isolement de la vitamine B12 à partir des fermentations d'actinomycetes a suscité un intérêt considérable pour la production possible de vitamines par des fermentation microbiennes (**Rickes *et al ;* 1948 ; Lichtman et al ; 1949**). L'addition de sels de cobalt aux milieux semble être un précurseur pour toute les actinomycetes pour produire de la vitamine. Comme le cobalt est un agent bactéricide assez efficace, ce précurseur doit être ajouté avec précaution. Il a été également démontré que les actinomycetes produisaient d'autres vitamines hydrosolubles, telles que, la thiamine et le dérivé d'acide ptèroyl glutamique qui favorise la croissance de certaines souches de *Leuconostoccitrovorum*et de la coenzyme A (**Anandan, 2016**).

II .4.3.Les pigments

Les actinomycètes sont caractérisées par la production de divers pigments sur des milieux naturels ou synthétiques, ces pigments sont considérés comme une des caractéristiques culturales importantes dans la description des organismes. Tous les changements phénotypiques induits par des influences environnementales aideront les actinomycètes car, ils montrent des colonies morphologiquement distinctives et produisent une variété de pigment et de filaments appelés hyphes aériens **(Goodfellow *et al ;* 2012).**

Ces pigments apparaissent habituellement dans différentes nuances de bleu, violet, rouge, rose, jaune, vert, brun, et noire **(Figure5).**



1 : Pigments bruns diffusibles dans le milieu de culture

Figure 5 :pigements diffusibles produits par diverses actinobactéries dans le milieu amidon-caséine agar **(Anandan, 2016).**

II .4.4.Les bioherbicides

Une autre application intéressante de l'actinobactérie est l'utilisation de leurs métabolites secondaires comme herbicides contre les mauvaises herbes.

Streptomyces saganonensis produit des herbicides (herbimycine) qui contrôlent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones. L'espèce de *S. hygroscopicus*produit de la coformycinecarbocyclique et de l'hydantocindine, ce qui peut réduire la synthese l'aclenylosuccinate en augmentant le contenu de l'ATP (**Pillmoor, 1998**).

II.4.5.Les agents antitumoraux

Le cancer constitue l'une des pathologies humaines responsables d'un grand nombre de décès chaque année. Parmi les métabolites secondaires des actinomycètes, certaines molécules se révèlent capables d'inhiber la multiplication des cellules cancéreuses. On peut citer l'actinomycine D, les anthracyclines (Daunorubicine, Doxorubicine), la Bléomycine ou encore la Mitomycine C. Ces composés agissent en se fixant sur l'ADN. L'Actinomycine D, par exemple, se fixe au niveau du complexe d'initiation de la transcription et empêche l'élongation par l'ARN polymérase (**Sobell, 1985**).

II.4.6.Les antifongiques et antiparasitaires

Le mot antifongique se réfère à un composé capable de tuer ou d'inhiber la croissance d'un champignon. De nombreux antifongiques sont utilisés en médecine. La nystatine produite par *Streptomycesnoursei* est par exemple utilisée pour le traitement de différentes infections par des levures, notamment des *Candida* (**Fjaervik et Zotchev, 2005**).

Les antagonistes microbiens sont largement utilisés en lutte biologique contre les champignons phytopathogènes. L'activité antagoniste de *Streptomyces*vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires et des enzymes hydrolytiques **(Prapagdee *et al ;* 2008)**. En plus des *Streptomyces*, d'autres genres appartenant aux actinomycètes sont également des producteurs de molécules possédant des activités antifongiques **(Sanglier et Trujillo, 1997)**. Les ramicidines sont par exemple des antifongiques produits par une souche *d'Actinomadurabibisca* **(Tomita*et al ;*1990).**

Le terme antiparasitaire désigne plus globalement un composé permettant de lutter contre différents types d'organismes eucaryotes (protistes, insectes, helminthes). Ces métabolites présentent des utilités en médecine humaine et vétérinaire, mais aussi en agriculture.

La Figure résume les différentes molécules bioactives produites par les actinomycètes.

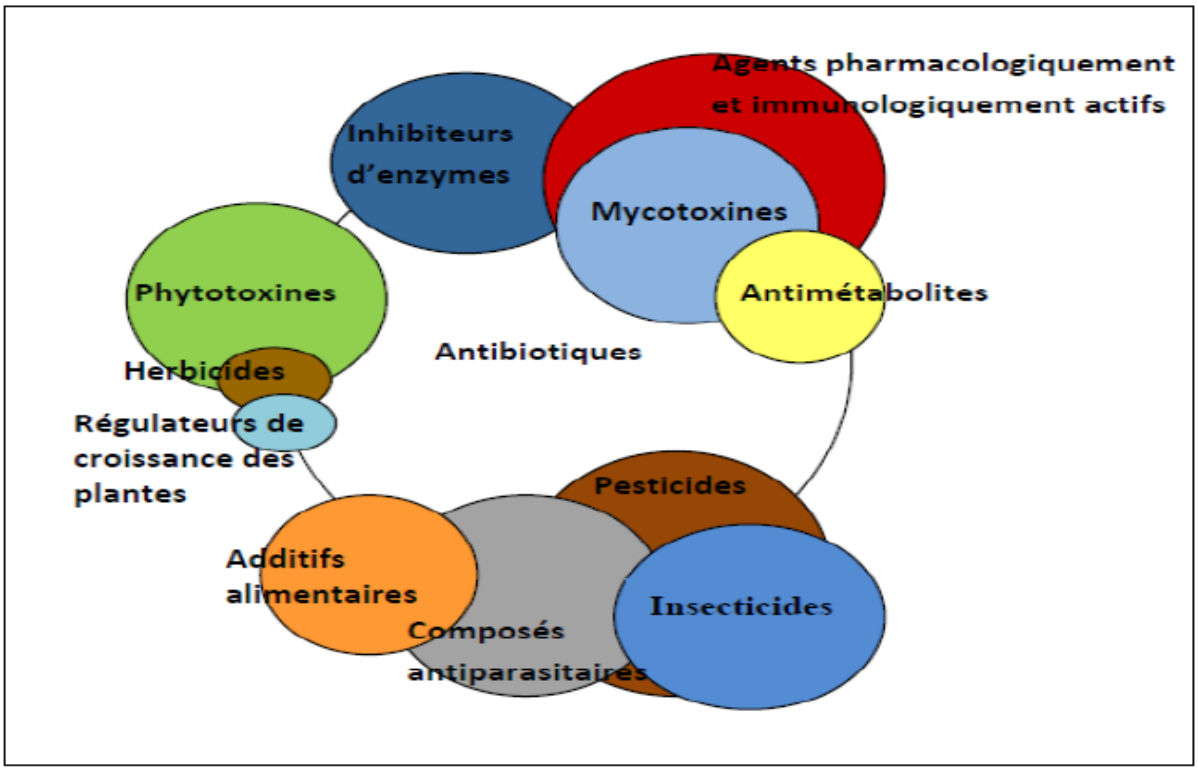


Figure 6 : Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes **(Conn, 2005)**

III.Extraction et purification des antibiotiques

Bien qu'il n'y ait pas de technique universelle de purification des antibiotiques, l'étude des antibiotiques ou d'autres substances naturelles nécessite plusieurs techniques et étapes d'extraction par différents solvants de polarité différentes et protocoles de purification. Les méthodes de purification choisies dépendent des caractéristiques physicochimiques prédéterminées complexe actif et de sa concentration dans le milieu de production. D'après **(Badji , 2006)** l'extraction liquide –liquide à l'aide de solvants non miscibles avec l'eau est une opération de purification partielle.

La figure résume un des protocoles qui peut être utilisé pour la purification d'antibiotique décrit par**(Zitouni, 2005).**

Matériel et méthodes

1. Isolement des actinomycètes et mise en évidence de l'activité antimicrobienne (criblage).

1.1.Période et lieu de stage

L'ensemble de ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires pédagogiques de Biologie 1et 2 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Dr «Yahia Fares » à Médea, durant la période s'étalant entre Mars et Avril 2021 et dans laboratoire de microbiologie et laboratoire physicochimie dans le groupe Saidal Antibiotical à Médéa durant la période du 23 Mai à 6 Juin 2021.

1.2.L'objectif global

L'objectif principal de la présente étude, consiste d'une part, en l'isolement et la purification de quelques souches bactériennes d'actinomycètes et d'autre part consiste à la production de molécules bioactives à partir des actinomycètes en culture liquide et d'examiner l'activité antibactérienne vis -à-vis certaines bactéries pathogènes pour l'Homme.

1.3.Protocole expérimental général

La **Figure 7** englobe les différentes étapes suivie dans le protocole expérimental

1.4.Site des prélèvements des échantillons

Quatre échantillons de sol ont été prélevés sur deux périodes Janvier et Mars 2021.

Le choix du site des prélèvements des échantillons a porté sur des sols de quatre régions : Chiffa ,Tameuzguida ,Ben chicao ,Ouzera. La figure suivante illustre le site de prélèvement et les différents types de sol.

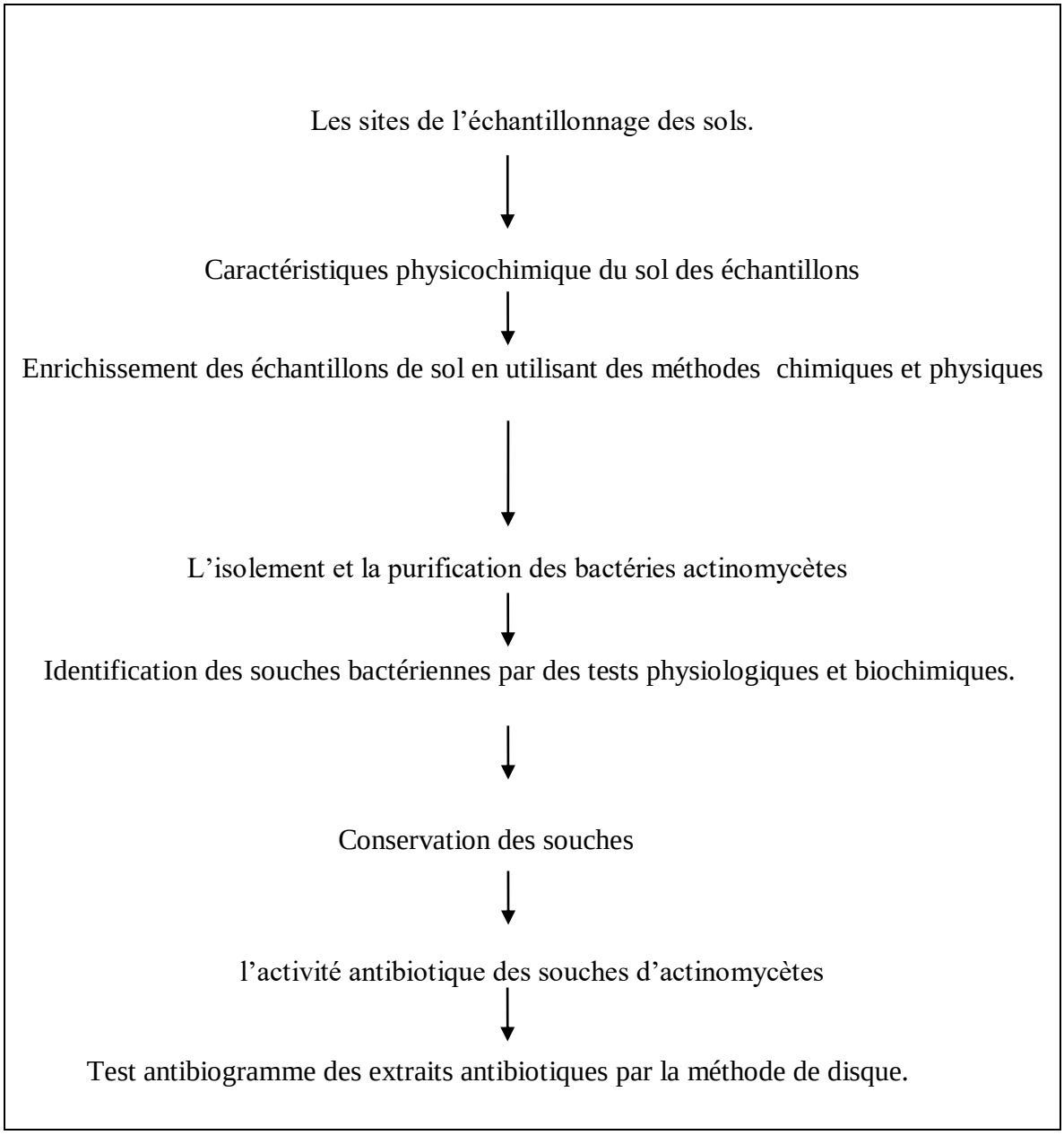


Figure 7 : Les différentes étapes du protocole expérimental

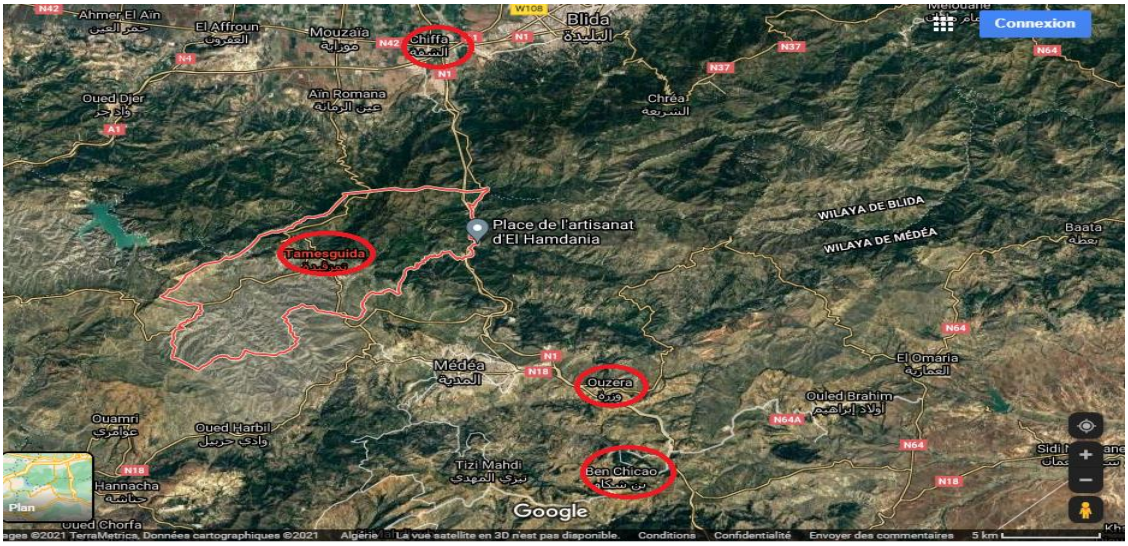


Figure 8 : Localisation géographique de (Google Maps, 08/06/2021).

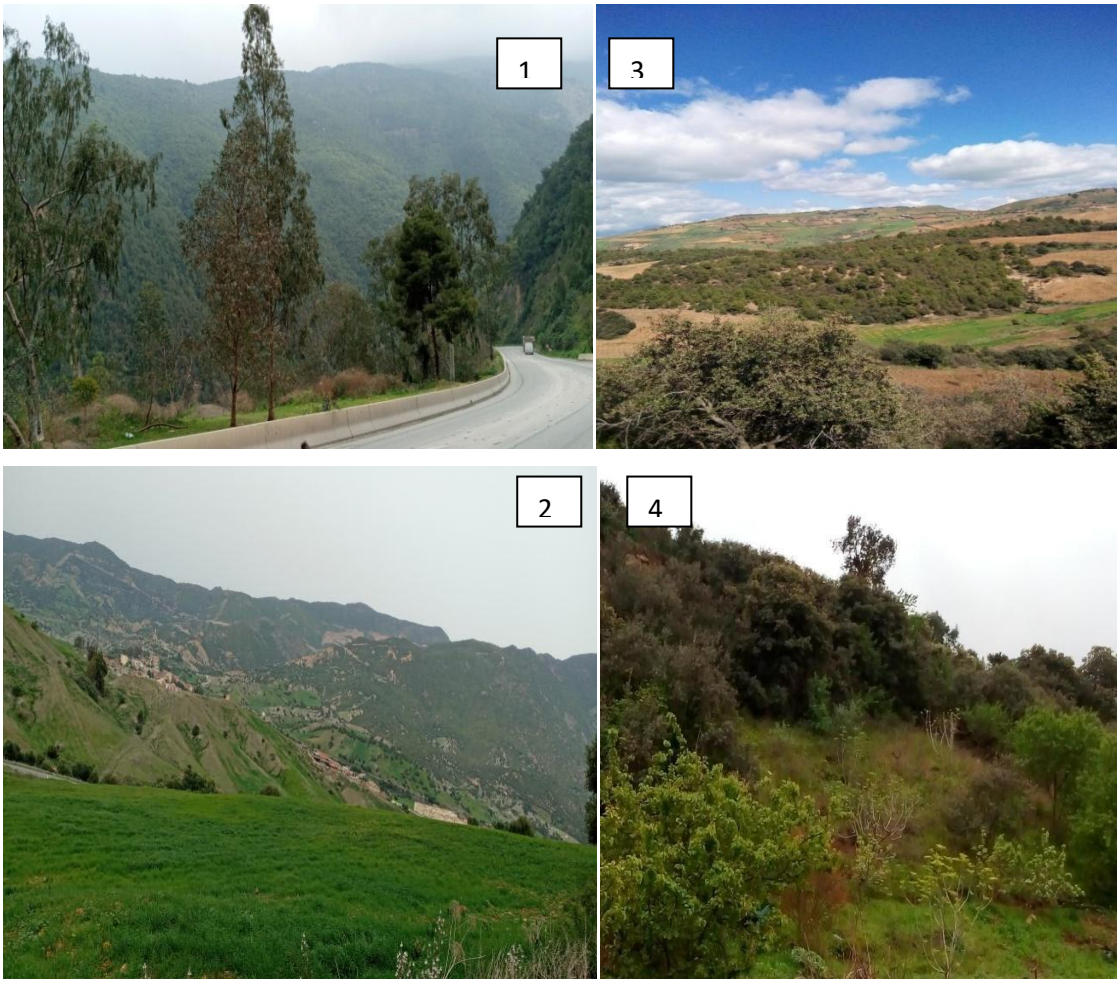


Figure 9 :Sites de prélèvement (1chiffa,2 tamesguida,3 ben chicao,4 ouzera).**(prise personnelle2021).**

1.4.1.Echantillonnage

Quatre échantillons de sol ont été prélevés entre le mois de janvier et Mars 2021. (**Figure 1 et 2**). A l'aide d'une grande spatule stérile : les cinq premie rs centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés. Cent à cent-cinquante (100 à 150) grammes de terre de la couche sous-jacente (entre 5 et 15 cm de profondeur) sont prélevés avec une petite spatule stérile, puis sont déposés sur une boite stérile. Les gros débris (pierres, racines etc.…) sont écartés, et environ 50 g sont placés dans un boite stérile et transportés le plus rapidement possible au laboratoire **(Pochon et Tardieux, 1962).** , les échantillons sont immédiatement conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation.



Figure 10 : Site de prélèvement des échantillons **(prise personnelle 2021)**

1.5.Caractéristiques physico-chimique du sol des échantillons

1.5.1. Mesure du pH des échantillons

Une fois au laboratoire des suspensions de sols sont préparées (5 g de sol pour 12.5 ml d'eau distillée). Les pH sont alors mesurés à l'aide d'un pH-mètre selon la technique de **Pochon et Tardieux, (1962).**

1.5.2. Pourcentage d'humidité

Cinq à dix grammes de sol sont séchés pendant 2 jours dans un four à 105°C, jusqu'à obtention d'un poids constant **(Lee et Hwang, 2002)** . Le pourcentage d'humidité est calculé d'après la relation : $PH = \frac{PH-PS}{PH}\ x\ 100$

H : Humidité en pourcent (%).

PH : Poids humide de l'échantillon**.**

PS : Poids sec de l'échantillon.

1.5.3. Mesure de la conductivité de l'extrait aqueux 1/5

Vingt grammes (20 g) de terre tamisée dans un tamis de 2 mm sont mis en suspension dans 100 ml d'eau distillée. Après une heure d'agitation dans un agitateur rotatif suivie d'une demi-heure de repos. La suspension est ensuit décantée dans un bécher et la conductivité est mesurée à l'aide d'un conductimètre**.(Annexe1).**

1.6. Prétraitements des échantillons

Le traitement des échantillons permet de réduire la croissance de la flore fongique et bactérienne, afin, d'augmenté le nombre des actinobactéries contenue dans le sol **(Cavala, 1994).,**Quatre échantillons sont prélevés de différents endroits, Chaque échantillon a subi deux types de prétraitement :

- **Le prétraitement (T 1)** : Consiste à chauffer deux grammes de chaque échantillon à 60°C pendant 30 minutes **(Takizawa et al ., 1993).**
- **Le deuxième prétraitement (T 2)** : consiste à traiter 1 g de sol de chaque échantillon avec 0.1 g de CaCO3 . Le mélange est mis dans une enceinte stérile saturée d'humidité pendant sept jours à 28°C **(El-Nakeeb et Lechevalier, 1963) .**

1.7. Les milieux de cultures utilisés

Les milieux de cultures utilisés pour l'isolement des actinobactéries sont :

- **Milieu ISP2** (International Streptomyces Project) **(Ara *et al* ;2012).**
- **Milieu du gausse.**

- **Milieu SCA.**

La composition de ces trois milieux de culture est présentée en **(Annexe I).** Après autoclavage et refroidissement des milieux à une température d'environ 45°C.

1.8. Isolement des actinomycètes

Pour chaque échantillon, 1g de sol sont dilués dans 9ml d'eau physiologique stérile, puis agités au vortex deus fois pendant 5 minutes, cette suspension constitue la dilution 10 -1 . Une série de dilutions décimales (jusqu'à 10^{-5}) est effectuée pour chaque échantillon. 400µl par dilution par boîte de Pétri sont étalés en surface de trois milieux de cultures : ISP2et milieu du Gausse et SCA **(Annexe 1).** Les boites de Pétri sont alors incubées à 28°C. Elles sont observées après deux, trois et quatre semaines d'incubation.

- La préparation des solutions de sol se fait par la méthode de dilutions des suspensions. La suspension mère du sol est préparée par l'addition de 1gramme de sol, et introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Les échantillons sont homogénéisés par agitation au vortex pendant quelques minutes. Les suspensions ainsi obtenues constituen t les solutions à analyser. Cette suspension mère sert à réaliser des dilutions décimales **(Agate et Bath, 1963) .**

1.8.1. Ensemencement et incubation

À l'aide d'une pipette pasteur stérile sous forme de râteau , 0,1 ml de chaque dilution (10^{-1}à 10^{-5}) a été étalée sur la surface d'un milieu gélosé (d'amidon caséine). Les boîtes de Pétri sont incubées à 30°C pendant 7 à 14 jours. Des observations régulières sont effectuées chaque semaine **(Lemriss *et al* ;2003).**



Figure 11 : Préparation de la suspension-dilution et ensemencement sur le milieu de Gausse**(prise personnelle2021).**

1.9. Purification des souches

Afin d'obtenir des souches pures, les différentes colonies obtenu e s ont été repiquées et ensemencées à l'aide d'une anse stérile puis purifiées par stries sur le milieu SCA, ISP2 et Gausse.

Les isolats obtenus sont numérotés et, sont ensuite ensemencés dans des boites pétrie contenant le même milieu de culture. Les tubes sont incubés pendant sept jours à 28°C puis conservés à 4°C **(Arifuzzaman *et al* ; 2010).**

1.10.Conservation des souches

Seules les colonies à Gram positif présentant les aspects caractéristiques des actinomycètes,

1.10.1. Conservation des souches a court terme

La méthode de conservation des souches consiste à repiquer les souches en tube sur gélose inclinée (**Botton et al.,1990**), puits incubé 7jour pour les actinomycètes.

La souche pure doit être conservée à 4°C pour une réalisation ultérieure des tests biochimiques, physiologiques et la technique de fermentation.

1.10.2.Conservation à long terme

Les isolats d'actinomycètes sont conservées dans une solution de glycérol à -20ºC.



Figure 12 : méthodes de conservation des souches à longue terme. **(prise personnelle2021).**

II .Etude des caractérisations des actinomycètes :

II.1.Caractérisations microscopiques

II.1.2.Coloration de Gram

D'après **William et al, (2010),** les bactéries peuvent être groupées en deux catégories selon la méthode de coloration deGram, qui a été mise au point en 1884 par le bactériologiste **Danois Hans Christian Gram**. Cet examen est fait sur des frottis minces préparés à partir de colonies de chaque isolatobtenu sur le milieu caséine amidon, ces frottis sont colorés, après observation à l'aide d'unmicroscope optique à grossissements (x100), ce dernier permet de remarquer les formes morphologiques des différentes bactéries et indiqué le Gram + et Gram- .

- Les bactéries « Gram positif» gardent leur coloration violette après
- Les bactéries « Gram négatif» décolorées par alcool, sont teintées par la fuchsine et apparaissent roses.

L'examen, nous permet de déterminer quelques caractères morphologiques des Actinomycètes, concernant le type de Gram+ et des indications sur leurs formes des filaments et présence ou absence de spores isolées **(William et al., 2010).**



Figure 13 : préparation des frottis**(prise personnelle2021).**

II.2. Recherche de catalase

Cette enzyme permet la dégradation du H_2O_2 qui résulte de l'oxydation par l'oxygène de l'air:

Catalase

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

Cette réaction est mise en évidence simplement par contact de la culture avec une solution fraîche de H_2O_2 à 10 volumes. Une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame en présence d'un échantillon de culture. Un dégagement gazeux abondant sous forme de

mousse ou de bulle traduit la décomposition de dioxygène. On dit que le test catalase est positif et s'il n'y a pas de bulles, le test est négatif **(Delarras, 2014).**

II.3.Caractérisation physiologique et biochimique

Une série de tests physiologiques utilisés par les taxonomistes pour la différentiation entre certains groupes d'actinobactéries, est retenue pour l'identification des souches isolées. Ces tests sont : l'hydrolyse de l'amidon , la dégradation de l'urée **(Holt *et al.*, 1994 ; Toumatia, 2015).**

II.4.1Hydrolyse de l'amidon : recherche d'amylase

Ce test est réalisé sur la gélose nutritive contenant 1% d'amidon soluble, le milieu est réparti dans des boites de Pétri stériles, puis ensemencés par stries, les boites sont incubés à 30 C° pendant 7 jours. Après l'incubation, le milieu est recouvert d'une solution de lugol, l'hydrolyse est ainsi mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies, à l'inverse, les zones contenant de l'amidon se colorent en brun **(Gordon et Smith, 1953).**

II.4.2.La dégradation de l'urée

Le milieu urée-tryptophane (urée indole) est un milieu synthétique fournissant un ensemble de résultats utiles à l'identification de nombreux germes bactériens. Ensemencer largement la suspension d'urée indole par la culture d'actinomycètes, et incubée à 7 jours à température 30°C. L'observation d'une alcalinisation traduit une hydrolyse de l'urée et donc la souche Streptomyces possède l'enzyme

uréases. Cette alcalinisation à raison de l'indicateur de pH le rouge de phénol qui se trouve dans le milieu, vire lors d'une réaction positive, de sa couleur jaune orangé au rouge **(Jean et Guy, 2014).**

II.4.3.Tests de sensibilité aux antibiotiques

Les antibiotiques antibactériens sont des substances dont l'action antibactérienne s'exprime, soit en inhibant la multiplication des bactéries, c'est l'effet bactériostatique ou bactériostase, soit en les détruisant, c'est l'effet bactéricide ou bactéricidie. Le test de sensibilité des bactéries aux antibiotiques est réalisé par la méthode de diffusion en gélose. (**Harir, 2018)**. Les isolats d'actinomycètes pure sont ensemencés en strie à la surface du milieu Soja-Agar ou bien Muller Hinton à l'aide d'un écouvillon, Des disques d'antibiotiques stérile de 6 mm de diamètre sont déposés à la surface du milieu, Les boites de Pétri sont ensuite placées à 4°C pendant 02 heures pour permettre une diffusion des substances **(kitouni, 2007)** et après elles sont incubées à la température de 37 °C pendant 24 heures. Les zones

d'inhibition formée autour des disques sont alors mesurées. Des disques des antibiotiques ont été utilisés : ampicilline et de chloramphénicol et de Néomycin et de Nystacine et Gectapen et de Amoxypen.



Figure 14: Antibiotiques utilisés **(prise personnelle2021).**

Il existe plusieurs tests biochimiques pour effectuer une près identification, tels que l'utilisation de citrate, la production d'H2S, la catalase, l'hydrolyse de la gélatine, les tests des réactions VP et RM (les acides mixtes par la réaction de rouge méthyle ; fermentation de butylène glycolique par la réaction de Voges-Prauskaouer), la réduction de nitrate, et l'hydrolyse de la lécithine.

II.4.4. Utilisation du citrate comme seule source de carbone

La pente du milieu de citrate de Simmons est ensemencée selon une strie longitudinale au moyen d'un spatule stérile avec un inoculum de la souche. L'incubation s'effectue à 30±1°C. L'observation de la croissance se fait quotidiennement durant une semaine **(Marchal *et al* ; 1991).**L'utilisation du citrate s'accompagnera d'une alcalinisation mise en évidence par le bleu de bromothymol (virage de la couleur du vert en en bleu) **(Jean et Guy, 2014).**

II.4.5.Utilisation des différents substrats carbonés /Production de H2S

Ce test est réalisé en utilisant le milieu TSI (gélose au Glucose, Lactose, Saccharose et H2S). Des tubes contenant le milieu TSI sont ensemencés puis incubés pendant 7 à 14 jours à 30±1°C **(Marchal *et al*., 1991).** Les résultats se manifestent comme suit :

- Lactose-saccharose positif : pente virant au jaune.
- Glucose positif : culot jaune.
- H_2S positif : noircissement du milieu dans la zone joignant la pente

II.4.6. réactions VP

Une colonie de la souche à étudier est ensemencée sur un milieu liquide Clark et Lubs, puis incuber à 30°C pendant 7 jours. Après l'incubation, en divise le milieu dans deux tubes

stériles et on ajoute quelques gouttes de VP I et VP II dans l'un des deux tubes et quelques gouttes de réactif rouge de méthyle sont additionnées dans l'autre tube, s'il y a le virage en rouge, le test est positif **(Jean et Guy, 2014).**

II.4.7.Production de nitrate réductase

Le test de nitrate réductase est effectué sur bouillon nitraté. La réduction des nitrates est constatée par la mise en évidence des nitrites formés à l'aide de deux réactifs NR1 et NR2. Après 7 à 10 jours d'incubation, on rajoute les deux réactifs , le test positif se manifeste par l'apparition de couleur rouge. En l'absence de cette coloration, quelques milligrammes de poudre de zinc sont alors ajoutés s'il ya :

- **Apparition de la couleur rouge** : les nitrates du milieu ne sont pas réduits par la souche.
- **Absence de coloration :** les nitrates sont réduits au-delà du stade des nitrites.

II.4.8.Hydrolyse de la lécithine et les lipoprotéines

La lécithine est recherchée sur une gélose riche en jaune d'œuf, coulée en boites de pétri, ensemencées avec les souches à tester par des stries, puis incubées pendant 1 à 5 jours à 28° C. Le jaune d'œuf est un substrat composé de lécithine, triglycérides et d'une lipoprotéine, il permet donc de rechercher trois enzymes : La lécithine : l'apparition d'un halo opaque, blanc jaunâtre, à bord net sous la colonie ou à la limite, indique la présence d'une lécithinase. Si la lécithinase est absente, toute l'opacité floue à la surface de la colonie indique la présence d'une lipase. La lipoprotéinase est révélée par l'apparition d'un halo claire autour de la colonie **(Jean et Guy, 2014).**

III Mise en évidence de l'activité antibiotique des souches d'actinomycètes

III .1. Mise en évidence de l'activité antibiotique sur milieu solide

III 1.1. Microorganismes cibles

Six microorganismes utilisées pour la mise en évidence de l'activité anti bacterienne des extraits d'actinomycètes sont des souches de références (ATCC), et ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie de groupe saidal antibiotical **(Tableau 3) .**

Tableau 3 : Références des bactéries indicatrices

Germes	Gram	Référence
Staphylococcus aureus	Positif	ATCC 6538

Escherichia coli	Négatif	ATCC 8739
Candida alibicans	Positif	ATCC 10231
Salmonella typhimurium	Négatif	ATCC 14028
Staphylococcus epidermidis	Positif	ATCC 12228
Pseudomonas aeruginosa	Négatif	ATCC 9027

ATCC: American Type Culture Collection.

III.1.2. Standardisation de l'inoculum

La méthode de standardisation des germes cibles utilisée est celle des suspensions dilutions ; accompagnée de la mesure de la densité optique de la suspension bactérienne, à une longueur d'onde propre aux germes cible **(Billerbeck and Matan, 2008).**

A partir d'une culture de 18h sur le milieu nutritive (GN), une suspension de chaque bactérie-test en eau physiologique (9% de NaCl) est préparée. La densité cellulaire de chaque suspension est ajustée par dilution dans l'eau physiologique stérile et en comparaison avec la solution à 0,5% de McFarland (densité optique égale à 0,2 à une longueur d'onde correspondante à chaque souche) de façon à obtenir d'une concentration finale de 10^8 UFC/ml, ensuit, un ensemencement par écouvillonnage est réalisé sur milieu Muller Hinton **(Cavalla et Eberlin, 1994).** La mise en évidence de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode des cylindres d'Agar **(Patel et Brown, 1969 ; Boughchiche *et al* ;2005).**

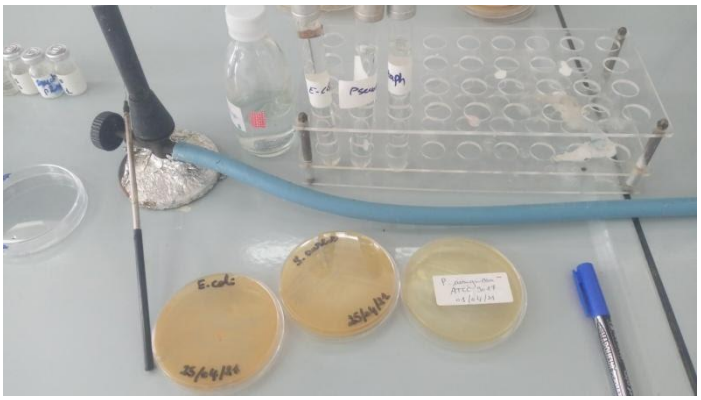


Figure 15 : Reactivation des souches de Référence (ATCC). **(prise personnelle2021).**

III.1.3. Technique des cylindres d'agar

Les souches d'actinomycètes ont été ensemencées en stries serrées à la surface du milieu gélosé SCA (a fin de former un tapis homogène). Après incubation à 28°C durant une période donnée, pour chaque souche étudiée, des cylindres d'agar de 06 mm de diamètre ont été prélevés à l'aide d'un emporte- pièce.

Les cylindres d'agar sont déposés à la surface du milieu Mueller Hinton ou bien(soja agar) préalablement ensemencé par écouvillonnage avec les bactéries cibles (10^7 UFC/ml). Les boites de Pétri portant les cylindres d'agar sont placées à 4 °C pendant deux heures pour permettre la diffusion des substances bioactives élaborées par les souches contrôles, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures **(Gungi *et al.*, 1983).**

L'activité inhibitrice se traduisant par l'apparition d'une zone d'inhibition a été appréciée après 18h à 24h d'incubation. Les souches présentant une bonne activité vis- à- vis des germes cibles seront sélectionnées pour la suite du travail.

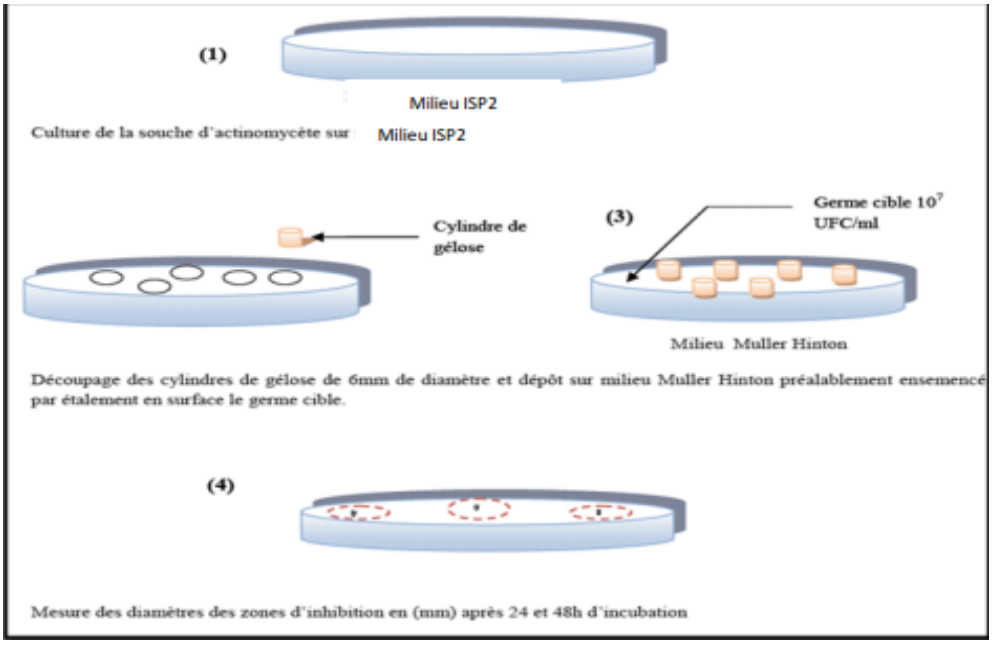


Figure 16 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries sur milieu Mueller-Hinton par la méthode des cylindres d'agar **(Bastide *et al.*, 1986 ; Lemriss *et al* ;2003).**



Figure 17 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries sur milieu Soja -Agar par la méthode des cylindres d'agar **(prise personnelle2021)**.

III. Production d'antibiotique sur milieu liquide

- **Préculture**

L'inoculum portant des spores a été raclé à partir du mycélium obtenu sur boite de Pétri incubée pendant plus de deux semaines jours.

Des pré- cultures des souches choisies ont été préparées dans des tubes à essai contenant 3ml du milieu SCA stérile et incubées durant 48h, dans un bain Marie à 28°C, et sous agitation permanente à 250rpm.

- **Culture**

Les précultures préparées précédemment servent à ensemencer 100 ml du même milieu liquide SCA contenu dans des flacons de capacité de 500 ml. L'incubation s'est faite à 28°C sous agitation permanente (250 rpm) , tout au long de la durée d'incubation.

Choix des meilleurs isolats d'actinobactéries antagonistes

III.2.Cinétique de croissance et de production d'antibiotique et suivi du pH:

La cinétique de croissance et de production d'antibiotiques et le suivi de l'évolution du pH des souches sélectionnées ont été réalisés sur milieu SCA liquide.

Pour chaque souche, une préculture est préparée dans des tubes à essai contenant 3 ml de milieu SCA liquide. Après 48h d'incubation à 28°C sous agitation permanente à 250 rpm, la préculture est ensemencée dans 100 ml du même milieu liquide contenu dans des flacons de capacité de 500 ml.

III. 2.1. Cinétique de croissance

Au 2éme jour d'incubation des cultures, 2ml de chaque culture liquide des souches sélectionnées ont été prélevés quotidiennement, dans des eppendorffs. Le poids sec du mycélium (biomasse) a été évalué selon la méthode **(Pfefferle *et al* ; 2000).**

Après centrifugation des échantillons à 7000rpm/20min, le culot mycélien obtenu est lavé trois fois à l'eau distillée puis séché à 105°C, après quoi , le poids sec du mycélium est déterminé en matière sèche par soustraction du poids de la tare de l'eppendorffs. (**Reghioua *et al* ;2008).**

III. 2. 2.Cinétique de production d'antibiotique

Dès le 2éme jour d'incubation des cultures liquides, le suivi de la production d'antibiotique a été effectué quotidiennement en prélevant 2 ml de chaque culture dans des tubes eppendorffs. L'évolution de l'activité antimicrobienne est détectée par la méthode de diffusion dans des puits (200 µl de filtrat de culture par puits de 6mm de diamètre) contre les germes cibles utilisés **(Jihani *et al* ;2012).**

III.2.3. Evolution du pH

L'évolution du pH a été aussi suivie quotidiennement au 2éme jour d'incubation des cultures liquides en prélevant 2ml de chaque culture dans des tubes eppendorffs. (Les

résidus des surnagents de cultures utilisés pour déterminer l'activité antimicrobienne ont servis pour la mesure du pH) **(Reghioua *et al.*, 2008).**

Résultats et Discussion

Dans ce chapitre, seront abordés les résultats et discussion des principales parties de ce travail à savoir l'isolement et la sélection des isolats les plus performants et l'activité anti microbienne, et l' extraction des métabolites secondaire.

I .Isolements des actinomycètes

I .1.Site et nature de prélèvement

Cette étude est basée sur l'isolement des actinomycètes à partir de 3 échantillons de sol prélevés à quatre rigions déffirents. En effet, les travaux de **Küster et Williams (1964)** ont montré que les actinomycètes sont considérés comme le plus grand groupe microbienne de la population tellurique et ils sont largement distribués dans les sols. **(Lechevalier et Lechevalier, 1967).** Le choix des sites de prélèvement revient au fait que les actinomycètes sont des chimioorganotrophes. Ils utilisent la matière organique et sont capables de dégrader la lignine, principal constituant du bois **(**cité par **Tuomela *et al* ; 2000**). Les racines présentent souvent des symbioses avec un actinomycète du genre Frankia **(Benson et Silvester, 1993).**

I. 2. Isolement des souches actinomycétales isolées à partir le sol

Après 30 jours d'incubation à 28ºC, pleusieure colonies présentent l'aspect macroscopique caractéristique des actinomycètes. Ce sont des colonies d'aspect poudreux ou dures et incrustées dans le milieu d'isolement utilisé (**Figure 18**). L'isolement des souches actinomycétales à partir des échantillons de sol traités ou non traités, sur le milieu gausse et ISP2.

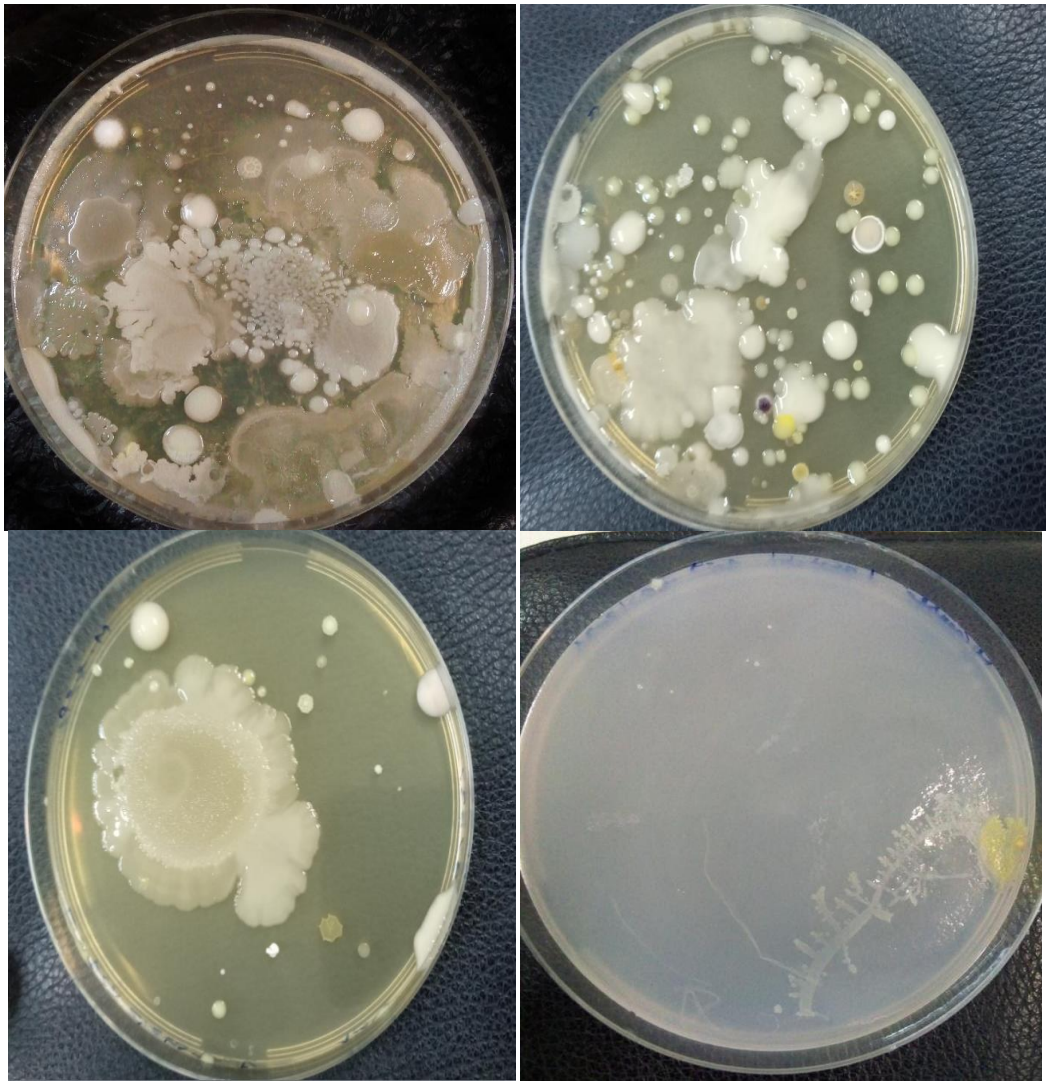


Figure 18 :Résultats de l'isolement des actinomycetes à partir des échantillons de sol sur Les Milieux du ISP2 et SCA et Gausse. **(prise personnelle2021).**

I .3.purification et conservation des actinomycètes

Au total 50 souches présentant une morphologie caractéristique des actinomycètes ont été obtenues par la méthode des suspensions - dilutions et ce à partir des quatre échantillons de sol ,Les colonies qui ont montré, après observation à l'œil nu et au microscope optique, les caractéristiques morphologiques des actinomycètes, en particulier la la formation du mycélium aérien et du mycélium de substrat avec des filaments très fins, sont considérées comme des actinomycètes **(Tableau 4).**

Tableau 4*:* Résultats de l'isolement des actinomycètes à partir des 4 échantillons.

Echantillon	Isolat	Total des isolats
Ouzera	OU36,OU37,OU38,OU39,OU40 ;OU41,OU42,OU43,OU44,OU45,OU46,OU47 ,OU47,OU48,OU49,OU50	15
Chiffa	CH2,CH3,CH9,CH12,CH13,CH14,CH21,CH23,CH24,CH25 ,CH26,CH27 ,CH28,CH29,CH30,	15
Ben chicao	B1,BN4,BN10,BN11,BN15,BN16,BN17,BN18,BN19,BN20,BN22,BN31,BN33,BN34,	14
Tamesguida	TAM5,TAM6,TAM7,TAM8,TAM32,TAM35	6

En effet, la majorité des isolats cultivés pendant plus du vingt-un jours sur le milieu ISP2, présentent des colonies poudreuses de couleur blanchâtre ou mélangée avec d'autre couleurs de tailles petites régulières ou non, aplaties ou bombées avec une odeur terreuse. Cet aspect est particulier pour les isolats développant un mycélium aérien , d'autres, apparaissent pigmentées et sporulées. Nos résultats après coloration, confirment que ces isolats présentent des filaments ramifiés à coloration de Gram positive.

La recherche des bactéries actinomycétales, réalisée à partir des trois échantillons sur les trois milieux de culture :milieu du gausse ,milieu ISP2, milieu SCA a donné les résultats suivant:

Au bout de 20 jours d'incubation à 28°C, les actinomycètes apparaissent et se développent lentement. Les colonies sont repérées d'après leur aspect caractéristique et sont purifiées.

D'après certains auteurs, la technique universelle d'isolement des actinobactéries n'existe pas. De ce fait, il est recommandé de varier les méthodes et les milieux d'isolement dans un objectif de réussir à un isolement important de la flore d'ordre d'actinomycétale **(Boudemagh, 2007)**

C'est la raison pour laquelle nous avons utilisé deux milieux de culture accompagné de deux traitements des échantillons, Plusieurs auteurs considèrent de l'emploi d'un prétraitement chimique ou physique des échantillons **Larpent et Larpent-Courgaud (1997)**

Nos résultats illustrés dans le Tableau 16 ont montré que Le nombre d'actinomycètes isolés des échantillons traités par le CaCO3 est de loin le plus élevé., par rapport de sol traité par séchage à 50°C pendant 30 minutes et et par rapport de sol non traité.

Le traitement au CaCO3 est de ce fait plus efficace pour l'isolement des actinomycètes, vue qu'il permet non seulement d'obtenir le plus grand nombre d'actinomycètes, mais aussi un faible nombre de bactéries et de champi gnons par apport a leurs nombres respectifs obtenus sans prétraitement,Ce résultat est en parfaite concordance avec celui obtenu par **El-Nakeeb et Lechevalier (1963).**

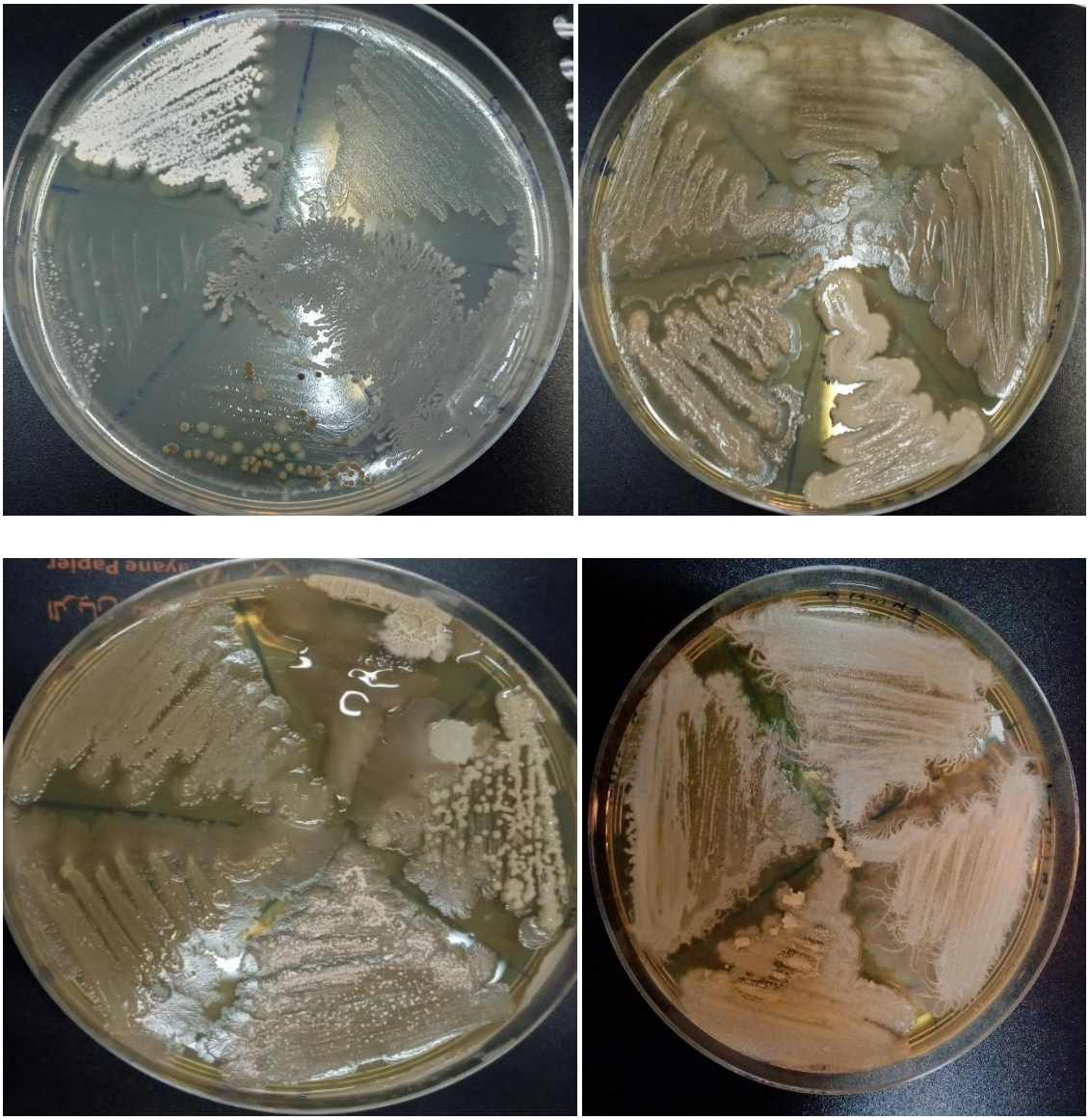


Figure 19 :Cultures pures d'actinomycète à différentes pigmentations diffusibles.**(prise personnelle2021).**

II.Etude morphologique

II.1.Aspect macroscopique

Après la sélection et la purification, les colonies d'actinomycètes sont reconnues sur la base de leurs aspects morphologiques macro et microscopiques qui expriment un polymorphisme génétique des isolats. Des variations visibles à l'œil nu sont observées, les colonies obtenues ont des tailles différentes petite, moyenne et grande. Des formes bombées sont observées par contre ya des présente une forme aplatie , possédant un mycélium végétatif surmonté d'un mycélium aérien de couleurs différentes : marron, gris, verdâtre,blanchâtre,beige..

D'après**, Palaniyandi (2013),** les couleurs des mycéliums aériens des actinomycètes sont différents de celles des substrats et la plupart ont une couleur blanchâtre et d'autres ont des couleurs différentes comme gris, beige, noir, marron, vert, jaune, ce qui confirme les résultats constatés**.(Annexe 1).**

II.2.Etude microscopique

II.2.1.Résultat de la coloration de Gram

La coloration de Gram est utilisé dans le cadre de cette étude afin d'identifier le type de la paroi des actinobactéries.

L'examen microscopique de nos souches permet à observer la forme et l'aspect des colonies, et aussi déterminer à quel type des bactéries appartiennent, soit Gram positif ou soit Gram négatif.

Les résultats de la coloration de Gram de quelques souches d'actinomycètes sont montrés dans **la (Figure20).(Tableau 5).**

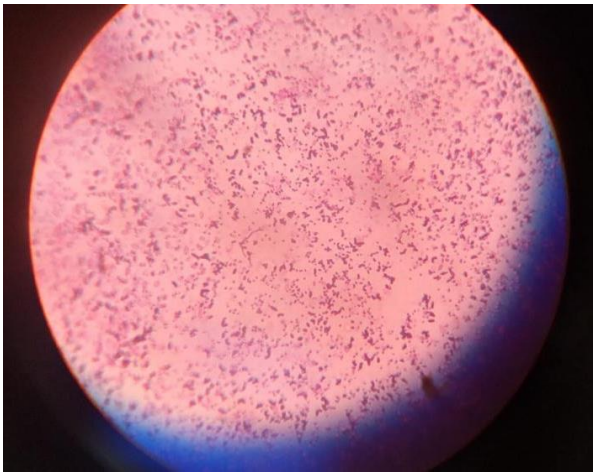


Figure 20 : Aspect microscopique de quelques souches d'actinomycètes après coloration de Gram (Gx40). **(prise personnelle2021).**

Tableau 5 : résultats coloration de Gram

Les souches	Coloration de Gram	Les souches		Les souches		Les souches			
1	+	6	+	11	+	16	+	21	+
2	+	7	+	12	+	17	+	22	+
3	+	8	+	13	+	18	+	23	+
4	+	9	+	14	+	19	+	24	+
5	+	10	+	15	+	20	+	25	+
26	+	31	+	36	+	41	+	46	+
27	+	32	+	37	+	42	+	47	+
28	+	33	+	38	+	43	+	48	+
29	+	34	+	39	+	44	+	49	+
30	+	35	+	40	+	45	+	50	+

IV.1.6.Recherche de Catalase

L'examen de la recherche de catalase, montre un résultat positif. Tous les isolats des actinomycètes sont de test positif, l'apparition de bulles d'air signifie la présence de catalase **(tableau 9 et figure21.).** Ce dernier présente une oxydoréductase qui catalyse la réaction du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en eau et dioxygène O_2. Les mêmes résultats sont obtenus par les chercheurs **Boulahrouf (2016) et Maameri (2007).**



Figure 21: Test de catalase positif.**(prise personnelle2021).**

III .Les caractéristiques physicochimiques des échantillons

Les propriétés physicochimiques des quatre échantillons prélevés (pH, pourcentage d'humidité, conductivité) sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Paramètres physicochimiques des quatre échantillons de sol

Échantillons	**pH**	**Taux d'humidité %**	**Conductivit (mS/cm)**
Ouzera(1)	8.11	18	0.092
Ben chicao(2)	8.31	3.1	0.079
Tamesguida(3)	8.33	6	0.057
Chiffa(4)	8.42	6.2	0.060

% M.O. : Pourcentage de la matière organique, mS : milli Siemens (unité)

Il est intéressant de noter que l'ensemble des échantillons examinés représentent des écosystèmes extrêmes. Ces échantillons se caractérisent par des valeurs de pH allant de 8.11 à 8.42. Toute les échantillons dont les pH respectifs sont 8.11 et 8.31et 8.33 et 8.42 sont des sols qui tendent vers l'alcalinité.

Selon Lee **et Hwang (2002) ,**on distinguetrois types de sols en fonction du taux d'humidité **(Tableau 7).** le taux d'humidité d'un sol est considéré comme : faible si le pourcentage d'humidité est compris entre (2.0 et 9.0) ; modéré dans le cas où le pourcentage d'humidité varie de 9.1 à 13.0 et élevé si les valeurs sont comprises entre 13.1et 20.0. Les résultats présentés dans le tableau 2 nous permettent de conclure que les échantillons 2 et 3 et

4 sont des sols caractérisés par des taux d'humidité faibles (compris entre 2.0% et 9.0%),alors que celui de l'échantillon 1 est considéré comme élevés (taux d'humidité 18%).

Tableau 7 :Type de sol en fonction du taux d'humidité selon **Lee et Hwang(2002)**

	Type de sol		
	Faible	Modéré	Elevé
Taux d'humidité (%)	2,0 et 9,0	9,1 à 13,0	9,1 à 13,0

En se basant sur les résultats de la conductivité présentés dans le tableau N°8 et d'après l'échelle de salinité qui est en fonction de la conductivité électrique de l'extrait aqueux 1/5ème, présentés dans **le tableau 8,**nous avons pu classer tout les échantillons, dont la conductivité est <0,6 , comme un sol non salé,

Tableau 8 : Type de sol en fonction de la conductivité électrique (**Richards, 1969).**

	Type de sol				
	Non salé	Peu salé	Salé	Très salé	Extrêmement salé
C. ex 1/5 (mS)	<0,6	0,6 - 1,2	1,2 - 2,4	2,4 – 6	>6

C. ex 1/5 (mS) conductivité de l'extrait aqueux 1/5ème ; **mS** :milli Siemens.

IV.1. Etude physiologique et biochimique

Les résultats des différents caractères physiologiques et biochimiques des isolats sont réunis dans le **tableau 9.**

Tableau 9: Tests physiologiques et biochimiques des isolats d'actinomycètes

		TM	S1	S20	S17	S33	S2	S24	S13	S28	S43	S47	S37	S50	S5	S7	35	8
Hydrolyse de l'amidon		-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Hydrolyse de la lécithine	La lécithine	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	La liporoténase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
La dégradation de l'urée		-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
Recherche de Catalase		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Les fermentations intermédiaires	VP	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
La réduction de nitrate réductase		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Test TSI Fermentation	du glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	Production d'H2S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	Lactose-saccharose	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-
Utilisation du citrate	Cit	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+

TM : Témoin ; S : Souche ; (+) : Test positif ; (-) : Test négatif ; VP : Vogues Prauskouer ; RM : Rouge méthyle

IV.1.1.Résultats d'hydrolyse d'amidon : recherche de l'amylase

Les amylases extracellulaires des actinomycètes sont des enzymes thermostables peuvent être utilisé dans la boulangerie, l'industrie pharmaceutique, du papier et de la pâte **(Mukhtar et al., 2017).**

Les résultats de ce test apparaissent généralement après de 7 jours sur un milieu à base d'amidon. L'hydrolyse d'amidon est témoignée après addition du lugol par l'apparition d'une zone claire autour des colonies traduit la dégradation de l'amidon**(Figure 22),** alors que l'apparition d'une couleur brune des souches signifie que l'amidon n'a pas été hydrolysé (**Santos et al., 2012).**

Les résultats des études menées pour rechercher de l'activité amylase de **Khwaja et al. (2011) et Janaki (2017)** montrent que plusieurs espèces d'actinomycètes comme les Streptomyces limosus et Thermomonospora curvata et Thermomonospora viridis ont été trouvés être une source puissante d'enzyme d'amylase.

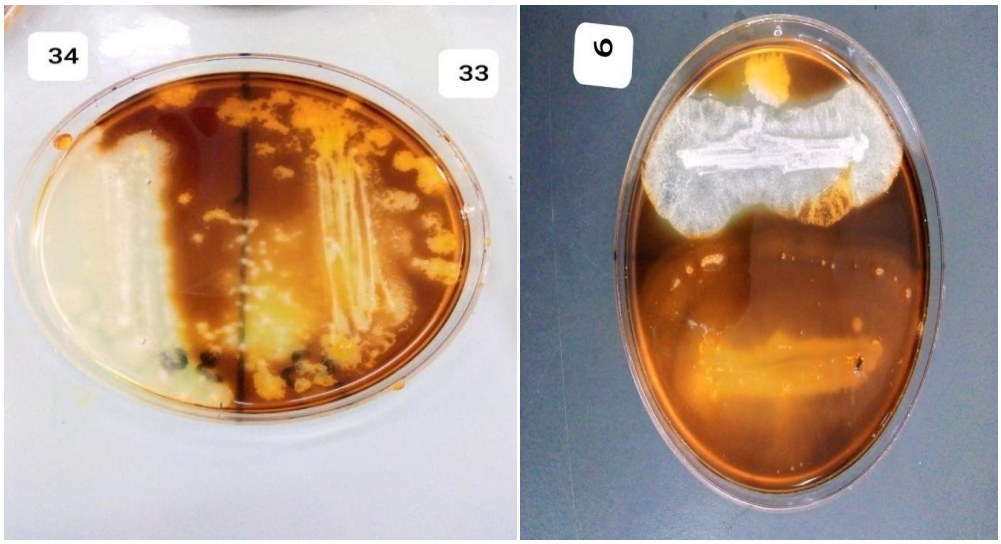


Figure 22 : Test d'Hydrolyse de l'amidon est positif pour les isolats des actinomycètes**.(prise personnelle2021).**

IV.1.2.Recherche de lécithinases et lipases

La figure ci-dessous **(figure23)** et le **tableau 9** présente les résultats des tests de lécithinases et lipases, les souches possèdent l'enzyme lécithinase.

La lécithinase permis de dégrader la lécithine. Les souches possèdent les lipoprotéinase, qui sont des enzymes lipases qui hydrolysent les triglycérides et les protéinases qui hydrolysent les lipoprotéines. Le résultat présent une zone de protéolyse transparente traduit l'hydrolyse de la lécithine et une zone d'opacification hydrolyse les lipoprotéines.

Ces résultats sont similaires aux travaux de **Das *et al.* (2012), Minotto *et al.* (2014) in Cheriet *et al.* (2015).**

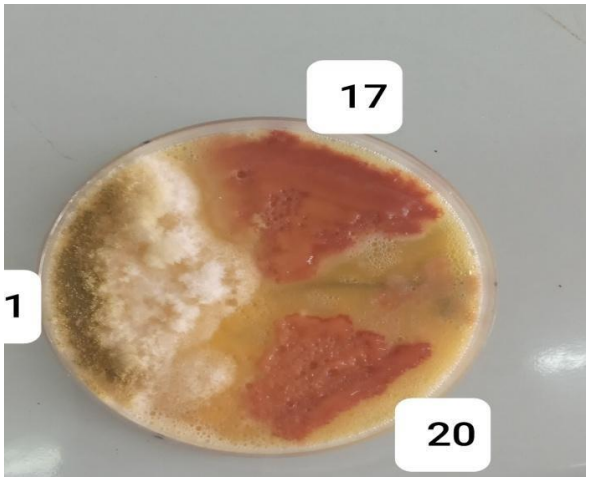


Figure 23: Test d'hydrolyse de la Lécithine en présence des actinomycètes.**(prise personnelle2021**).

IV.1.3.Réduction des nitrates

La Figure (24) montre que le test des nitrates est positif de toutes les souches des actinomycètes (**tableau 9**) présentent un changement de couleur (rouge) après l'ajoute des réactifs NR1 et NR2.



Figure 24 : Tests positif deréduction des nitrites pour les souches desactinomycètes**. (prise personnelle2021).**

IV.1.4.Utilisation des différents substrats carbonés et production de H_2S

Dans la littérature, l'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge de phénol). La gélose TSI fournit trois renseignements principaux .

Les résultats de ce test apparaissent après 7 à 14 jours d'incubation. Si le résultat est positif, cela se traduit par une croissance de ses bactéries testées, donc il y a utilisation du glucide comme source de carbone. Alors que l'absence de la croissance bactérienne indique un résultat négatif, donc la souche n'a pas la capacité d'utiliser le glucide comme source de carbone **(Smaoui, 2010).**

Paul Njenga *et al.* (2017) ont montré que les actinomycètes ont différentes sources principales de carbone. Le principal déterminant des besoins en sources de carbone des actinomycètes dépend largement mais pas entièrement des activités physiologiques de l'isolat.

Cette étude a réalisé des isolats qui différaient avec une étude antérieure sur les besoins en sources de carbone. La raison possible pourrait être des différences dans le type de souches isolés et les voies métaboliques utilisées par les isolats.
Les résultats de (**Morakchi 2011)** montrent que la plupart des souches des actinomycètes de genre Streptomyces utilisent des glucides comme source de carbone mais qui diffère selon les besoins nutritionnelle de chaque souche.

Donc, l'environnement dans lequel les actinomycètes se développent pour déterminer leurs besoins en sources de carbone.

IV.1.4.1.Productions d'H2S

Après l'incubation des souches d'actinomycetes 10 jours sur le milieu TSI, les isolats présentent un test négatif dont on n'a pas noté un noircissement du culot au fond des tubes de TSI.

Nous avons obtenues des résultats qui sont similaires à les chercheures **Tresner et Danga (1958), Küster et Williams (1964) ,** qui ont travaillés sur la production d'H2S par des espèces des actinomycètes confirment que les actinomycètes sont productrice d'H2S.

IV.1.7.Dégradation de l'urée

Les tests de dégradation de l'urée obtenue sont positifs pour tout les souches des actinomycètes possèdent des uréases Sauf les souches **S2 , S13 ,S37** qui sont négatifs

Les résultats obtenus sont différents, les souche S20 ,S13,S1,S37 le test est négatif, ce qui indique que cette souche n'utilise pas le citrate de Simmons comme une source de carbone .On n'a pas observée le virage de la couleur du milieu citrate vers le bleue (**Figure 32**).Les mêmes résultats obtenus avec les actinomycètes ont été publiés par **Harir et al. (2017),** Par contre, les autres souches sont résultats sont positif.

IV.1.8.Le réactions de VP

Tout les souches sont positif sauf la souche 28. Les tests de VP sont positif, du changement de couleur des milieux enregistrées et la couleur varies vers le gris- rouge, Les mêmes résultats sont obtenus par plusieurs chercheurs avec des actinomycètes **Go1use (2017), Sheik et al. (2017).**

IV.1.9.Tests de sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité et la résistance des isolats ont été évaluées selon les critères suivants :

- Présence ou absence de la zone d'inhibition
- Diamètre ≥ à 10 mm = isolat sensible ; ≤ à 10 mm = isolat résistant.

Les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques réalisés sur les 16 isolats, sont représentés dans le**(Tableau10), (Figure26).**

Tableau 10 : Sensibilité des isolats d'actinobactéries aux différents antibiotiques

	Diamètre de zone d'inhibition (mm)									
Souhes	**AMOXICILNE**		**PENISILLINE**		**NEOMYCIE**		**CHLOTETRACYCLINE**		**NYSTATINE**	
	S/R	DIM	S/R	DIM	S/R	DIM	S/R	DIM	S/R	DIM
BN 1	S	29.6	R	R	S	10.4	S	18.8	R	
BN20	S	28.4	R	R	S	R	S	21.2	R	
BN17	S	31.8	RR	R	S	R	S	18	R	
BN 33	S	35	R	18.8	S	13	S	22.6	R	
CH28	S	21.8	R	R	S	R	S	28	S	22
CH 24	S	26.2	S	16.2	S	12.4	S	27	R	
CH 13	S	35	S	16	S	11.4	S	21.4	R	
CH 2	S	31.6	R	R	S	12.4	S	21.6	R	
OU43	S	35	S	29.7	S	14.6	S	21.6	R	
OU 47	S	35	S	35	S	35	S	35	R	
OU 37	S	35	S	35	S	35	S	35	R	
OU 50	S	35	S	20.8	S	11.8	S	21.8	R	
TAM5	S	35	S	12.6	S	19.4	S	24.4	R	
TAM7	S	34	S	12.3	S	17	S	22	R	
TAM3	S	32.4	S	10.2	S	13.2	S	18.4	R	
TAM8	S	35	S	30	S	12.8	S	31.8	R	

S:sensible ,R :résistance ,CH ;chiffa,TAM :tameuzguida,OU :ouzera,BN :ben chicao

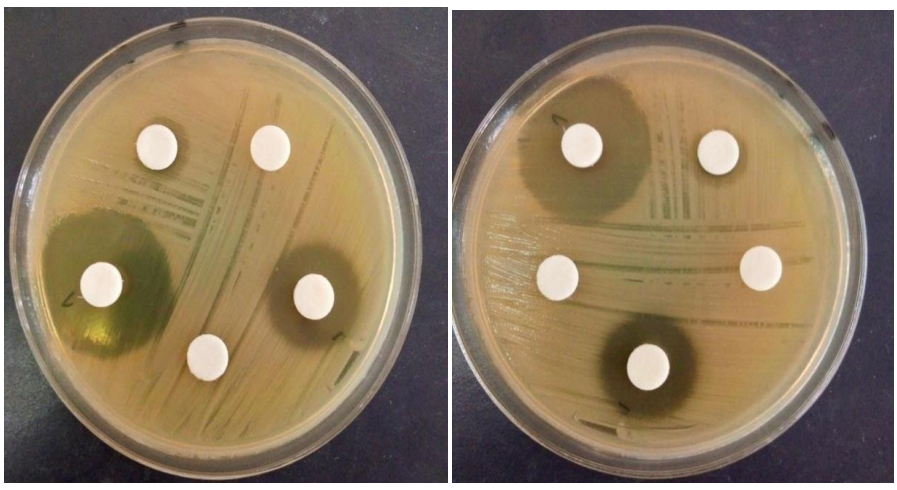


Figure 26 : Tests de sensibilité aux antibiotiques **(prise personnelle2021).**

D'après les résultats, tout les isolats s'ont montré sensible à l' antibiotiques AMOXICILLINE, dont la zone d'inhibition varie entre 21.9 jusqu'a 53 mm de diamètre.

Les souches 8T AM. ,5 TAM.7 TAM ,3 TAM, 50.OU ,37.OU ,47.OU, 43.OU ,13CH ,24 CH sont sensible à l'antibiotique PENISILINE , dont la zone d'inhibition varie de 10.2 jusqu'a 35 mm mais les autres isolats 1 BN, 20 BEN, 17.BEN ,33BN ,28.CH ,2CH se sont révélés résistants à la PENISILLINE.

Les souches : 1BEN, , 33 BEN ,24 CH ,13CH, 2CH ,43OU ,47OU, 37OU , 50 OU , 5 TAM ,7 TAM , 8 TAM, 3TAM sont sensible à l'antibiotique NEOMYCINE , dont la zone d'inhibition varie de 10.4 jusqu'a 35 mm mais les autres isolats 20 BEN, 17 BEN , 28 CH , se sont révélés résistants à la NEOMYCINE.

Tout Les souches : sont sensible à l'antibiotique CHLOTETRACYCLINE , dont la zone d'inhibition varie de 18.4 jusqu'a 35 mm .

La souches CH28 est sensible à l'antibiotique NYSTATNE , dont la zone d'inhibition de 22 mm mais les autres isolats souches 8T AM. ,5 TAM.7 TAM ,3 TAM, 50.OU ,37.OU ,47.OU, 43.OU ,13CH ,24 CH ,1 BN, 20 BEN, 17.BEN ,33BN ,2CH , se sont révélés résistants à la NYSTATNE.

D'aprés les tests effectués précèdemment, nous pouvons dire que les isolats obtenus appartienne à l'espéce *streptomyces*.

IV .Etude cinétique de la croissance et de la production d'antibactériens ;

IV .1.Cinétique de croissance des souches (CHIFFA) :

La cinétique de croissance des souches d'actinomycètes de (CHIFFA) ont été étudiés afin de déterminer la densité optique et la mesure du pH et du poids sec. Les résultats obtenus sont présentés dans la (**Figure.27).**

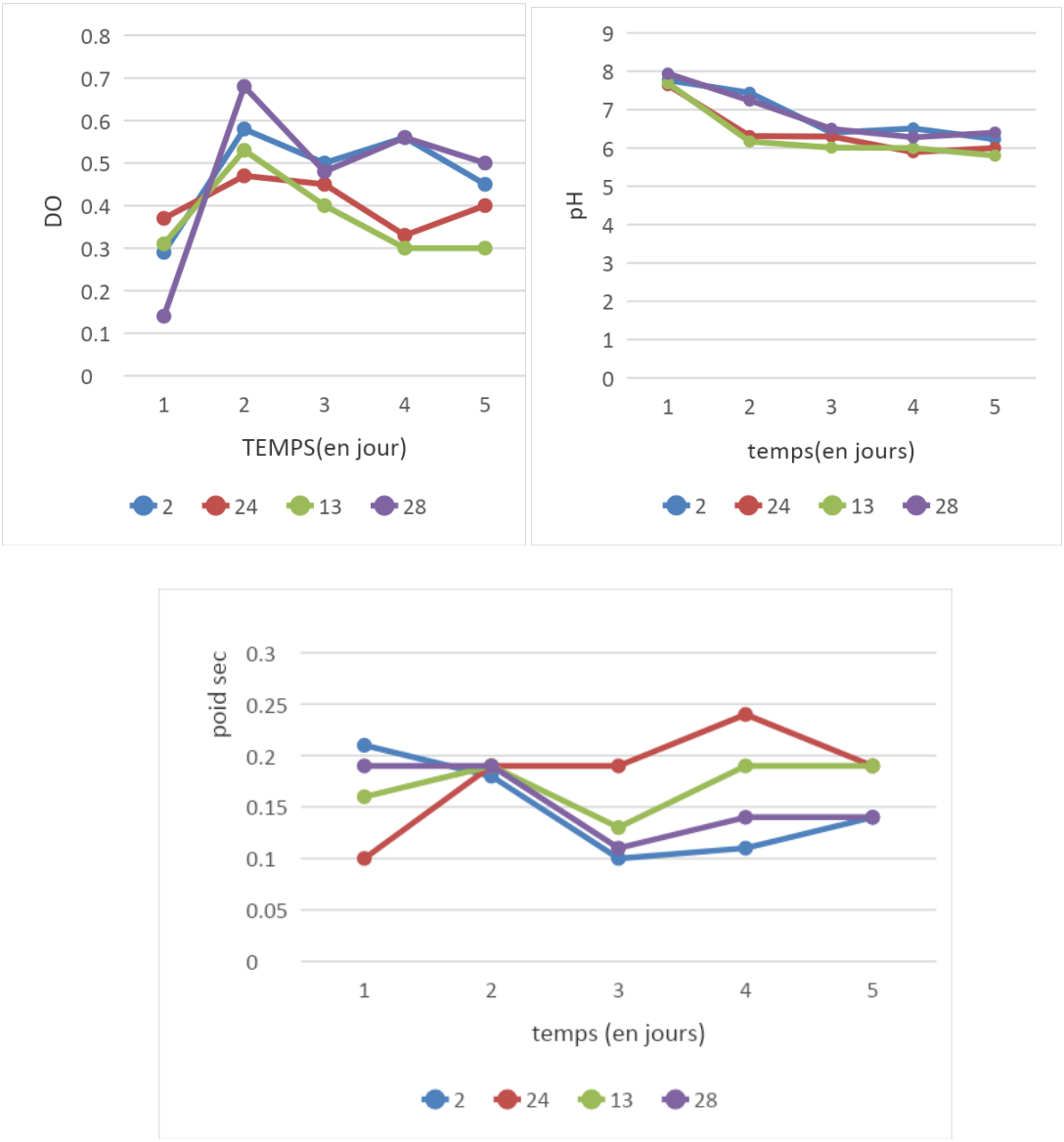


Figure 27 : Cinétique de croissance des souches ben chiffa.

La phase de latence est pratiquement inexistante. Durant la phase de croissance le poids sec augmente rapidement pendant les 24 premières heures de fermentation et plus lentement entre le 2éme et le 3éme jour **(figure26).** Cette phase est marquée par une acidification du milieu de culture qui peut être expliquée par une l'adaptaion del'inoculum au milieu de culture (prèculture).

Pendant les 3 premiers jours de culture la DO augmente rapidement pour atteindre la valeur0.23 pour la souche 1 et 0.13 pour la souche 20 et 0.48 pour la souche 17 et 0.11 pour la souche 33 C'est phase est exponentielle.

Cette phase est marquée par une acidification des deux milieux de culture qui peut être expliquée par une libération d'acides organiques.

A partir de 2éme jours, les souches entre dans la phase de déclin. On observe la diminution de la DO de la culture et le pH remonte progressivement pour se rapprocher de la neutralité en fin de culture qui est due à la dégradation des sources azotées organiques tels que les acides aminés présents dans l'extrait de levure, qui sont désaminés pour libérer de l'ammonium **(STRUB ,2008**).

A partir de 3éme jours pour les souche (1 et 20 et 17) et 2éme jour pour la souche 24 , nous avons observé une augmentation du poids sec pour les souche (1et 20 et 17) qui peut être expliquée par la faible précision de la technique. En effet, selon **MARTIN et MCDANIEL.(1975**).

La courbe de croissance de la souche 33 est caractérisée par une absence de la phase de latence : elle peut être obtenue en adaptant l'inoculum sur le même milieu (préculture) et en augmentant sa taille (**GUIRAUD, 2007).**

Selon **MARTIN et MCDANIEL.(1975**) ,le dosage des acides nucléiques représente l'un des techniques les plus favorable permattent de suivre la croissance avec plus de précision chez les microorganismes filamenteux.

IV.2.Cinétique de croissance des souches (TAMESGIDA) :

La cinétique de croissance des souches d'actinomycètes de (TAMESGIDA) ont été étudiés afin de déterminer la densité optique et la mesure du pH et du poids sec. Les résultats obtenus sont présentés dans (**Annexe 1).**

La phase de latence est pratiquement inexistante. Durant la phase de croissance le poids sec augmente rapidement pendant les 24 premières heures de fermentation et plus lentement entre le 2éme et le 3éme jour (**Annexe 1).**). Cette phase est marquée par une acidification du milieu de culture qui peut être expliquée par une l'adaptaion del'inoculum au milieu de culture(prèculture).

Pendant les 2 premiers jours de culture la DO augmente rapidement pour atteindre la valeur0.60 pour la souche 5 et 0..33 pour la souche 7et 0.66 pour la souche 35 et 0.34pour la souche 8 C'est phase est exponentielle.

Cette phase est marquée par une acidification des deux milieux de culture qui peut être expliquée par une libération d'acides organiques.

A partir de 4éme jours, les souches entre dans la phase de déclin. On observe la diminution de la DO de la culture et le pH remonte progressivement pour se rapprocher de la neutralité en fin de culture qui est due à la dégradation des sources azotées organiques tels que les acides aminés présents dans l'extrait de levure, qui sont désaminéspour libérer de l'ammonium **(Strub ,2008**)

La croissance tendent à ralentir durant l'intervalle (2-3) jours .Cette phase est caractérisée par une période de faible croissance des souches accompagnée d'une faible augmentation du pH qui est probablement due à la dégradation des sources azotées.

A partir de 3éme jours pour les souche , nous avons observé une augmentation du poids sec pour qui peut être expliquée par la faible précision de la technique. En effet, selon **Martin et Mcdaniel.(1975**).

Les courbes de croissance est caractérisée par une absence de la phase de latence : elle peut être obtenue en adaptant l'inoculum sur le même milieu (préculture) et en augmentant sa taille (**Guiraud, 2007).**

Selon **Martin et Mcdaniel.(1975**) ,le dosage des acides nucléiques représente l'un des techniques les plus favorable permattent de suivre la croissance avec plus de précision chez les microorganismes filamenteux.

IV.3. Cinétique de croissance des souches(BEN CHICAO) :

La cinétique de croissance des souches d'actinomycètes de (ben chicao) ont été étudiés afin de déterminer la densité optique et la mesure du pH et du poids sec. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure. (**Annexe 1).**

La phase de latence est pratiquement inexistante. Durant la phase de croissance le poids sec augmente rapidement pendant les 24 premières heures de fermentation et plus lentement entre le premier et le quatrième jour (**Annexe 1).** Cette phase est marquée par une acidification du milieu de culture qui peut être expliquée par une l'adaptaion del'inoculum au milieu dz culture(prèculture).

Pendant les 2 jours de culture la DO augmente rapidement pour atteindre la valeur0.0.42 pour la souche 1 et 0.39 pour la souche 20 et 0.51 pour la souche 17 et 0.42 pour la souche 33 C'est phase est exponentielle.

Cette phase est marquée par une acidification des deux milieux de culture qui peut être expliquée par une libération d'acides organiques.

La croissance tendent à ralentir durant l'interval (3-5) jours. Cette phase est caractérisée par une période de faible croissance des deux souches accompagnée d'une faible augmentation du pH qui est probablement due à la dégradation des sources azotées.

A partir de 2éme jours, les souches entre dans la phase de déclin. On observe la diminution de la DO de la culture et le pH remonte progressivement pour se rapprocher de la neutralité en fin de culture qui est due à la dégradation des sources azotées organiques tels que les acides aminés présents dans l'extrait de levure, qui sont désaminés pour libérer de l'ammonium **(Strub ,2008**).

Pendant cette phase nous avons observé une augmentation du poids sec pour les souche (1et 20 et 17) qui peut être expliquée par la faible précision de la technique. En effet, selon **Martin et Mcdaniel.(1975**).

La courbe de croissance de la souche 33 est caractérisée par une absence de la phase de latence : elle peut être obtenue en adaptant l'inoculum sur le même milieu (préculture) et en augmentant sa taille (**Guiraud, 2007).**

Selon **Martin et Mcdaniel.(1975**) ,le dosage des acides nucléiques représente l'un des techniques les plus favorable permattent de suivre la croissance avec plus de précision chez les microorganismes filamenteux.

IV .4.Cinétique de croissance des souches (OUZRA) :

La cinétique de croissance des souches d'actinomycètes de (CHEFFA) ont été étudiés afin de déterminer la densité optique et la mesure du pH et du poids sec. Les résultats obtenus sont présentés dans (**Annexe 1).**

La phase de latence est pratiquement inexistante. Durant la phase de croissance le poids sec augmente rapidement pendant les 24 premières heures de fermentation et plus lentement entre le 2éme et le 3éme jour **(Annexe 1).** Cette phase est marquée par une acidification du milieu de culture qui peut être expliquée par une l'adaptaion del'inoculum au milieu de culture (prèculture).

Pendant les 3 premiers jours de culture la DO augmente rapidement pour atteindre la valeur0.35 pour la souche 47 et 0.49 pour la souche 43et 0.58 pour la souche 37 et 0.55 pour la souche 50 C'est phase est exponentielle.

Cette phase est marquée par une acidification des deux milieux de culture qui peut être expliquée par une libération d'acides organiques.

A partir de 3éme jours, les souches entre dans la phase de déclin. On observe la diminution de la DO de la culture et le pH remonte progressivement pour se rapprocher de la neutralité en fin de culture qui est due à la dégradation des sources azotées organiques tels que les acides aminés présents dans l'extrait de levure, qui sont désaminés pour libérer de l'ammonium **(Strub ,2008**).

La croissance tendent à ralentir durant l'intervalle (2-4) jours .Cette phase est caractérisée par une période de faible croissance des souches accompagnée d'une faible augmentation du pH qui est probablement due à la dégradation des sources azotées.

A partir de 4éme jours pour les souche , nous avons observé une augmentation du poids sec pour qui peut être expliquée par la faible précision de la technique. En effet, selon **Martin et Mcdaniel.(1975**).

Les courbes de croissance est caractérisée par une absence de la phase de latence : elle peut être obtenue en adaptant l'inoculum sur le même milieu (préculture) et en augmentant sa taille (**Guiraud, 2007).**

Selon **Martin et Mcdaniel.(1975**) ,le dosage des acides nucléiques représente l'un des techniques les plus favorable permattent de suivre la croissance avec plus de précision chez les microorganismes filamenteux.

V-Criblage des souches d'actinomycètes

1-Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la technique des cylindres d'agar

L'activité antibactérienne a été mise en évidence par la technique des cylindres d'Agar. Cette technique est une méthode de diffusion en milieu gélosé. Elle permit de détecter l'effet inhibiteur des souches d'actinomycètes envers les bactéries tests utilisées.**(Annexe 1).**

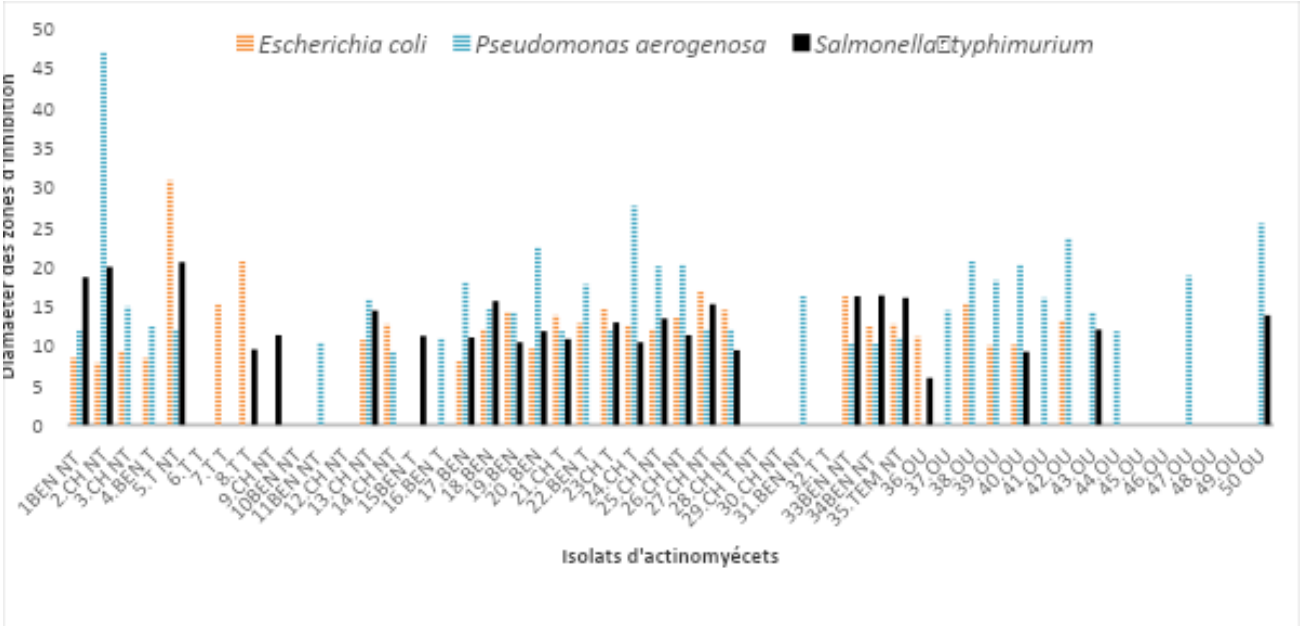


Figure 28 : Activité des isolats d'actinomycètes déterminée par la technique des cylindres d'agar vis à vis des germes cibles testés *(Escherichia coli, Salmonella typhimurium , Pseudomonas aeruginosa).*

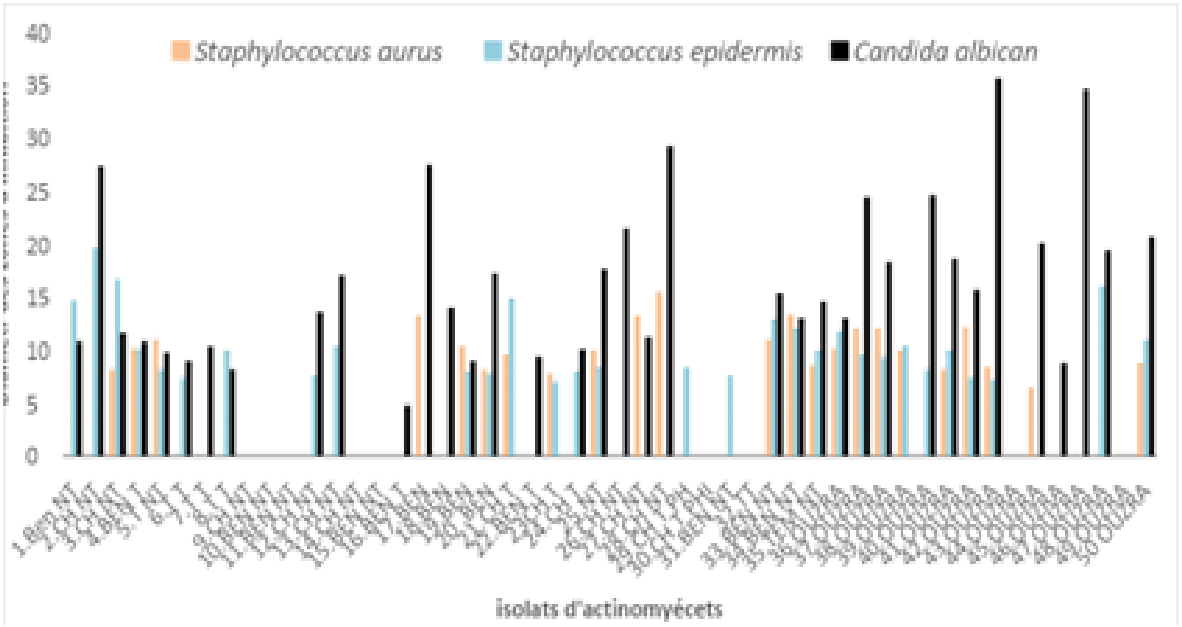


Figure 29 : Activité des isolats d'actinomycètes par la technique des cylindres d'agar vis à vis des germes cibles testés(*Candida albican, S. epidermis, S. aureus).*

Sur l'ensemble des 50 isolats actinomycétales testés, par la méthode des cylindres d'agar, 46 souches (92 %) ont montré une activité antibactérienne vis-à-vis des germes cibles (bactérie à Gram positif et à Gram négatif), tandis que les 4 souches (8 %) n'ont montré aucune zone d'inhibition vis-à-vis des germes cibles utilisés.

➢Parmi les isolats actinomycétales ayant une activité antibactérienne, 16 ont une double activité ; c'est-à-dire vis-à-vis des souches tests utilisé. Ceux sont BEN CHICAO(1,20,17,33) CHIFFA(28,24,13,2)OUZRA (43,47,37,50)TAMESGIDA(5,7,35,8)

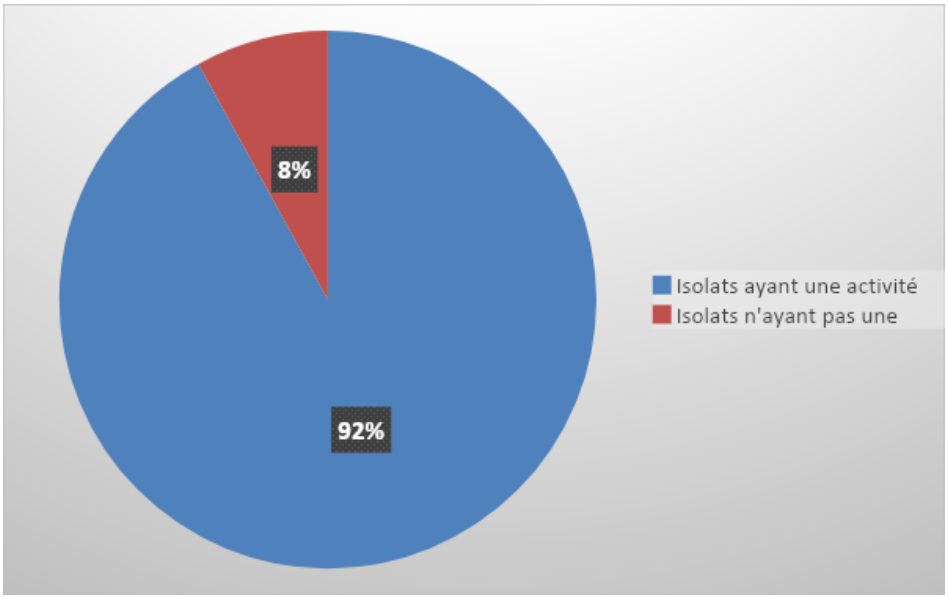


Figure 30 : Représentation graphique des pourcentages des isolats actinomycétales ayant une activité antibactérienne vis-à-vis des souches tests utilisées.

➢**Les souches 29** :(63.04%) présentent une activitéantibactérienne vis-à-vis de la souche *Escherichia coli* dont lediamètre le plus grand est donné par la souche **5(T.NT)(30.8mm)**

➢**Les souches 23** :(50%) présentent une activitéantibactérienne vis-à-vis de la souche*Staphylococcus aureus*dont lediamètre le plus grand est donné par **la souche28.CH NT(15.5mm)**

➢**Les souches 31** :(67.39%) présentent une activitéantibactérienne vis-à-vis de la souche *Staphylococcus epidermis* dont lediamètre le plus grand est donné par la souche

2.CH NT(19.6mm).

➢**Les souches 37** :(80.43%) présentent une activitéantibactérienne vis-à-vis de la souche *Candida albican* dont lediamètre le plus grand est donné par **la souche 43.OUZRA(35.6mm).**

➢**Les souches 35 :(**76.08%) présentent une activitéantibactérienne vis-à-vis de la souche *Pseudomonas aerogenosa* dont lediamètre le plus grand est donné par **la souche 2.CH NT(47mm) .**

➢**Les souches 25** :(54.34%) présentent une activitéantibactérienne vis-à-vis de la souche *Salmonella typhimurium* dont le diamètre le plus grand est donné par la souche5.T NT(20.5mm).

Ces résultats s'avèrent intéressants du fait de la présence d'antibiotiques à large spectre qui agissent contre des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif. D'autre part, certaines souches produisent des antibiotiques qui ont un spectre étroit et qui agit vis-à-vis d'un seul germe cible,

- 3 souches ont un spectre d'activité étroit vis-à-vis d'*Staphylococcus* epidermis et*Candida albican.*
- 2 souches ont un spectre d'activité étroit vis-à-vis d'*E.coli* et*Candida albican.*
- 2 souches ont un spectre d'activité étroit vis-à-vis de *Salmonella typhimurium* uniquement.
- 2 souches ont un spectre d'activité étroit vis-à-vis d*e Pseudomonas aerogenosa et E.coli.*
- 2 souches ont un spectre d'activité étroit vis-à-vis de *Candida albican Pseudomonas aerogenosa.*
-

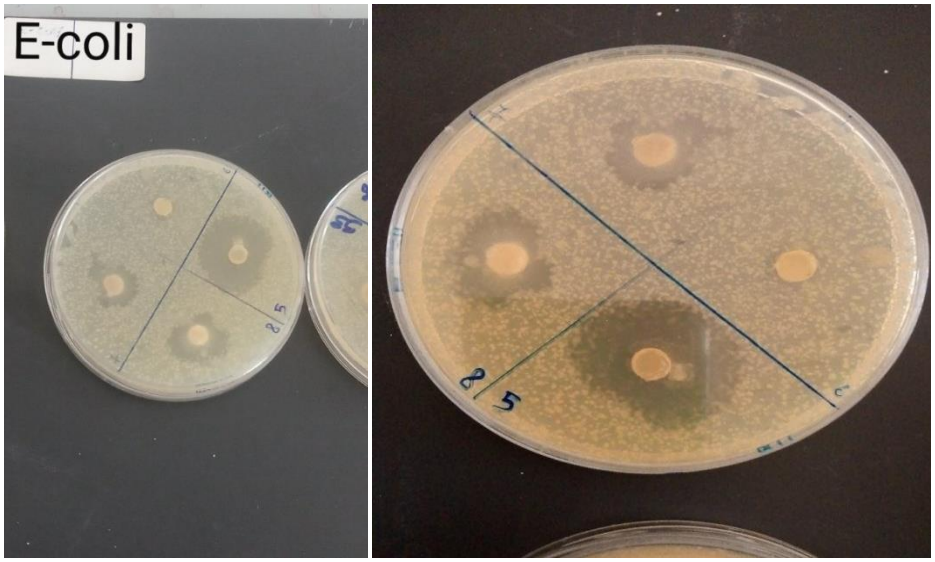


Figure 31 :Activité antagoniste des souches, déterminée par la méthode des cylindres d'agar vis-à-vis des germes cibles (*Escherichia coli ,Candida albican*). **(prise personelle 2021).**

La souche 28.CH NT présente la meilleure zone d'inhibition vis-à-vis de Staphylococcus aureus . Ce résultat est intéréssant d'autant plus que les infections dues à Staphylococcus aureus occupent en pathologie infectieuse une place importante par leur nombre et leur gravité, aussi bien à l'hôpital qu'à l'extérieur. Aussi en Algérie, le taux de résistance à la pénicilline G est d'environ 12, 5 %. Les pourcentages de résistance à la méticilline chez Staphylococcus aureus étaient plus élevés dans les pays du Sud de l'Europe (Grèce 44 %, Italie 38 %, Portugal 38 %, France 33 %, Espagne 23%) **(Fleurette, 1990).**

D'autre part, la souche 5(T.NT) présente une meilleure zone d'inhibition d'E.coli. Ce résultat est très intéressant surtout du fait que d'après les estimations faites par le plan national d'alerte sur les antibiotiques (2011-2016) sur l'augmentation des infections urinaires dues à Escherichia coli, et la résistance aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) progresse constamment depuis 2005 (7% en 2009 vs 1% en 2005).

De ce fait la souche CH NT ,testées ont un bon spéctre d'activité agissant sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Ces résultats concordent avec ceux de **Sateech *et al.*, (2011),** qui ont isolés à partir Karwar, sur la côte ouest de l'Inde, ou le nombre d'actinomycètes isolés étés de 54 souches et dont le nombre de souche active vis-à-vis des germes cibles été de 28 isolats**. Jihani *et al.*, (2012)** ont isolé six souches à partir d'une vieille maison du Maroc sont actives vis-à-vis des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, et dont le genre a été rapproché au Streptomyces sp. Aussi **Ali Alharbi *et al.*, (2012),** ont isolés des souches à partir du sol d'Arabie Saoudite actives vis-à-vis des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus après la sélection et la purification des isolats d'actinomycètes, ainsi que, les observations morphologiques, suivie des tests physiologiques et biochimiques des différents isolats d'actinomycètes. Les colonies obtenues sont de tailles différentes petite, moyenne et grande, dont leurs diamètres varient de 1 à 3 mm. Plusieurs formes de colonies sont obtenus (lisse, bombé, aplatie), avec un mycélium végétatif (mycélium aérien) de couleurs variables (jaune, marron, et blanche etc.). L'examen microscopique révèle que les bactéries sont de Gram positif.

Les tests physiologiques d'hydrolyses (amidon), ainsi que, les tests biochimiques (hydrolyse , catalase, réduction des nitrates) sont positif pour tous les isolats, à l'exception de la production de gaz d'H2S est négatif. Les résultats de la cinétique enzymatique des extraits amylasiques montrent une variation dans les activités amyliques

Parmi les milieux de culture utilisés pour l'isolement des actinomycètes (GLM, ISP2 ,SCA ,GAUSSE), à partir de quatre sols (cheffa,tamesgida,ben chicao,ouzra) tout les milieu a permis l'obtention des souches et purifiées car présentant une morphologie caractéristique des actinomycètes.

Après criblage de ces isolats d'actinomycétales par la technique des cylindres d'agar, vis-à-vis de 6 genres bactériens (3 bactéries à Gram +, 3 bactéries à Gram -), 16 isolats**,** ont été sélectionnés pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques.

La mise en évidence de l'activité antibiotique est réalisée sur milieu solide par la technique des cylindres d'agar et la production d'antibiotiques sur milieu SCA liquide, le suivi de la production d'antibiotiques et la cinétique de croissance et mesure du pH sont effectués quotidiennement,.

Sur cinquante souches d'actinomycètes isolées, seules deux souches 2,50,43,20,ont été choisies pour la production d'antibiotiques en milieu liquide, l'activité optimale a été obtenue en fin de la phase de déclin.

Ces résultats indiquent que les actinomycètes isolés du ces quatre régions constitue une source prometteuse pour la découverte de nouvelles substances bioactives.

Comme perspectives il serait interessant d'extraire ces molécules bioactives, d'exploiter d'autres régions et pourquoi pas obtenir de nouvelles éspèces.

Références

AGATE A.D., BHAT J.V., (1963). A method for the preferential isolation of actinomycetes from soils. Antonie Van leeuvenhoek. 29: 297-304.

Agate A.D., Bhat J.V., 1963. A method for the preferential isolation of actinomycetes from

Alharbi S. A., Arunachalam C., Murugan A. M., Wainwright M., (2012). Antibacterial activity of actinomycetes isolated from terrestrial soil of Saudia Arabia. Journal of food, agriculture and environment. 2(10), 1093-1097.
antibacterial activities.International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences.pp9.

Aouiche A. , Sabaou N., Meklat A., Zitouni A., Mathieu F., Lebhiri A., (2012). Activité antimicrobienne de streptomyces sp. PAL111 d'origine saharienne et toxinogènes résistants aux antibiotiques. Journal de Mycologie Médicale. 22, 42.51

Avril J. L. .,(1992). Bactériologie clinique.2 éd. Paris : ellipses. Pp: 511.

Badji B, Riba A., Mathieu F., Lebrihi, et Sabaou N., (2005). Antifungal activity of saharan Actinomadura strain against various pathogenic and toxigenic fungi. J. Mycol Med. 15: 211 219.

Badji B., Riba A., Mathieu F., Lebhiri A., Sabaou N., (2005). Activité antifongique d'une souche d'actinomadura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxinogènes. Journal de Mycologie Médicale. 15, 211 - 219.

Badji B., (2006). Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres Actinomadura et Nonomurea. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou p 226

Badji B., Riba A., Mathieu F., Lebhiri A., Sabaou N., (2005). Activité antifongique d'une souche d'actinomadura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxinogènes. Journal de Mycologie Médicale. 15, 211-219.
Bakour L., (2006). Caractérisation chimique de nouvelles mutatimicynes synthetisées par Saccharothrix SA103 et influence des sources de carbone et d'azote sur la production. Mémoire de magistère, université A. Mira de Bejaia.

Basilio A., Gonzalez I., Vincente M. F., Gorrochategui J., Cabello A., Gonzalez A. andO. Genilloud O. (2003). Pattems of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and sanity. J. Appl Microbiol., 95.814-823.

Basilio A., Gonzalez I., Vincente M. F., Gorrochategui J., Cabello A., Gonzalez A. and O. Genilloud O. (2003). Pattems of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and sanity. J. Appl Microbiol., 95.814-823.

Bastide A., M. de Méo, M. Andriantsoa, M. Laget & G. Duménil., (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycétes productrices de substances antifongiques de structure non-polyenique mircen J. 2 : 453-466.

Berdy J. (2005). Bioactive microbial metabolites. J. Antibiot. (Tokyo). 58. Pp.1-26.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 5, Whitman W B, Goodfellow M, Kampfer P, Busse H J, Trujillo M E, Ludwig W, and Suzuki K I, (Eds) (2012). Springer, 2nd

Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P., and Marquier P., (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. Laboratoire de Bactériologie, virologie et microbiologie industrielle. Hyg. Rev, N°3.

-Botton B., Breton A., Fevre M., Guy Ph., Larpent. & Veau P.,(1990). Moisissures utiles et nuisibles (importance industrielle). Masson, France.pp48-98.

Boudemagh A. (2007). Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse de Doctorat, spécialité : Microbiologie Appliquée. Université Mentouri, Constantine, p62

Boudjelal-Bencheikh F. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. P : 5-35.

Boudjella H., (2007). Etude taxonomique et des proprietes antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens et caracterisation des principaux antibiotiques secretes par trois souches. These de Doctorat institut National Agronomique ElHarrach (Alger).p177.

Boudjella H., Bouti K., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N., (2006). Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium Sg* 10 isolated from a Saharan soil.Microbiological Research, 161, 288-298.

Boughachiche F. , Reghioula S., Oulmi L. , Zerizer H., Kitouni M. , Boudemagh A., Boulahrouf A., (2005). Isolement d'actinomycètales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha de Ain Mlila. Sciences & Technologie. 23, 5- 10.

Boulahrouf A., Rachedi K., Duran R., Lauga B., Karama S., B Lynda., Boulezaz S., Boukrouma M., Boutaleb H., and Boughachiche F.,(2016). Optimization of alkaline protease production by Streptomyces sp. strain isolated from saltpan environment. african journal of biotechnology.15(26) :1401-1412.

Breton A., Theilleux J., Sanglier J.J and Viobis G. (1989). Organismes producteurs: biologie,Ctaxonomie et écologie. In "Biotechnologie des Antibiotiques". *Larpent J.P. et Sanglier J.J., Masson : Paris*. pp: 33-70.

Buckingham J. (1997). Dictionary of naturel products. Chapman and Hall/CRC, England CRC press.

Bushell M. E. , Dunstan G. L. and Wilson G. C. (1997). Effect of small scale culture vessel type on hyphal fragment size and erythromycin production in *Saccharopolyspora erythraea*. Biotech. Lett. **19** : 49 52.

Cavala M., Eberlint T., 1994. Isolement des Streptomycètes du sol. L'opéron. 4: 13-7.

Cavallo J-D. et Mérens A. (2008). Antibacterial spectrum of an antibiotic and clinical categorization. *Pathologie Biologie*. Vol .56 (5). P : 300-304.

characterization of actinomycetes from soil of ad-dawadmi, saudiarabia and screening their

Chiba H, Inokoshi J, Nakashima H, Omura S, Tanaka H.(2004). Actinohivin, a novel anti-human immunodeficiency virus protein from an actinomycete, inhibits viral entry to cells by binding high-mannose type sugar chains of gp120. Biochemical and Biophysical Research Communications.

Choulet. F. (2006). Evolution du génome des Streptomyces : transfert horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy 1, pp 210.

Colombié. V. (2005). Description de la production de spiramycine par Streptomyces ambofaciens.Modélisation métabolique, simulation et capteurlogiciel. Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées deToulouse. pp174.

Davies J. and Mazel D. (1997). Comment la résistance vient aux bactéries. Biofutur. 170: 14-17

Delarras C., (2014). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle Sanitaire. Tec & doc Lavoisier.492p Edition de la tourelle, St. Mandé. pp. 110-111.

El-Nakeeb M.A. and Lechvalier H.A., (1963). Selective isolation of aerobic actinomycetes. Appl. Microbiol. 11. 75-77.

Ensign J. C., Normand P., Burden J. P. and **Yallop C. A.,** (**1993**). Physiology of some *actinomycete genera*. *Res. Microbiol*. **144:** 657-660.

Euzéby J.P. (2013). - List of bacterial names with standing in nomenclature. http://www.bacterio.cict.fr/s/streptomycesa.html France.

Gouse B., Sheik M., Sheriff M., Gokul S., Ranjith MS., (2017). Isolation and

Guiraud J.P. (1998) Techniques d'analyse microbiologique, dans : Microbiologie alimentaire. Dunod Paris: 171-334.

GUIRAUD J-P. (2007). Microbiologie alimentaire. Dunod. France. Partie / B : 79-168.

Guiraud(1998). Gordon R.E., R.E Smith.,(1953).Rapidly growing,acid fast bacteria I.Species descriptions of Mycobacterium phlei.J.Bacteriol. 66:41-48.

Harir M.,Bellahcene M.,Fortas Z.,José M.G., Antonio V.,Susana R.C.,(2017). Isolation and characterization of actinobacteria from algerian sahara soils with antimicrobial activities. International Journal Molecular and cellular Medecin Spring.6(2) :212.

Hazar Z. (2010). Essai d'amélioration du taux de rétention de la tétracycline dans un polymère à empreinte moléculaire formé de co-polymères fonctionnalisés de l'acide lactique. Thèse de Doctorat. Université de Montréal. P : 3.

Henri J., Jurion F., (1969).Can primitive farming be modernized ?publication INEAC, Horssérie, Bruxelles, 457p.

Holt J.G .,Sneath P., JT Staley., S.Williams.,(1994). Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th edition, Williams and Wilkins, Baltimore.pp 2340–2343.

Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T. and Williams S.T., (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th edition, Williams and Wilkins, Baltimore.

Huang Y., Cui Q., Wang L., Rodriguez C Quintana E., Goodfellow M. and Liuz. (2004). Streptacidiphilus jiangxinensis sp. nov., a novel actinomycete isolated from acidic rhizosphere soil in china. Antonie van Leeuwenhoek, 86.159-165.

Jakubiec-Krześniak K, Rajnisz-Mateusiak A, Guspiel A, Ziemska J, Solecka J. (2018). Secondary Metabolites of Actinomycetes and their Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties. Pol J Microbiol.

Jean N., Guy Leyral., (2014). Microbiologie Technique : Dictionnaire des techniques. Edition 2014. Pp.239, 270 , 283, 404.

Jihani S. , Brodolin K. , Iraqui M. , Ibnsouda S. , Haggoud A., (2012). Isolation a nd molecular identification of antibiotic- producing actinomycetes from an old house in the medina of Fez, Morocco. African Journal of Microbiologyresearch. 6(47), 7370- 7376.

Jihani S., Brodolin K., Iraqui M., Ibnsouda S., Haggoud A., (2012). Isolation and molecular identification of antibiotic-producing actinomycetes froan old house in the medina of Fez, Morocco. African Journal of Microbiologyresearch. 6(47), 7370-7376.

Khachatourians G G. (1998). Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. Canadian medical Association 159, 11291136.

Kim B., Al-Tai A. M., Kim S. B., Somasundaram P., Michael Goodfellow M., (2000). Streptomyces thermocoprophilus sp. nov., a cellulase-free endoxylanaseproducing streptomycete. Int. J. Sys. Ev. Microbiol., (50): 505-509.

Kitouni M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à

Lacey J. (1997). Actinomycetes in composts. Ann Agric Environ Med, **4:** 113– 121.

Lacey J., (1973). Actinomycetes in soils, composts and fodders. In: Actinomycetales: characteristics and practical importance. Eds.: G. Sykes, F.A. Skinner.Academic press, London, New York. pp 231-251.

Lacey J., (1997). Actinomycetes in composts. Ann. Agr. Env. Med. **4**: 113-121.

Lamari L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, Saccharothrix algeriensis. Thèse de Doctorat. Université de Tizi Ouzou (Algerie).

Larpent J. P., (2000). Introduction à la nouvelle classification bactérienne et les principaux Groupes bactériens. Lavoisier. France. 4 : 183-212.

Lavigne J-P. (2007). Effet des antibiotiques et mécanismes de résistance. *Cours de bactériologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.*

Le Minor L.,Véron M.,(1990). Bactériologie médicale. Médecine-Sciences Flamarion. France.

Lechevalier H.A. and Lechevalier M.P., (1981). Introduction to the order Actinomycetales. *In*:The procaryotes, Eds : Starr M. P., H. Stolp, H. G. Truper, A. Ballows and H. G. *Schlegel.Springer-Verlag. Berlin*. **2:** 1915-1922.

Lechevalier M.P., Lechevalier H.A.,(1980). The Chemotaxonomy of actinomycetes. *In* : Microbiology Thayer Actinomycete taxonomy Eds : A. Dietz, D. W. Society for industrial SIM, Special publication Number, 6. Arlington, Virginia, USA, pp. 225- 291

LECHEVALIER., LECHEVALIER, H. (1985). Biology of actinomycetes not belonging to genus Streptomyces In: Biology of industrial microorganisms. The Benjamen Cummings Publishing Company, INC. pp 315–360.

Lee J.Y. and Hwang B.K., (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various

Lee J.Y. and Hwang B.K., (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in varous vegetative soils of korea. Cam. J. Microbiol. 48.407-417.

Lee J.Y. and Hwang B.K., (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in varous vegetative soils of korea. Cam. J. Microbiol. 48.407-417.

Locci R.(1989). *Streptomyces* and related genera .Bergey's manual of systematic bacteriology.

Maameri M., 2007. Caractérisation microbiologique des sols sous conditions semi-arides. (Ksar Chellala) Mémoire.Ing.Agro.Univ. Ibn-Khaldoun, Tiaret.

Madigan M. T., JM Martinko., (2007). *Biologie des microorganismes. Pearson Education France, 11ème edition.pp. 331-423, 686-718.*

Marchal. N, Bourdon. J.L, Richard. C.l.,(1991).Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin editor, Paris.pp: 67-122. Actinomycetes from the Soils of Menengai Crater in Kenya. Arch of Clinical Micr 8(3):45. Actinomycetes in the Chesapeake Bay. Appl. Enviro. Microbiol., 997-1002.

Martin J. F. and Mcdaniel L. E. (1975). Kinetics of biosynthesis of polyene macrolide antibiotics in batch cultures: Cell maturation time, Biotechnol. Bioeng. **17**: 925-938.

MartinS.M.andBushellM.F.(1996).Effect of hyphal morphology on bioreactor performance on antibiotic producing *Saccharopolyspora erythreae* culture. Microbiol. **142** : 8.

Matan N and Matan N., (2008). Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (Hevea brasiliensis). International Biodeterioration & Biodegradation, 62: 75-78. Mentouri de Constantine. Algérie. moléculaire et spectre d'activité. Thèse de doctorat , Université Badji Mokhtar, Annaba ,16p. molécules bioactives au niveau du lac Oubeira : Etude morphologique, physiologique,

Mazri R. (2015). Nouvelle approche des relations structures-activités dans des molécules antibiotiques. Thèse de Doctorat. Université Mohamed Khider-Biskra. P78.

Merad B. (2014). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. P : 10. *Microbiol. Lett*. **202:** 97-102.

Morakchi H. 2011. Isolement et identification de souche d'actinomycètes productrices de

NANJWAD B., CHANDRASHEHARA S., GOUDANAVAR P-S., SHAMAREZ A-M., MANVI F. (2010). Productionnouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement.Production of antibioticsfromsoilisolatedactinomycetes and evaluation of theirantimicrobialactivities.

Narayana K.J.P., Prabhakar P., Vijayalakshmi M., Venkateswarlu Y. et Krishna P.S.J., (2008). Study on bioactive compounds from *Streptomyces* sp. ANU 6277. *Polish Journal of Microbiology*, 57(1): 35-39.

Nouasri A. , (1996). Les genres Microellobosporia, Saccharomonospora**,** nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat, Université de Toulouse,Tunisie , 103 p.

Ny Ony Ndrinarijaona B. (2004). Automédication en antibiotique à Antsirabe. Thèse de Doctorat. Université D'Antananarivo-Madagascar. P : 3

Oberlé K. (2012). Devenir des antibiotiques et des populations d'*Escherichia coli* et d'*Enterococcus* spp. dans les hydrosystèmes de surface. Thèse de Doctorat. Université de Rouen. P : 20.

Omura S., (1992). The search for bioactive compounds from microorganisms. Springer Verlag, New York. Inc. pp 281-303.

Oskay M. (2011). Effects of some environmental conditions on biomas and antimicrobial metabolite production by Streptomyces sp, Kgg32. International Journal of agriculture and biology ISSN Print: 1560-8530; iss online. Pp.: 1814-9596

Oskay M. (2011). Effects of some environmental conditions on biomas and antimicrobial metabolite production by Streptomyces sp, Kgg32. International Journal of agriculture and biology ISSN Print: 1560-8530; iss online. Pp.: 1814-9596.

Oskay M., **Tamer A. U.** and **Azeri C., (2004).** Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afric. J. Biotechnol*. **3(9):** 441-446.

Oskay M., Tamer A.U. and Azeri C (2004). Antibacteria activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. African Journal of Biotecnology. Vol.3 (9), pp. 441-446.

Oskay M., Tamer A.U., Azeri C., (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. African Journal of Biotechnology, 3 (9), 441 – 446.

Palaniyandi (2013), memoir Tresner et Danga (1958), Küster et Williams (1964 departement dr biol*

Park. J.O; El-Tarabily. K.A; Ghisalberti. E.L; and Sivasithamparam. K. (2002). Pathogenesis of Streptoverticillium albireticuli on Caenorhabditis elegans and its antagonism to soil-borne fungal pathogens. Letters in AppliedMicrobiology, 35: 361–365. Conn. V.M. (2005). Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University. pp 297.

partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaires des souches actives et

Patel J. J. , Brown M. E., (1969). Iteractions of Azotobacter with rhisosphere and root-surface microflora. Plant and soil. 31, 273 - 281.

Paul Njenga W., Mwaura F.B., Wagacha J.M.,Gathuru E.M.2017. Methods of Isolating

Pfefferle C., Theobald U., Gürtler H., Fiedler H.P., (2000) Improved secondary metabolite production in the genus Streptosporangium by optimization of the fermentation conditions. Journal of Bio technology , 80, 135- 142.

-Pizzul. L. (2006). Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Actinomycetes. Thèse de Doctorat. Université d'Uppsala (Suède)

Pochon J. et Tardieux P., (1962). Techniques d'analyse en microbiologie du sol. **Prescott., (2010).**Microbiologie. 3 eme édition. Paris. P : 589-603 produced by clinical isolates of actinomycetes. Can . J . Microbiol 49:669-74. representative d'actinomycetes isolé de sol aride de la region de Biskra. Sciences &Technologie . C- N°28. 59- 64 pp.

Porter J.N., (1971). Prevalance and distribution of antibiotic producing actinomycetes. *Adv. Appl. Microbiol*. **14 :** 73-92.

Prescott L. M.; Harley J. P.; Klein D. A., (2003).Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp:1164.

Prescott L. ML, Harley J. and Klein D. A^ (2007). Microbiologie. Edition de boeck et lancier

Prescott L., J Harley (2003). Microbiologie. 2ème édition. 1164P.

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., (2007). Microbiologie. De boeck : bruxelles. 2eme edition pp: 1088.

Rangaswami G.; Bagyaraj D. J.; Bagyaraj D. G., (2004). Agricultural Microbiology. PHI: New Delhi. Pp: 440.

Reghiuoa S., Boughachiche F., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A et al., (2008). Separation et caracterisation préliminaire d'antibiotiques produits parv une souche

Rifali S., Fassouane A., Boiron P., 2003. Screening of polyenic antifungal metabolites

Sacramento DR, Coelho RRR, Wigg MD. (2004). World Journal of Microbiology and Biotechnology.

Sateesh V., Naikpatil Rathod J. L., (2011 a). Antimicrobial and Cytotoxic activity of actinomycetes from Karwar Coast, West Coast of India. World Journal of Sciences and Technology. 1(1), 7-10.

Schwarz S, Kehrenberg C, ET Walsh T R. (2001). Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production international Journal of antimicrobial Agents. 17: 431-437.

Silini S. (2012). Contribution à l'étude de la biodégradation de méthyléthyl cétone en réacteur bath par les actinomycètes isolés à partit des boues activées de la station d'épuration d'El Atmania. *Mémoire de Magister en Ecologie. Université Mentouri -Constantine, Algérie*. P 23-34-39.

Tresner, H.D., Davies M.C. and Backus E.J. (1961). - Electron microscopy of *Streptomyces* spore morphology and its role in species differentiation. *J. Bacteriol.*, **81**, 70-80.

Singh S.L., Baruah I. et **Bora T.C., (2006).** Actinomycetes of lake Loktata habitat: isolation and screening for antimicrobial activities. Biotechnology, **5 (2),** 217-221**.**

Singh. S.L; Baruah. I; and Bora. T.C. (2006). Actinomycetes of lake Loktat Habitat: Isolation and screening for Antimicrobial Activities. Biotechnol, 5 (2),217-221.

Smaoui S .2010. Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes soils. Antonie Van leeuvenhoek. 29: 297-304.

SMAOUI S. (2010). Purification et caractérisation de biomolecules à partir de microrganismes tropical Journal of Pharmaceutical Research. 9: 373-377. Université de Toulouse. France. 251p.

Smaoui S., (2010). Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat d'Etat. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). 207p.

Smaoui S., (2010). Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat d'Etat. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). 207p.

Smaoui S.,(2010). Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France. 251p.

Song j., Weon H.Y., Yoon S.H., Parrk D.S., Go S.J. and **Suh J.W., (2001).** Phylogenetic diversity of thermophilic Actinomycetes and *Thermoactinomycetes* isolated from mushroom composts in korea based on 16s rRNA gene sequence analysis. *FEMS*

Stanier W., (1965). Methods for characterization of streptomyces species. International journal of systematic bacteriology. 16(3) : 313-340.

STRUB C. (2008). Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrixalgeriensis*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse INPENSAT. France. 174p

Syker G. and Skinner F.A. (1973). Actinomycetales: Characteristics and pratical importance. Academic press. London. New York.

Takizawa M., Colwell R.R. and Hill R.T. (1993). Isolation and Diversity of Thermoactinomyces et Thermomonospora (Actinomycetales) dans les sols sahariens : Taxonomie numérique, production, purification et caractérisation partielle des principaux antibiotiques. Thèse de Magister. pp 130 .

Tarkka MT, Hampp R (2008) Secondary metabolites of soil streptomycetes in biotic interactions. In: Karlovsky P (ed) Secondary metabolites in soil ecology. Soil Biology, vol 14. Springer, Heidelberg, pp 107–128

Theilleux J. (1993). Les actinomycètes in : Microbiologie Industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Lavoisier , Tech et Doc, V 612p, pp

Tomita K M, Nishito K, Sitoh H, Yamamoto Y, Hashino H, Okhuma M, Konishi T, Miyaki et T oki. (1990). Pramicidins A, Bard C: new antifungul antibiotics. I. Taxonomy, production, and physic-chemical properties. J. Antibiot. 43: 755-762.

Toumatia O., (2015). Étude de quelques souches de Streptomyces des sols arides d'Algérie antagonistes de Fusarium culmorum: taxonomie, caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre la fusariose du blé. Thèse de doctorat en Microbiologie Appliquée. Ecole Normale de Kouba-Alger. vegetative soils of Korea. Can. J. Microbiol. 48. 407-417.

Wang L., Huang Y., Liu Z., Goodfellow M. Rodriguez C., (2006). Streptacidiphilus oryzae sp. nov., an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. Int. J.Sys. Ev. Microbiol., 56.1257-1261.

William B. R.,Whitman., T Krieg ., T James ., R Daniel .,P Brian Hedlund., J. Paster., (2010).Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology. Springer New York Dordrecht Heidelberg, London.pp 25 49

William B. R.,Whitman., T Krieg ., T James ., R Daniel .,P Brian Hedlund., J. Paster., (2010). Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology. Springer New York Dordrecht Heidelberg, London.pp 25-49 zinc sont alors ajoutés (Singleton, 1999) :

Williams ST., Lanning S., Wellington EMH., (1984). Ecology of Actinomycetes. In: The Biology of the Actinomycetes. Eds: M. Goodfellow, M. Mordarski and S.T. Williams. Academic press, London, New York, Sydney,Tokyo, Sao Paulo. pp. 481–528.

Yala D., Merad A. S., Mohamed D., Ouar Korich M. N., (2001). Classification et mode d'actiondes antibiotiques. Medecine de Maghreb. N° 9

Yilma S., Cannon-Sykora J., Samoylov A., Loc T., Liu N., Brinker C. J., Neely W. C. and Vodyanoy V., (2008). Large-conductance cholesterol–amphotericin B channels in reconstituted lipid bilayers. Biosensors Bioelectron. 22: 1359–1367.

Zaitlin B., Watson S.b., Ridal J., Satchwill T. and **Parkinson D., (2003).** Actinomycetes in lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. *Res. J. Can.* **95 (2):** 113-118.

Zitouni A., (2005). Etude taxonomique des propriétés antagonistes des Nocardiopsis par Saccharothrix des sols sahariens et production de nouveaux antibiotiques par Saccharothrix sp. 103. Thèse de Doctorat, 230 p.

Zitouni. A; Boudjella. H; Lamari. L; Badji. B; Mathieu. F; Lebrihi. A; and Sabaou. N. (2005). Nocardiopsis and Saccharothrix genera in Saharan soils in Algeria: Isolation,

biological activities and partial characterization of antibiotics. Research in Microbiology, 156, 984–993.

Zvyagintsev D. G.; Zenova G. M.; Sudnizin I. I.; Doroshenko E. A., (2005). The Ability of Soil Actinomycetes to Develop at an Extremely Low Humidity. Vol : 405. Pp 461-463.

Annexe 1

Milieux de cultures

Milieu ISP2 ;

Extrait de levure……. 4 g

Extrait de malt ……. 10 g

Glucose ……... 4 g

Eau distillée ……. 1000 ml

Agar …… 20 g

pH = 7,3

Milieu GLM (Gélose à l'extrait de malt) :

Extrait de levure. ……. ..3 g.

Extrait de malt ……...3 g

Peptone.. ……5 g

Glucose… . ……...10 g

Agar….....20 g

Eau distillée……..1000ml

PH=7.3

Gausse ;

KNO3……1g

K2HPO4…….0.5g

MgSO4……..0.5g

NaCl……0.5

FeSO4……0.01g

Amidon……20g

Agar……..20g

Eau distillée……1000ml

pH =……7.4

SCA :

Amidon……10g

KNO3……1g

K2HPO4…….2g

MgSO4……..0.05g

NaCl……2g

FeSO4……0.01g

Amidon……10g

CaCo3…….0.02

Agar……..20g

Eau distillée……1000ml

Caséine……..……..0.3g

Ph=7.4

Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate

Peptone ……. …….5g

Extrait de viande…… 3g

KNO3 ……..... 1g

Agar…… 12g

PH=7.2

N.B. l'ajustement du PH des milieux de cultures s'effectue à l'aide d'une solution de NaOH 1N ou

Solution d'HCL 1Nselon le cas.

Gélose nutritive :

NaCl…….....5 g

Gélose…….....15 g

Eau distillée……..... 1000ml

pH 7+/ -0.2

Mueller-Hinton

Infusion de viande ……..…..….300 g

Hydrolysat de caséine ……..……17,5 g

Amidon……..…. 1,5 g

Agar ……..…17 g

pH = 7,4

SOJA AGAR :

TRYPTONE …….15g

Peptone papainique de soja……..5g

Agar……15g

PH=7.3

Eau physiologique 9‰

Chlorure de sodium..... 9 g

Eau distillée……1000 ml



Figure: appareil de mesurer la conductivité (conductimètre) **(MO.SP-MED-LCQ.PC042)**

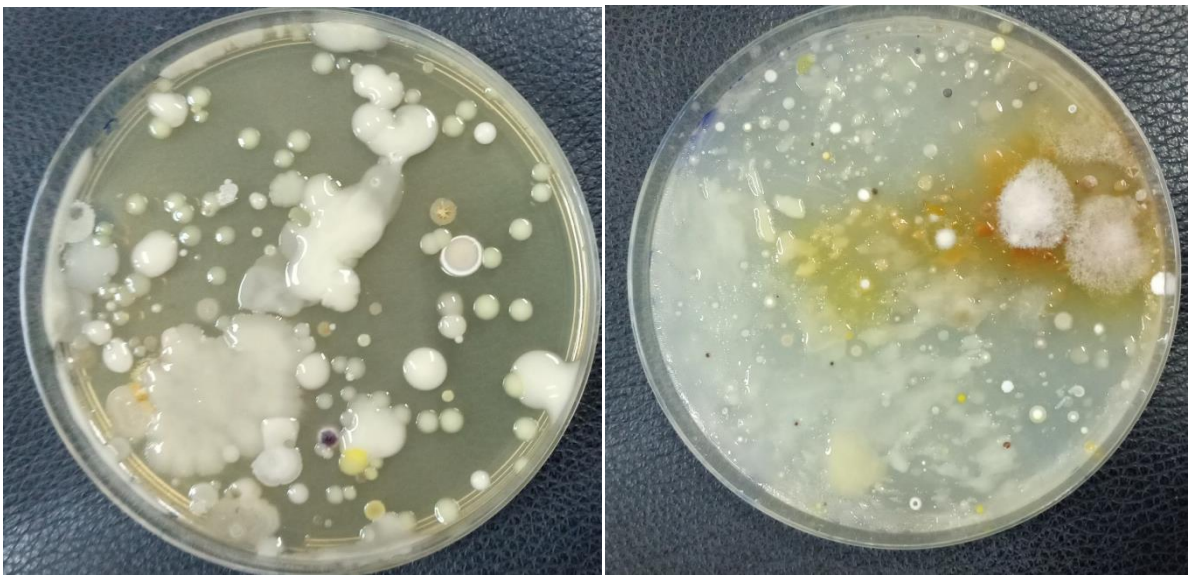


Figure :Résultats de l'isolement

Les principales étapes de coloration sont les suivantes :

- Des frottis sont réalisés à partir des colonies des actinomycètes bien isolés à l'aide d'une anse de platine dans des conditions aseptiques.
- Les bactéries sont émulsionnées dans une gouttelette d'eau distillée.
- Les frottis sont fixés par une flamme à l'aide d'un bec bunzen.
- Recouvrir la lame de violet de gentianes 1 minute, puis laver à l'eau distillée.
- Ensuite, recouvrir du lugol 1 minute.
- Décolorer bien à l'alcool pendant une période, puis rincer à l'eau.

- Recouvrir la lame de fuchsine diluée, laisser 30 secondes, laver à l'eau.
- sécher entre deux feuilles de papier buvard**.**

Observation sous un objectif à immersion (X100) d'un microscope optique **(Prescott et al., 2010).**

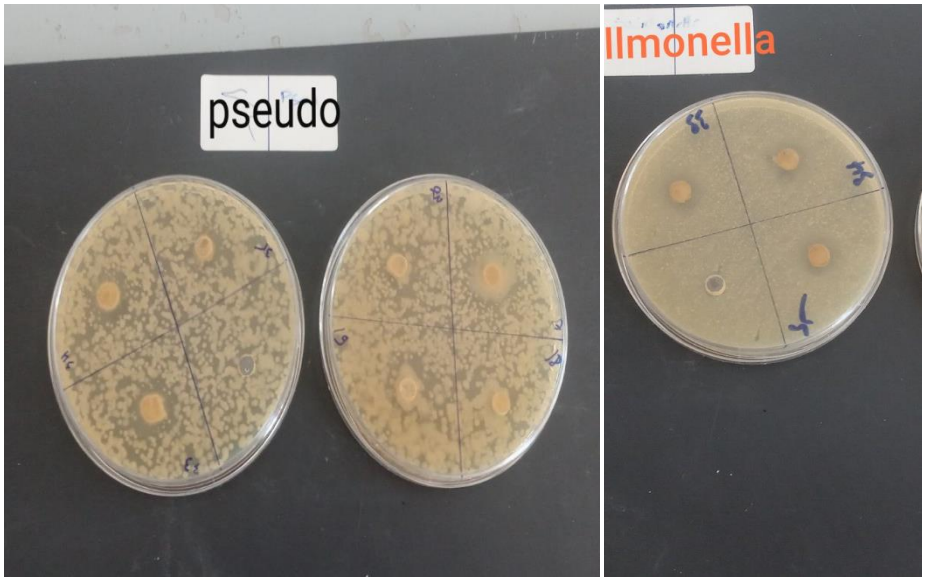


Figure : Activité des isolats d'actinomycètes déterminée par la technique des cylindres d'agar vis à vis des germes cibles testés *(Pseudomonas aeruginosa ,Salmonella typhimurium).***(prise personnelle2021).**

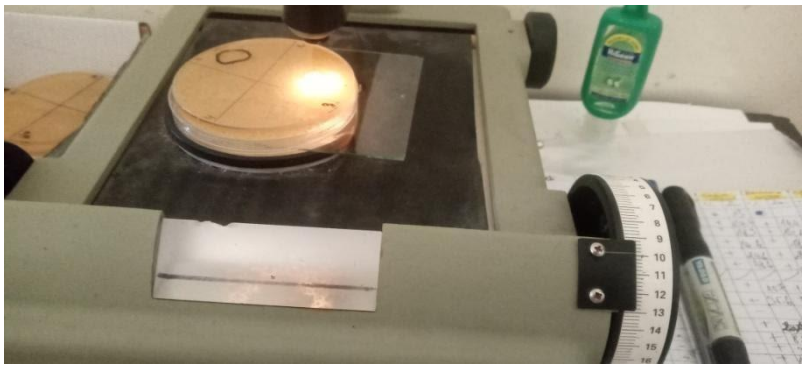
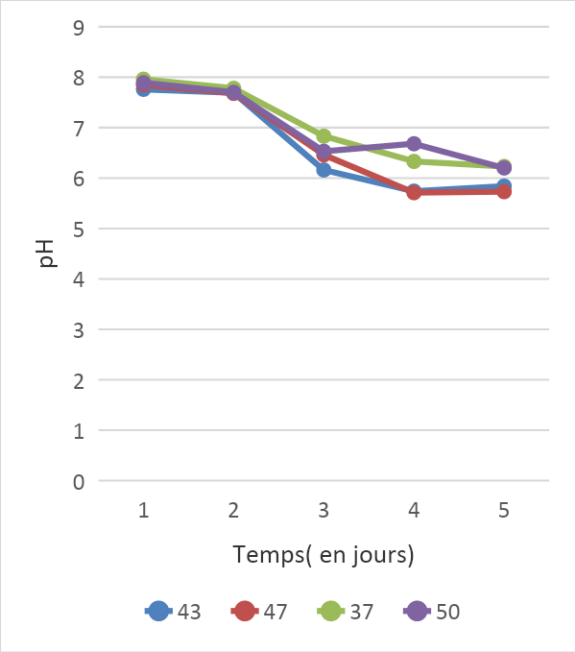


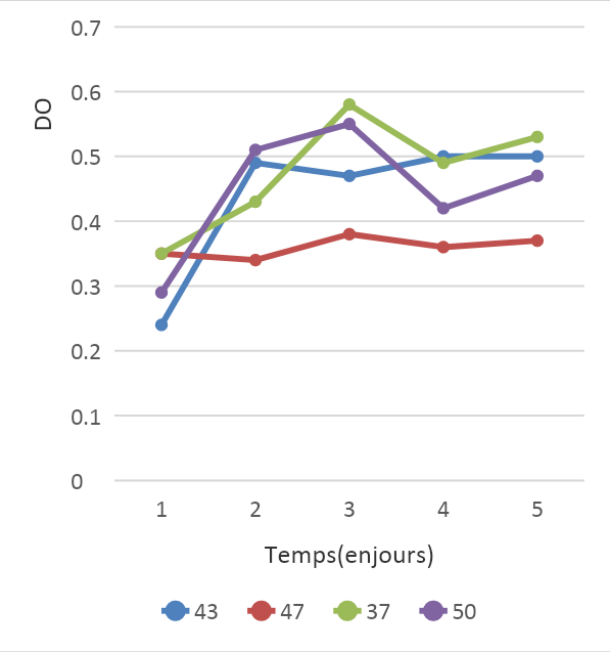
Figure : methode de mésure le zone inhibitrice**.(prise personnelle2021).**

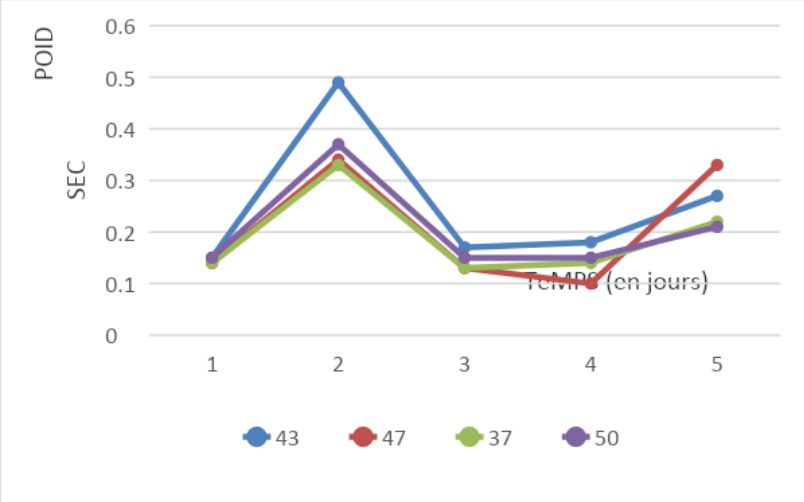


Figure : Culture des souches dans 100ml milieu SCA liquide, à 28°C sous agitation à 250rpm**.(prise personnelle2021).**

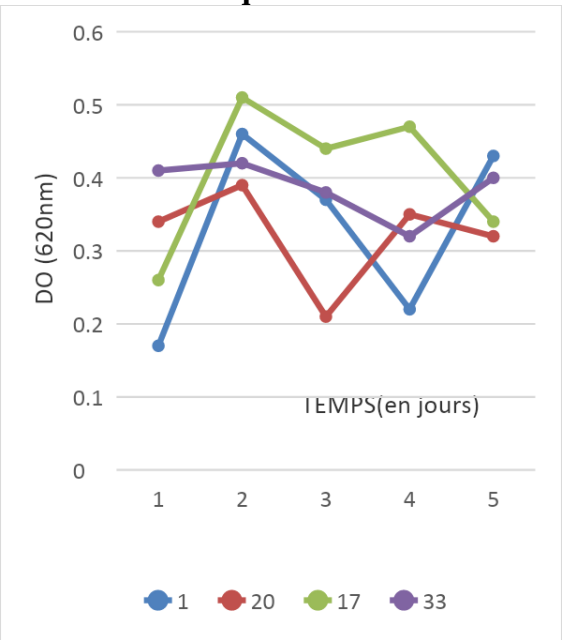
Cinétique de croissance des souches (OUZRA) :

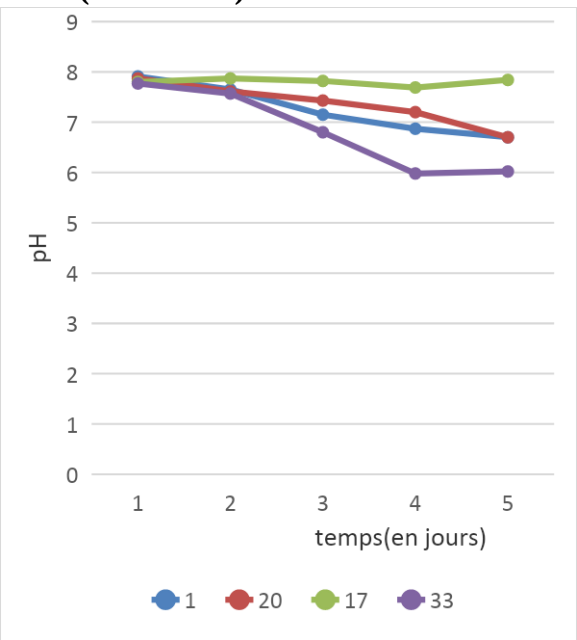


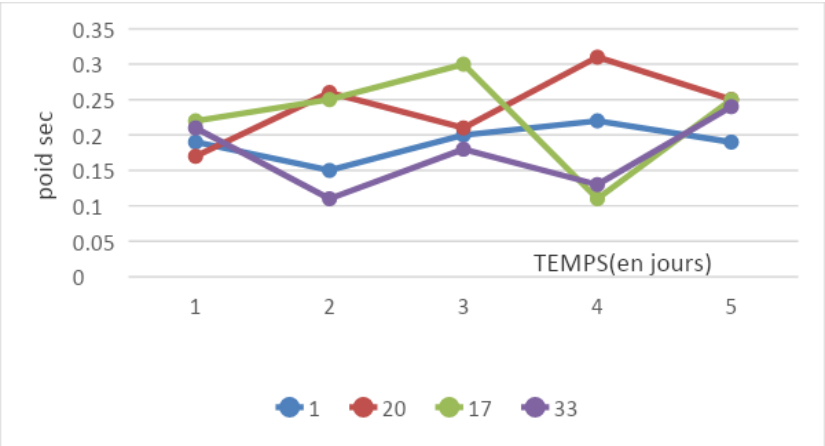




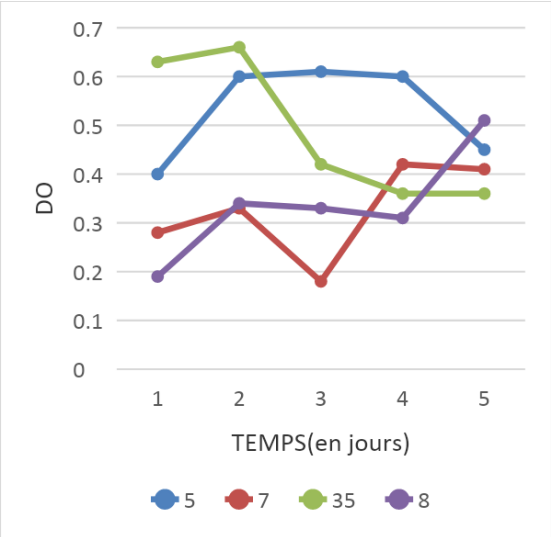
Cinétique de croissance des souches (ben chicao) :

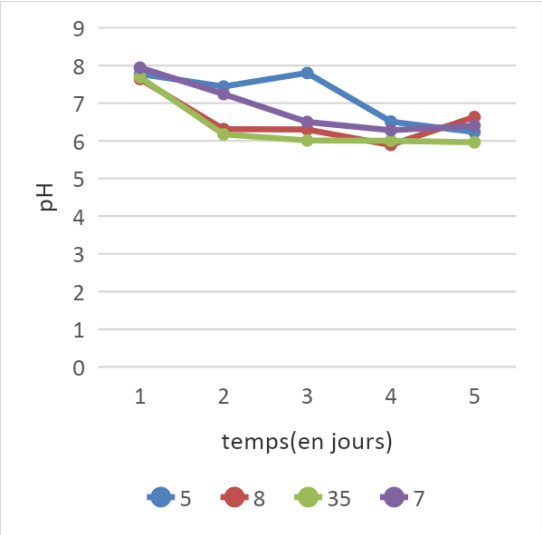


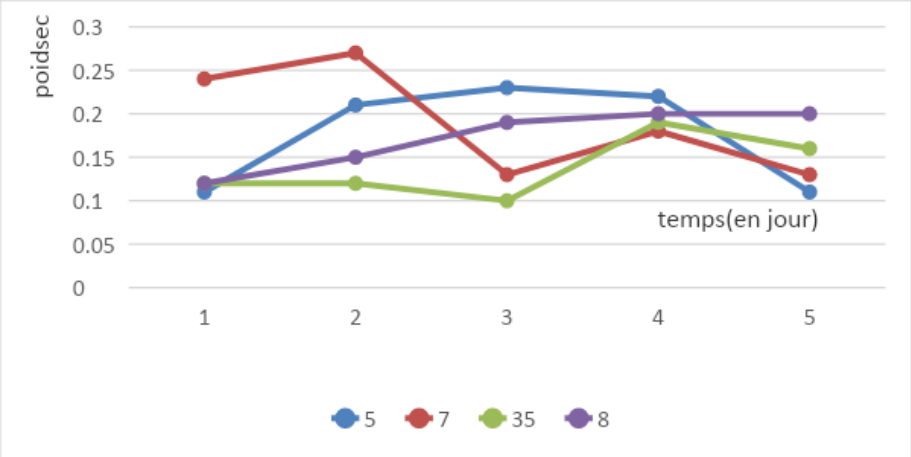




Cinétique de croissance des souches (TAMESGIDA) :


0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
DO
1
2
3
4
5
TEMPS(en jours)
5
7
35
8


9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
pH
1
2
3
4
5
temps(en jours)
5
8
35
7


poidsec
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
1
2
3
4
5
temps(en jour)
5
7
35
8