République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire yahia farés de Médéa



Faculté des Sciences
Département de science de la nature et de la vie

Mémoire
Pour l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques
Option : Microbiologie Appliquée

Présenté par :
Senoussaoui Ramzi et Dehbine Hakim

Isolement, caractérisation et activité antagoniste

Des actinobactéries telluriques.

Soutenu en : 2021

Devant le jury composé de :

Président :Siouda wafa Grade :MCB /établissement :université de Médéa

Examinateur : Zergoug Amina Grade :MCB /établissement :université de Médéa

Encadrent : Belkaceme Imane Grade :MCB /établissement :université de Médéa

Année Universitaire : 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

Remerciements :

Nous remercions tout d'abord Dieu qui nous a donné la force et la volonté pour réaliser ce mémoire. Je tiens d'abord à adresser toute ma gratitude au Madame Belkaceme Maitre de conférence au niveau de l'université Yahia Fares de Médéa sans lequel ce travail n'aurait pas pu aboutir, Nous le remercions pour sa gentillesse, son soutien et pour le fait de nous avoir fait partager son expérience. On lui adresse toutes nos reconnaissances pour sa patience, sa disponibilité et sa participation lors de la rédaction de ce mémoire.

On le remercie pour ses conseils éclairés dans l'orientation de ce travail, ses nombreuses idées, ainsi que pour son soutien moral.

On remercie vivement Mme Siouda Wafa d'avoir accepté de

Présider le jury de ce mémoire ainsi que Mme Zergoug Amina d'avoir accepté d'examiner ce travail.

On remercie également les techniciens ainsi que tout le personnel du laboratoire de Microbiologie du Département des Sciences de la Nature et de la Vie d'université yahia fares de Médéa et sans oublier Mme Chaaoiti qui nous a beaucoup aidés dans notre travail.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ou qui nous ont encouragés.

Dédicace

Je dédie ce mémoire A mes chers parents ma mon

Père pour leur patience mère et, leur amour leur

Soutien et leurs encouragements

*A mes frères (**Abderrahmane, Tahar, Aissa, Ahmed et Samir**)*

*A mes sœurs (**Aicha, Amina et Saida**)*

*A mes amis (**Mohammed, Imad et Mounir**) et*

Touts mes camarades

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du

Primaire, du moyen, du secondaire ou de l

Enseignement supérieur.

Senoussaoui Ramzi

Dédicace

***Avant tout**, nos s'sincères remerciements reviennent à Allah le tout puissant pour ses dons.*
***Je dédie** ce modeste mémoire qui est le fruit de longues années de travail*
***A Les deux personnes**, les plus chers au*
Monde que je ne remercierais jamais assez : leurs
Aides, L'encouragement, Soutiens, sacrifices et leur patience pendant toute ma vie.
***Mon très cher père** qui m'a suivi le long de ce chemin, qui n'a jamais Cessé de contribuer à ma réussite et mon bonheur et j'espère qu'il sera fier.*
***Ma adorable mère**, le symbole de la tendresse qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon Bonheur. Merci pour être sacrifiée pour que ces enfants grandissent et prospèrent. Que dieu La Protège et lui donne Bonne santé*
A mes chers frères et ma sœur
Islam, aymen, Amel pour leur soutien moral,
***Le chouchou de notre maison** ouail*
Et a tous mes amis.

Hakim Dehbine

Liste des figures

Figures	Titre	Pages
Figure 01	Micromorphologies de deux genres d'actinobactéries halophiles	5
Figure 02	Cycle de développement des actinomycètes sur milieu solide (Breton et al.1989).	8
Figure 03	Origine des antibiotiques	11
Figure 04	Place géographique de la station de lac de dhaya	16
Figure 05	Vue générale de lac de dhaya	16
Figure 06	Localisation du lieu de prélèvement sebkha d'Oran	17
Figure 07	Vue générale de la zone de prélèvement sebkha d'Oran	17
Figure 08	Localisation de la zone benchikao	17
Figure 09	Vue générale de la zone ITAF (benchikao)	17
Figure 10	échantillonnage le sol de dhaya.	18
Figure 11	Différents échantillons de sol de la sebkha d'Oran	18
Figure 12	Mise en évidence de l'activité antibiotique sur milieu solide par la méthode des stries croisées (Rothrock et Gottlieb, 1981).	22
Figure 13	Aspect macroscopique des colonies isolées et purifies d'actinobacteries.	27
Figure 14	Nombre de colonie d'actinomycètes isolés à partir de chaque milieu de culture dilution 10^{-3}	29
Figure 15	Nombre de colonie d'actinomycètes isolés à partir de chaque type de sols (échantillon 01 pour chaque type de sols).	29

Figure 16	Nombre de colonie d'actinomycète selon la présence de traitement ou non	30
Figure 17	Caractères culturaux des actinobactéries.	30
Figure 18	Caractères microscopiques des quelques isolats choisis	31
Figure 19	Conservation d'isolats d'actinobactéries dans des tubes contenant le milieu ISP4 incliné	33
Figure 20	Croissance des isolats d'actinobactéries vis-à-vis de déférentes température (°C)	34
Figure 21	Croissance des actinobacteries à différents températures.	34
Figure 22	Croissance des isolats d'actinobacteries vi à vis de déférente concentration de NACL	35
Figure 23	Représentant la croissance des actinobacteries à différentes concentration de NACL	35
Figure 24	Résultats de l'assimilation des sucres par les actinobactéries.	36
Figure 25	résultat de hydrolysation de caséine d'actinobacteries	36
Figure 26	résultats de dégradation d'amidon par nos isolats (pas dégradation).	37
Figure 27	résultats de l'hydrolysation de la gélatine par nos isolats.	37
Figure 28	résultats de l'hémolyse par nos isolats.	37
Figure 29	représentant les Résultats de 'antibiogramme sur le milieu Muller Hinton	39
Figure 30	représente les résultats de l'activité antimicrobienne	41

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	pages
Tableau 01	Principaux caractères physiologiques des actinobactéries (DJABALLAH, 2010	5
Tableau 02	Classification des actinobactéries (Goodfellow et al. 2012).	7
Tableau 03	Distribution des actinobactéries dans la nature (Larpent, 1989	9
Tableau 04	Importance thérapeutique de certains antibiotiques produits par le genre Streptomyces (Chater, 2006).	13
Tableau 05	Caractéristiques des bactéries indicatrices.	21
Tableau 06	Antibiotiques utilisés dans le test d'antibiogramme leur familles et leur mode d'action.	23
Tableau 07	Dénombrement des actinobacteries de sol (dhaya tamazguida) traitée et non traitée.	27
Tableau 08	Dénombrement des actinobacteries de sol (sebkha d'Oran) non traitée et traitée	28
Tableau 09	Dénombrement des actinobacteries de sol agricole (ITAF benchikao) non traitée et traitée.	28
Tableau 10	Caractères morphologiques des actinobactéries	32
Tableau 11	Résultats de la tolérance à la salinité et aux différentes températures.	33
Tableau 12	Assimilation des composées glucidiques comme seules sources de carbone et quelques composés (amidon, sang, gélatine, caséine).	38
Tableau 13	Résultats d'antibiogramme des actinobactéries	39
Tableau 14	représentant les résultats de test activité antimicrobiennes	40

Table des Abréviations

Abréviation	Signification
CAA	Milieu caséine amidon agar
$CaCO_3$	carbonate de calcium.
°C	degré Celsius.
Ech	Echantillon
g	Gramme
g/L	gramme sur litre
GN	Gélose nutritive
ISP4	international Streptomyces Project
MH	Muller Hinton
N°	Nombre
O_2	Oxygène
pH	Potentiel hydrogène
µl	micro litre
%	Pourcentage
sp	Species (espèce).

Table de matière

Liste des Tableaux
Liste des Figures
Liste des abréviations
Table de matière
Résumé

Introduction …….....…..1

Chapitre I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Les Actinobactéries: Historique, Taxonomie, Importance et Applications 3

1. Historique.....3

2. Définition des actinobactéries.....3

3. Propriétés des actinobactéries.....4

4. Caractères généraux des actinobactéries…….....4

4.1. Les caractères macromorphologiques…….....4

4.2 Caractères micro morphologiques…….....4

5. Caractères physiologiquesdes actinobactéries.....5

6. Position taxonomique des actinomycètes.....6

7. Cycle de développement des actinobactéries (exemple: Streptomyces spp)……..…8

8. Ecologie et distribution des actinobactéries dans la nature……8

9. Importance et application des actinobactéries……..……..9

9.1.Luttebiologique…….....10

9.2 Production d'antibiotiques…….....10

9.2.1. Mode d'action desantibiotiques…….....12

9.2.2. Intérêts des antibiotiques.....12

9.3. Les antifongiques.....14

9.4. Production d'enzymes.....14

9.5. Production de vitamines.....14

9.6. Production de pigments…….....14

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Sites de prélèvement d'échantillons.....16
1.1. La région de Tamazguida ……16
1.2. Sebkha d'Oran 16
1.3.Région de benchicao (ITAFv)…….....17
2. Echantillonnage.....17
2.1. Sol de Tamazguida (lac de dhaya).....17
2.2. Solssebkha (d'Oran).....18
2.3. Sol d'benchikao (ITAFV).....18
3. Isolement des actinobactéries 19
3.1. Prétraitement des échantillons.....19
3.2. Enrichissement des échantillons par le bicarbonate de calcium ($CaCO_3$)…19
3.3. Les milieux de cultures utilisées.....19
3.4. Ensemencement des échantillons .....….....19
4. Dénombrement des colonies 20
5. Observation microscopique.....20
6. Purification des isolats bactériens.....20
7. Coloration de Gram et observation microscopique 20
8. Conservation des isolats d'actinobactéries 20
9. Aspect macroscopique et caractères culturaux des isolats 21
10. Morphologie des mycéliums (aériens et de substrat).....21
11. Mise en évidence de l'activité antagoniste….....21
11.1Souches de microorganismes ciblesindicatrices.....21
11.2 Technique des stries croisées.....22
11.3. Test de sensibilité aux antibiotiques 22
12. Etude physiologique des isolats d'actinobactéries.....23
12.1 Hydrolyse de la caséine.....23

12.2 Dégradation de l'amidon 23
12.3 Dégradation de la gélatine 24
12.4 Pouvoir hémolytique.....24
12.5. Utilisation des composées glucidiques comme seules sources de carbone24
13. Croissance en présence d'inhibiteurs.....25
13.1. Différentes concentration de Na Cl.....25
13.2. Croissance à différentes températures.....25

Chapitre III: Résultats Et Discussions

1. Isolement des actinobacteries 27
2. Dénombrements les colonies d'actinobacteries 27
3.Caractères culturaux. 30
4.Caractères morphologiques. 31
5. Conservation des isolats.....32
6 Tolérance aux différentes températures et salinité.....33
7. Résultats d'études physiologiques et biochimiques.....35
7.1 Assimilation des sucres.....35
7.2. Hydrolyse de la caséine 36
7.3. Dégradation de l'amidon 36
7.4. Hydrolyse de la gélatine 37
7.5. Pouvoir hémolytique 37
8. Résultats de la sensibilité aux antibiotiques(antibiogramme).....38
9. Activité antimicrobienne.....40
Conclusion.....46
Références bibliographiques.....48
Annexes

Résumé

Les actinomycètes sont des bactéries à coloration Gram-positif, ils se trouvent pluparts dans le sol. Notre étude a été réalisée pour but d'isoler, caractériser et de tester l'activité antagoniste des actinobactéries isolées de trois types de sols algériens. Après isolement, purification et dénombrement des actinobactéries, nous avons réalisé une pré-identification des bactéries, baséesur des caractères culturaux, morphologiques, physiologiques et biochimiques. Nous avons ensuite étudié l'activité antimicrobienne de ces isolats vis-à-vis de six germes cibles. Cette étude est complétée par des tests de tolérance aux différentes concentrations de Na Cl et aux différentes températures. Une étude sur la sensibilité des actinobactéries aux antibiotiques a également été entreprise.

Au total, 18 isolats d'actinobactéries ont été isolés. Après la purification, 8 isolats ont été purifiés et ont fait l'objet de ce modeste travail. Les caractères phénotypiques des isolats nous a conduit à les rattacher au genre Streptomyces. Les huit isolats ont démontré des propriétés antibiotiques appréciables contre les bactéries pathogènes en particulier vis-à-vis de la bactérie *Salmonella.*

La tolérance aux différentes concentrations de Na Cl a révélé que les huit isolats tolèrent et croissent à ces différentes concentrations testées. Vis-à-vis de la température, les isolats ont montré une croissance positive à 15, 25 et 30 °C, par contre, ils se sont inhibés à 5 °C. La température 37 °C s'est montrée défavorable aux actinobactéries. Les résultats de l'antibiogramme ont révélé que les isolats réagissent différemment vis-à-vis des antibiotiques testés, certains se sont montrés sensibles alors que d'autres se sont révélés résistants. Tous les isolats d'actinobactéries testés ont hydrolysé la gélatine, la caséine et le sang humain, à l'exception del'amidon.

Mots clés: Actinobactéries, activité antibactérienne, Streptomyces, antibiogramme, pathogènes.

Abstract

Actinomycetes are gram- positivebacteria; they are mostley fond in the soil. Our study was carried out to isolate, characterize and test the antagonist activity of acactinobacteria isolated from three types of Algerian soil .After isolation, purification and enumeration of the actinobacteria, we carried out a pre-identification of the bacteria, based on cultural, morphological, physiological and biochemical characters. We then investigated the antimicrobial activity of these isolates against six pathogens and one mold. This study is completed by tolerance tests at different concentrations of NaCl and at different temperatures. A study on the sensitivity of actinobacteria to antibiotics was also undertaken.

In total, 18 isolates of actinobacteria were isolated. During the purification, ten isolates were contaminated, so only 8 isolates were purified and subjected to this modest work. The phenotypic characteristics of the isolates led us to relate them to the genus Streptomyces. The four isolates demonstrated significant antibiotic properties against pathogenic bacteria especially against the bacterium *Salmonella*. Tolerance to different concentrations of NaCl revealed that the four isolates tolerate and grow at these different concentrations tested. In terms of temperature, the isolates showed positive growth at 15, 25 and 30 ° C, but were inhibited at 5 ° C. The temperature 37 ° C was unfavorable to actinobacteria.

The results of the antibiogram showed that the isolates react differently to the antibiotics tested; some were sensitive while others proved to be resistant. All of the actinobacterial isolates tested hydrolyzed gelatin, casein and human blood except forstarch

Key words: Actinobacteria, antibacterial activity, Streptomyces, antibiogram, pathogenic.

ملخص

الفطريات الشعاعية هي بكتيريا موجبة توجد في الغالب في التربة . اجريت دراستنا لعزل و توصيف و اختبار النشاط المضاد لبكتيريا الاكتينية المعزولة من ثلاث انواع من التربة الجزائرية. بعد عزل و تلقيح وإحصاء البكتيريا الاكتينية قمنا بإجراء تعريف أولي للبكتيريا مركزين على الصفات المورفولوجية و الفيزيولوجية و البيوكيميؤية .ثم درسنا بعد ذالك نشاط هذه السلالات المعزولة المضادة لستة أنواع من البكتيريا الممرضة .هذه الدراسة تمت تكملتها بتجارب تحملها للملوحة و الحرارة من خلال تعريضها لتراكيز متفاوتة من كلور الصوديوم و كذا درجات حرارة مختلفة . تم إجراء كذالك دراسة حساسية البكتيريا الاكتينية لمختلف المضادات الحيوية

في المجمل تم عزل ثمانية عشر عزلات من البكتيريا الاكتينية وخلال العمل تم فقدان عشرة عزلات بعد تعرضها للتلوث . لهذا تم تنقيح ثمانية منها فقط وبها تم إتمام هذا العمل المتواضع.

خلال تنقيح خصائص النمط الظاهري للعزلات المتحصل عليها قادتنا للحصول على خاصية مضادة حيوية معتبرة لهذه العزلات ضد البكتيريا سالمونيلا .

اختبار تحمل درجات ملوحة متفاوتة أظهرت ان العزلات لم تستطع النمو في كل الاوساط المالحة. أما اختبار درجات الحرارة المتفاوتةفإنها بينت نموا مثاليا في درجات حرارة 25.15.30 لكن تم تثبيطها في درجة 5 إلا ان درجة 37 كانت غير مثالية. أما بالنسبة للمضادات الحيوية أظهرت ان البعض منها مقاوم بينما البعض الأخر حساس كما أظهرت اختبارات أخرى ان كل العزلات البكتيرية استطاعت اماهة الجيلاتين الكازيين والدم البشري ولم تستطع اماهة النشاء.

الكلمات المفتاحية .. البكتيريا الاكتينية. النشاط المضاد للبكتيريا . اختبار المضادات الحيوية .

Introduction

Introduction

Les sols présentent une grande diversité en terme de composition chimique mais également biologique .Quelques grammes de sols peuvent contenir des milliers voire des centaines de milliers d'espèces microbiennes. Ces espèces ont une répartition en fonction des caractéristiques physico-chimiques des sols, de leur capacité à vivre en aérobiose ou anaérobiose, mais également en fonction d'interactions avec certains organismes supérieurs dont les végétaux et la microfaune **(Bertrand, 2011).**

Les actinomycètes constituent une composante importante de la population microbienne dans la plupart des sols **(Lechevalier, 1970).** Ils sont les procaryotes les plus économiques et les plus utilisés en biotechnologie grâce à leurs métabolites secondaires ; très importantes sur le plan thérapeutique et commercial **(Masand et Menghani, 2015).**

L'étude des actinomycètes a pris son ampleur surtout après la découverte de l'aptitude de certains membres de ce groupe à produire des antibiotiques dont plus de 50 ont été isolés uniquement à partir des espèces du genre Streptomyces, à savoir la streptomycine, la néomycine, le chloramphénicol et les tétracyclines **(Dajaballah, 2010).**

Généralement, les actinomycètes habitent le sol et sont d'importants décomposeurs de la matière organique, ce qui rend le sol fertile et par conséquent l'amélioration des récoltes. En plus du sol, ils ont été isolés dans de nombreux environnements aquatiques, à savoir les écosystèmes marins, l'eau douce et les marécages (**Dajaballah, 2010).**

L'objectif principal de notre travail est de caractériser et de mettre en évidence l'activité antagoniste de certaines souches actinomycétales isolés à partir de trois types de sols algériens :

- Sol entourant le lac de Dhaya, situé à Tamazguida, wilaya de Médéa (sol liminaux).
- Sol de sebkha d'Oran (sol salin).
- Sol d'ITAFV Benchikao (sol agricole).

Revue bibliographique

Les Actinobactéries: Historique, Taxonomie, Importance et Applications

1. Historique

Depuis que Cohn en 1875 à découvert le premier actinomycète qu'il appela Streptothrix foeresteri, d'autres travaux se sont suivi durant la première époque qui acommencé de 1874 à 1900. Au cours de cette période, **Harz en 1877**, isola l'agent responsable des actinomycoses du bétail et le nomma Actinomyces bovis.

Durant la seconde période, allant de 1900-1919,**Orla Yensen (1909**) créa la famille des Actinomycétacées qui comprend un seul genre Actinomyce.Ce même auteur rapporte que de nombreuses études se sont orientées à la recherche des Actinomycètes du sol. Par la suite, de nombreuses espèces telluriques furent isolées et décrites.

Buchanan (1917) créa l'ordre des Actinomycetales. A cette époque, les espèces composant le genre Actinomyces étaient très différentes et certain sauteurs ont commencé par scinder ce genre en plusieurs autres genres.

Vient ensuite la troisième période de (1919-1940) del'histoire des actinomycètes et cela grâce aux travaux de recherches de **Orskov (1923**) qui créa le Genre Micromonospora, à cette époque unemeilleure connaissance des germes d'actinomycètes a été acquise. Ce genre regroupe les actinomycètes qui ne produisaient pas de mycélium aérien. La quatrième et dernière période, qui a commencé en 1940 et qui correspondait à l'époque des antibiotiques produits par les actinomycètes, regroupaitles actinomycètes dont le mycélium aérien produit des chaines de spores portées par des sporophores (**Waksman et Henrici, 1943**). Enfin, en 1958, Ettling et al.Ontintroduit un critère important dans la différentiation des espèces d'actinomycètes, la production des pigments mélanoïdes.

2. Définition des actinobactéries

L'ancien nom des actinobactéries était actinomycètes. Le terme «actinomycètes» provient du Grec « aktino -mycètes » ou «champignons à rayons » ou encore « champignons rayonnants » (**Gottlieb, 1973**).

En général, les actinomycètes constituent un groupe de bactéries hétérotrophesayant tendance à former un mycélium ramifié plus ou moins différencié très fin (1 à 1,5µm) (**Mathieu *et* Lozet, 2011**). Ce sont des Gram positif caractérisés par une teneur élevéeen guanine et cytosine dans leurs ADN (55%) (**Goodfellow *et* Cross, 1984 ; Sanglier *et* Trujillo, 1997**). Ils sont chimio- organotrophes, aérobies strictes ou microaérophiles. Engénérale, les condition optimales pour leurs croissance sont des températures comprisesentre 25-30°C (50°C pour les

thermoactinomycètes) et un pH neutre, mais de nombreusesespèces ont été isolées à partir d'environnements extrêmes **(Ensign *et al.,* 1993 ; Chun *et al.,* 1997 ; Wattre *et al.,* 2001).**

Elles sont constituées d'hyphes c'est-à-dire de filaments qui irradient par croissance centrifuge tout autour de germe qui leur a donné naissance

(**Gottlieb, 1973**).Selon le bergey manuel de 2012, la définition des actinobactériesest restée la même (bactériesà coloration Gram positif ayant un % G+C supérieur à 55%et présentant une grande variabilité morphologique.

3. Propriétés desactinobacteries

Les actinomycètes sont filamenteux, à coloration Gram positif. Comme les champignons, les actinomycètes possèdent des hyphes à ramifications vraies et des spores de dissémination non comparables aux endospores. La morphogenèse peut-être complexe (corémie, zonation).

Les propriétés bactériennes des actinomycètes sont les suivantes: la cytologie est procaryotique, physiologiquement, elles sont en général, des bactéries aérobies mais certaines formes sont aérobies facultatives ou même anaérobies. Elles sont sensibles aux phages et aux antibiotiques antibactériens (**Lechevalier, 1988).**

4. Caractèresgénérauxdes actinobacteries

D'après **Noureddine, (2006**) *et* **Boudjella, (2007**), les caractères culturaux contribuent parfois dans la différenciation des genres d'actinomycètes entre eux. Parmi les caractères culturaux importants :

4.1. Lescaractères macromorphologiques

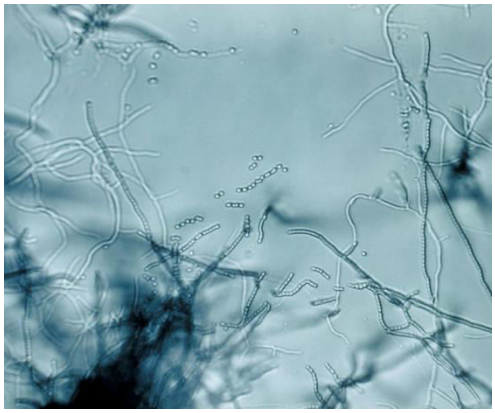
Cescaractères reposent sur une observation à L'œil nu. Il s'agit de noter:

- La présence ou l'absence du mycélium aérien (MA).
- La couleur de MA et du mycélium du substrat (MS).
- Présence ou absence des pigments diffusibles dans le milieu de culture (**Saker, 2015).**

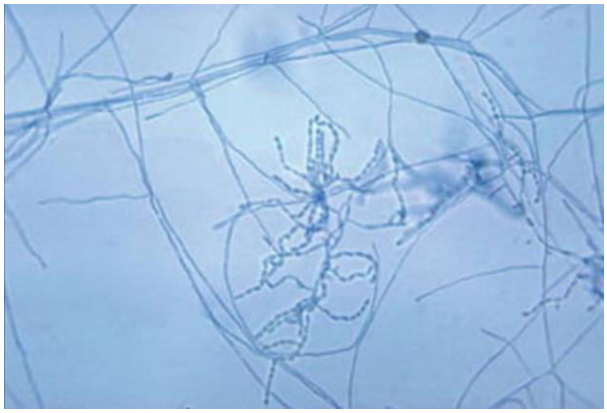
4.2. Caractères micro morphologiques

La micromorphologie des actinobactéries est réalisée par observation au microscope optique et parfois électronique des colonies poussant sur milieux gélosés **(Saker, 2015**). Ils 'agit de noter:

-La fragmentation ou non du mycélium de substrat; - la formation des spores exogènes sur le MA et/ou le MS, leur forme; leur taille et leur agencement (isolées ou en chaînes). - La présence ou non de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges, le nombre de spores par sporange ainsi que la longueur des sporangiophores.



(A)Streptomyces



(B) Nocardia

Figure 01: Micromorphologies de deux genres d'actinobactéries halophiles (Observations au microscope électronique à balayage) (Belyagoubi, 2014).

5. Caractères physiologiques des actinobactéries

En plus des caractères morphologiques, la détermination des espèces se base également sur les caractères physiologiques. Ceux-ci consistent en des tests de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques et protidiques, polymères complexes, etc. D'autres tests interviennent parfois dans la détermination des espèces, comme la résistance à certains agents antimicrobiens et latolérance à des conditions extrêmes (température, pH, salinité)(**Djinni, 2009**). **Tableau 01:**Principaux caractères physiologiques des actinobactéries (DJABALLAH, 2010).

Caractères physiologiques	Caractéristiques
Taux d'humidité	Faible à modérés (Oskay et al. 2004; Prescott et al. 2010)
Température	- Mésophile à thermophile 50 °C 60 °C(Holt et al., 1994)
pH	Neutrophile: 5 -9 (Lee et Hwang, 2002)
O_2	1-Aérobie (sol) 2-Fermentatif (cavité naturel homme animale) •anaérobie facultatif. •anaérobie. (Silini, 2012)

6. Position taxonomiquedes actinomycètes

Les différentes éditions du Manuel de Bergey ont apporté des définitions actualisées des actinobactéries avec des données fournies par des travaux récents par rapport à l'époque de chaque édition. En se basant sur le système de classification de Murray (**Bergey's Manual of Systematic of Bacteriology**),ont classéles actinomycètes dans le règne des procaryotes, division des Firmicutes (bactéries Gram -positives), classe des Thallobacteria (bactéries Gram-positives ramifiées), **(Ouhdouch, 2003**).

Les actinobactéries sont classées dans le Domaine des Bacteria ou Eubacteria, le Phylum des Actinobacteria, la Classe des Actinobacteria et la Sous-Classe des Actinobacteridae **(Euzéby, 2015**).Le phylum des actinobactéries comprend maintenant cinq classes, 1 ordre et de Nombreuses familles (Tableau 02). Les genres sont caractérisés par une diversité morphologique importante, allantde la simple cocci (ex: Micrococcus) à des formes mycéliennes qui peuvent être fragmentées ou non.Ainsi, la position taxonomique des actinobactéries, en prenant comme exemple l'espèce Actinopolyspora algeriensis décrite par **Meklat *et al*., (2012a),** s'établit comme suit:

Classe: Actinobacteria

Ordre: Pseudonocardiales

Sous-Ordre: Actinopolysporineae

Famille: Actinopolysporaceae

Genre: Actinopolyspora

Espèce: Actinopolyspora algeriensis

Tableau 02: Classification des actinobactéries **(Goodfellow *et al.,* 2012).**

Classe	Ordres	Familles
Actinobactéria	Actinomycetales	Actinomycetaceae
	Actinopolysporales	Actinopolysporaceae
	Bifidobactériales	Actinopolysporaceae
	Catenulisporales	Catenulisporaceae, actinospicaceae
	Corynebactériales	Corynebactériaceae, dietziaceae, mycobacteraceae, nocardiacea, Segniliparaceae, Tsukamerullaceae
	Frankiales	Frankiaceae, Acidothermaceae, Cryptosporangiaceae, Ge odermatophilaceae, Nokamurellaceae
	Glyconycetales	Glyconycetaceae
	Jiangellales	Jiangellaceae
	Kineosporales	Kineosporaceae
	Micrococcales	Micrococcaceae,Beutenbergiaceae,Bogoriellaceae, Brevibacteriaceae, Cellulomonadaceae, Dermabactériaceae, Derma coccaceae,Dermatophilaceae,Instrosporangiaceae, Jonesiaceae, Micobacteriaceae,Promicomonosporaceae, Rarobacteriaceae, Ruaniaceae.
	Micromonosporales	Micromonosporaceae
	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae, Nocardidoidaceae
	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae
	Streptomycetales	Streptomycetaceae
	Streptosporangiales	Streptosporangiaceae, Nocardiopcoceae, Thermomonosporaceae

7. Cycle de développement des actinobactéries

(Exemple: Streptomyces spp) : Le cycle de vie de nombreuses actinobactéries commence par la germination des spores (**Messoudi, 2013).**

Cette germination donne naissance à un mycélium primaire ramifié (**O'Gara *et al.*, 2008).**

Un mycélium aérien vient ensuite de se dresser au-dessus du mycélium de substrat. En effet, ce dernier s'autolyse et les produits de la lyse sont utilisés par le mycélium aérien, c'est à ce moment que les composés d'intérêt thérapeutique (médicaments utiles) sont synthétisés. Ces composés appartiennent aux métabolites secondaires (**Smaoui, 2010**) (Figure 02).

A l'extrémité du mycélium aérien se forme des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores.

Ces spores naissent par fragmentation du mycélium primaire en réponse à un stress environnemental tel que le manque d'éléments nutritifs (**Prescott *et al.*, 2010)**

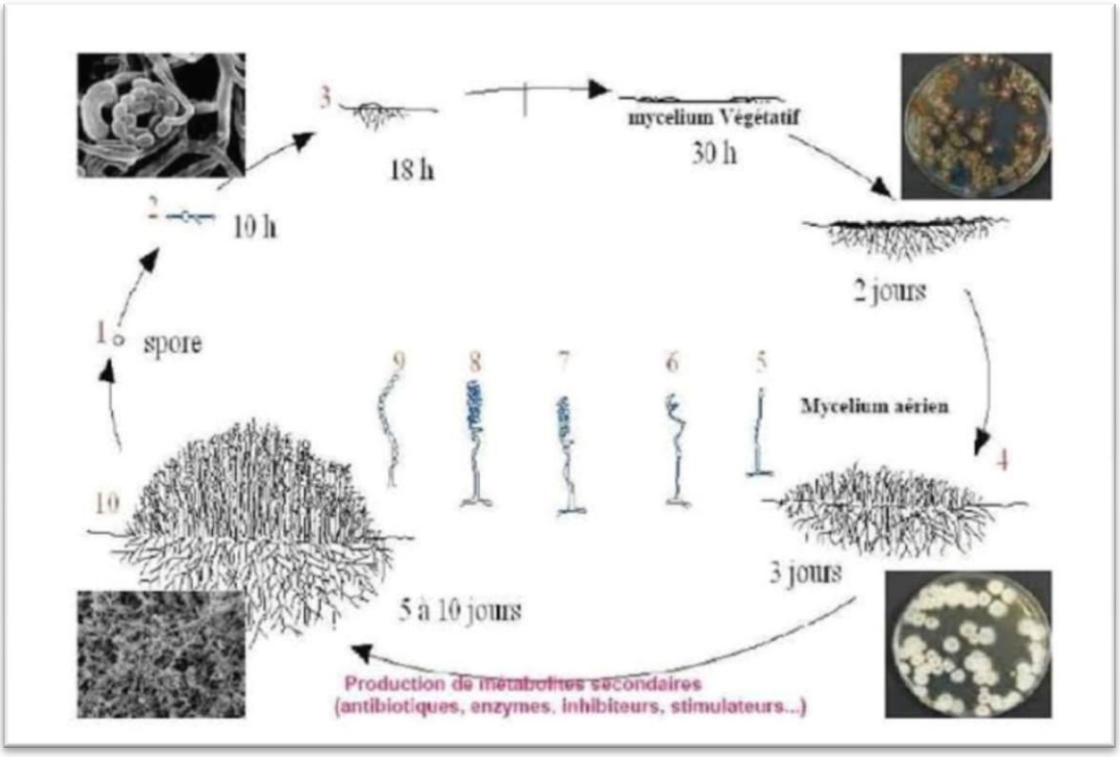


Figure02: Cycle de développement des actinomycètes sur milieu solide **(Breton *et al.*,1989).**

8. Ecologie et distribution des actinobactéries dans la nature

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires. La grande diversité métabolique leur permet d'avoir une importance écologique majeure dans l'environnement (**Hasley et Leclerc, 1993**).

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux écologiques **(Goodfellow et Williams, 1983).**

On les retrouve dans le sol, l'air, les eaux douces, les eaux de mer, les composts, les débris végétaux, le pollen, les abeilles, les plantes (endophytes), les lichens et dans d'autres substrats (**Promnuan et al, 2011**)Le sols est la couche la plus externe de la croute terrestre résultant de l'interaction entre la lithosphère, l'atmosphére,l'hydrosphère, et la biosphère .il résulte de la transformation de la couche superficielle de la roche mère ,dégradée et enrichie en apports organiques par les processus vivants de pédogenèse.

Il existe 3 catégories de particules : sablés, limon et agricole on les distingue par leur taille. Toutefois, la majorité des actinobactéries est d'origine tellurique.

Ces bactéries ont également la faculté de coloniser d'autres biotopes tels que les déserts chauds, les glaciers, les sites pollués par des hydrocarbures ou par des métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et certains milieux très salés **(Santhanam et al. 2012)**

Tableau 03: Distribution des actinobactéries dans la nature **(Larpent, 1989).**

Genres	habitats
Actinomadura	Sol
Actinoplanes	Sol, eau, laitière
Frankia	Nodules des racines
Microbiospora	Sol
Micromonospora	Sol,Eau
Nocardia	Sol,Eau
Rhodococcus	Sol,Eau, Laitière, Fumier
Sacharomonospora	Matière de décomposition
Streptomyces	Sol,Eau,laitière
Streptosporangium	Sol
thermomonospora	Matière de décomposition et fermentation

9 .Importance et application des actinobactéries

Les actinobactéries représentent une grande proportion de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété de molécules bioactifs entre autre les antibiotiques et des enzymes extracellulaires (**Loucif, 2011**).

En biotechnologie microbienne, les actinobactéries jouent un rôle primordial dans les domaines, agronomique, alimentaire et environnemental **(Nouioui, 2014),** ainsi que le domaine pharmacologique **(Ortiz-Ortiz *etal.,*1984**).La recherche de nouveaux actinomycètes constitue une composante essentielle à la découverte de médicaments à base de produits naturels et à large spectre d'activité biologique, tels que les antibiotiques antibactériens et antifongiques et les substances toxiques, cytotoxiques, neurotoxiques, antimitotiques, antivirales et anticancéreuses **(Newman *et* Cragg, 2007 ; Williams, 2009 ; Chen *et al.,* 2010b).**

Récemment, de nouveaux objectifs ont été ajoutés au dépistage général : la recherche de nouvelles molécules actives contre le sida, l'immunosuppression, la maladie d'Alzheimer, le processus de vieillissement et certaines maladies tropicales ; ces objectifs visent à la découverte de nouveaux médicaments **(Parthasarathi *et al.,* 2011).**

9.1 Lutte biologique

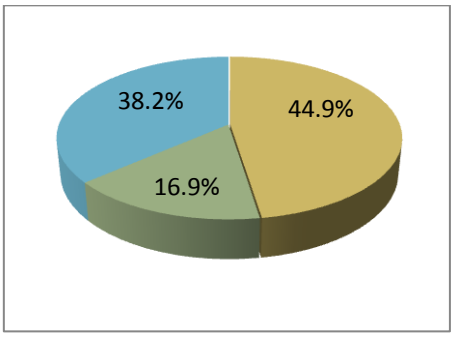
La fonction écologique principale des actinobactéries au sein des écosystèmes est ladécomposition des matières organiques complexes **(Prescott *et al.,* 2010).** Cette activité est due à laprésence d'une large gamme d'enzymes hydrolytiques, comme les protéases, les nucléases, les lipases, ... **(Prakash et *al.,* 2012),** ainsi que les enzymes d'hydrolyse des sucres complexes, tel que la cellulose et l'hémicellulose. De même, certaines espèces d'actinobactéries attaquent la carapace chitineuse des cadavres d'insectes **(Maier *et al.,* 2009**).Au niveau de la rhizosphère, les actinomycètes forment des relations symbiotiques avec les racines des plantes en contribuant à la promotion de leur croissance par des effets directs et indirects (**Barreto *et al.,* 2008).** Parmi les effets directs, la solubilisation du phosphate, la fixation d'azote, et la production de phytohormones, (**El-Mehalawy*et al.,*2004**).Tandis que les effets indirects, ils peuvent être dus au contrôle des agents phytopatho pathogènes par la production de métabolites secondaires, tels que les antibiotiques **(Barreto *et al.,* 2008),** ou par la compétition nutritionnelle vis-à-vis des agents pathogènes **(Getha *et al.,*2005).**

9.2. Production d'antibiotiques

Par leur diversité écologique, leur hétérogénéité biochimique et leur capacité exceptionnelle à produire des métabolites secondaires, les actinobactéries sont considérées comme des candidats potentiels pour la recherche de divers composés intéressants en industrie pharmaceutique, agro-alimentaire, agricole et autres. Cependant, le plus grand intérêt des actinobactéries reste leur grande capacité à produire des antibiotiques qui peuvent potentiellement détruire ou inhiber divers microorganismes. D'ailleurs, 45% des antibiotiques

connus, sont naturellement issus des actinobactéries et plus précisément du genre Streptomyces **(Sibanda *etal.*, 2010).**

Parmi les antibiotiques qui ont des applications thérapeutiques, on peut citer, les aminoglycosides, les anth racyclines, les glycopepetides, les béta-lactamines, les tétracyclines, les macrolides, les nucléosides (**Messoudi, 2013**).La Figure 04, illustre les origines des antibiotiques. Parmi les premières découvertes d'antibiotiques synthétisés par les Actinobactéries, -la streptomycine, isolée en 1944 d'une actinobcatérie du sol, Streptomyces ou Actinomyces griseus. La streptomycine a l'avantage d'être active contre le Bacille de Koch. Elle a été utilisé avec succès dans la tuberculose (pulmonaire, méningite, rénale). –la chloromycétine, extraite en 1947 des cultures du Streptomyces venezucloe. La chloromycétine est à la fois bactériostatique et bactériolytique, d'où la nécessité de l'employer avec précaution dans les maladies à germes riches en endotoxines comme le Bacille de la typhoïde (la lyse brutale d'une grande quantité de bactéries libère une dose d'entoxines qui peut être mortelle). Bien maniée en capsules ou comprimés, elle fait merveille dans des maladies qui échappent à la pénicilline et aux sulfamides, en particulier dans la fièvre typhoïde, le choléra,... . Sa composition chimique est connue: chloramphénicol. – l'auréomycine, qui doit son nom à sa couleur. Elle a été découverte en 1948 à partir du Streptomyces aureofaciens. C'est un bactériostatique peu toxique qui triomphe dans le typhus, la fièvre de Malte, la psittacose, maladie des perroquets (Psittacus) transmissible à l'homme. - la Terramycine, extraite en 1950 des cultures de Streptomyces rimoosus, elle se présente en poudre jaune. Son action est voisine de celle de l'auréomycine. Elle est utilisée par la bouche en capsules glutinisées**(Bycroft,1988).**



38.2% : champignons microscopique.

16.9% : produit issus des bactéries non Actinomycetales.

44.9% : bactéries Actinomycetales. (75.5% : streptomycète sp ; 24.5% actinomycète rare).

Figure 03 : Origine des antibiotiques**(Berdy, 2005).**

9.2.1. Mode d'action des antibiotiques

Le mode d'action des antibiotiques est encore mal connu. Les antibiotiques paraissent freiner quelques-unes des réactions importantes du métabolisme cellulaire. En leur présence, les germes sensibles ne peuvent plus capter et utiliser les éléments nutritifs indispensables du milieu (acides aminés ou sucres...). On considère donc les antibiotiques comme des inhibiteurs enzymatiques. Les bactéries non sensibles, tout comme nos propres cellules accomplissent normalement leur métabolisme, présentant une chaîne de réactions catalytiques différentes qui ne donne pas prise à l'antibiotique. De même, les bactéries devenues résistantes auraient trouvé la parade en changeant de comportement enzymatique. Leur nouvelle modalité métabolique est un caractère héréditaire qui persiste même en l'absence de l'antibiotique. Il yaurait en quelque sorte création d'une nouvelle race biologique (**Lacey, 1997).**

9.2.2. Intérêts des antibiotiques

Les actinomycètes possèdent une importance économique majeure **(Djini, 2009).** D'après **Anibou *et al.,* (2008),** une analyse a été réalisée sur le nombre de substances médicamenteuses utilisées en chimiothérapie cancéreuse indique que plus de 60% des médicaments approuvés dérivent de composés naturels et la plupart ont été extraient à partir d'actinomycètes, tels que l'actinomycine D et la mitomycicne (**Demain et Lancini, 2006),** et enzymes telles que des cellulases et des xylanases utilisés dans le traitement des effluent (**Basilio*et al.,* 2003 et Oskay *et al.,* 2004).**

Les actinomycètes ont fourni un nombre considérable de composés bioactifs de haute valeur commerciale, et sont recherchés de façon routinière dans le but de découvrir des nouvelles substances bioactives (**Vijayakumar et al., 2007**).Le Tableau 04, résume les principaux intérêts.

Tableau 04 : Importance thérapeutique de certains antibiotiques produits par le genre Streptomyces **(Chater, 2006).**

Organismes ou maladie ciblée	Antibiotiques	Organismes producteurs
Typhoïde	Chloramphénicol	Streptomyces venezuelae
Tuberculose et lèpre	Rifamycine	Amycolatopsis(Streptomyces medeteranei)
Staphylococcus aureus (SARM)	Vancomycine	Amycolatopsis (Streptomyces orientalis)
Cancer	Daunomycine	Streptomyces coeruleorubidus
Pathogènes résistants à la pénicilline	Acide clavularique	Streptomyces clavulingerus

Par ailleurs, l'introduction d'une nouvelle substance antimicrobienne dans l'arsenal thérapeutique demande toute une série d'études et d'épreuves préalables comportant en particulier:

- Recherche de l'action antimicrobienne spécifique étudiée in vitro sur les diverses espèces.
- Essai de la substance sur divers animaux pour connaître à la fois sa toxicité, son efficacité in vivo, son élimination, les taux de concentration sanguine favorable, les meilleurs modes d'administration.
- Application chez l'homme du produit purifié reconnu actif contre le germe et inoffensif pour l'hôte à la dose curative. Ne sont utilisables en effet, que les substances dont la dose toxique pour l'homme est très supérieure à la dose curative.

Ces diverses épreuves éliminent successivement un grand nombre de substances mises à l'essai. C'est ainsi que sur des dizaines de milliers d'antibiotiques isolés ces dernières années, quelques centaines seulement ont été retenues pour des applications thérapeutiques **(Miller, 1982).** Le métabolisme bactérien produit d'autres composés aux propriétés très variées. Ces composés sont classés en différentes familles en fonction de leur rôle. Ainsi, les actinobactéries peuvent synthétiser des antifongiques, des enzymes, des vitamines, des pigments, des bios herbicides, de l'anti tumoral, des inhibiteurs d'enzymes **(Solecka *et al.*, 2012).**

9.3. Les antifongiques

Parmi les molécules élaborées par les actinomycètes, seulement 20% représentent les antifongiques **(Sanglier *et al.,*1993).**Les antifongiques s'avèrent avoir un rôle important, dans La lutte contre les maladies mycosiques et le contrôle biologique des champignons en agriculture **(Thakur *etal.,* 2007).**

9.4. Production d'enzymes

Après les antibiotiques, les enzymes sont les produits industriels les plus importants des actinomycètes **(Theilleux, 1993).** Cependant, les actinobactéries sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telles que, les protéases et les chitinases (**Tanakaet Amura, 1990**), des amylases, des cellulases, des xylanases et des lypases **(Parketal. 2002).** Parmi les espèces productrices, le Streptomyces coelicolor sécrète de nombreuseshydrolases Incluant: 60 peptidases/hydrolases, 13chitinases/chitosanases, 8 cellulases/endoglucanases, 3 amylases et 02 pectates lyases **(Bentleyetal., 2002).**

9.5. Production de vitamines

La vitamine B 12 telle qu'elle existe sans la nature peut être produite par des bactéries ou des actinobactéries. L'isolement de la vitamine B 12 à partir de fermentations d'actinobactéries a suscité un intérêt considérable **(Rickes *et al.,* 1948; Lichtmen *et al.,* 1949).** Plusieurs études Ont suggéré que certaines actinobactéries qui ne produisent pas d'antibiotiques, synthétisent plus de vitamines. Il a été également démontré que les actinobactéries produisaient d'autres vitamines hydrosolubles, telles que, la thiamine et le dérivé d'acide pteroylglutamique qui favorisent la croissance de certaines souches de leuconostoc citrovorum et de la coenzyme A.

9.6. Production de pigments

Les pigments mélanoïdes sont des produits de la transformation de la tyrosine en DOPA-mélanine responsable de la couleur. La production des pigments est l'un des caractéristiques des actinobactéries. Les pigments des Streptomycespeuvent être soit des endopigments, soit des exopigments. Cette production est contrôlée par différents paramètres : pH du milieu, l'aération, température de croissance, les sources de carbone et d'azote ainsi que les mécanismes respiratoires. Les pigments possèdent des propriétés radioprotectrices et antioxydants Ils peuvent protéger le microorganisme vivant des rayons ultraviolets. Ces actinobactéries ont également la capacité à synthétisé et à produire des pigments noir (mélanines ou mélanoïdes). Ces derniers sont considéréscomme un critère utile pour les études taxonomiques. D'ailleurs, l'industrie textile produit et utilisent environ 1.3 million de tonnes de colorants, de pigments et de précurseur de colorants.

Matériel
Et méthodes

1- Sites de prélèvement d'échantillons

1-1 La région de Tamazguida

Les prélèvements ont été effectués dans la région de Tamazguida au niveau de lac de dhaya, cette dernier ère se situe au nord de la ville de Médéa, à une altitude de 1500 mètres.



Figure 04: Place géographique De la station lac de dhaya (Prise par satellite).



figure 05 : vue générale de lac de dhaya (prise personnelle).

1.2. Sebkha d'Oran

La Sebkha d'Oran est un lac situé à 15 km au sud de la ville d'Oran dans la commune de Misserghin. Elle est distante d'environ 12 km de la mer Méditerranéenne. La sebkha occupe une longueur d'orientation approximative sud-ouest/nord-est de 40 km et d'une largeur de 6 à 13 km (**Ben Abdallah, 2014**). La figure 06, illustre la position géographique de la Sebkha d'Oran.



Figure06 : Localisation du lieu de Prélèvement -sebkha d'Oran (Prise par satellites).



figure 07 : vue générale de la zone de prélèvement- sebkha d'Oran.

1.3. Région de benchicao (ITAFv)

La région de benchicao est située dans wilaya de Médéa, elle caractérisée par un climat froid en hiver et un sol agricole fertile. Confine au pied du mont du caravansérail, s'élevant à 1250 m d'altitude.

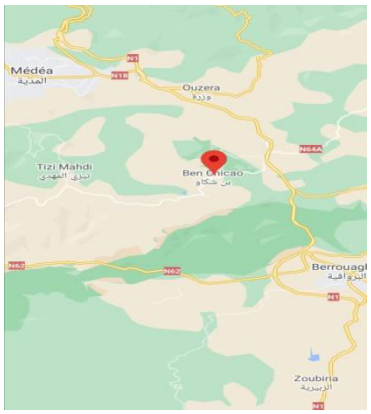


Figure 08 : localisation de zone Benchicao (ITAF)



Figure09 : vue générale de zone de ITAF benchicao.

2 Echantillonnage

2.1 Sol de Tamazguida (lac de dhaya)

Le sol limoneux caractérise par la taille de ses très petite particules par rapport aux particules de sol sableux, ou la taille des particules de limon varie entre la taille des particules de sable

et l'argile, et ce type de sable est largement répandu sur les berges des rivières ,lacs et plans d'eau, en raison de son transport avec les courants d'eau en mouvement ,le limon est glissant si son humidité augment, et il est meilleur pour préserves l'humidité que le sol sableux.



Figure 10 : échantillonnage le sol de dhaya.

2.2 Sol de sebkha d'Oran

Des prélèvements de sol ont été effectués au niveau de la Sebkha d'Oran à partir de 3 endroits éloignés. Environ 250 g de sol ont été prélevés de chaque endroit puis introduits dans des sachets stériles.

Les échantillons sont ensuite mélangés afin d'obtenir un échantillon homogénéisé et représentative du site de prélèvement. Il est à noter que chaque échantillon représente 3 points séparés du même site de prélèvement. La figure 11 montre les trois types de sols.

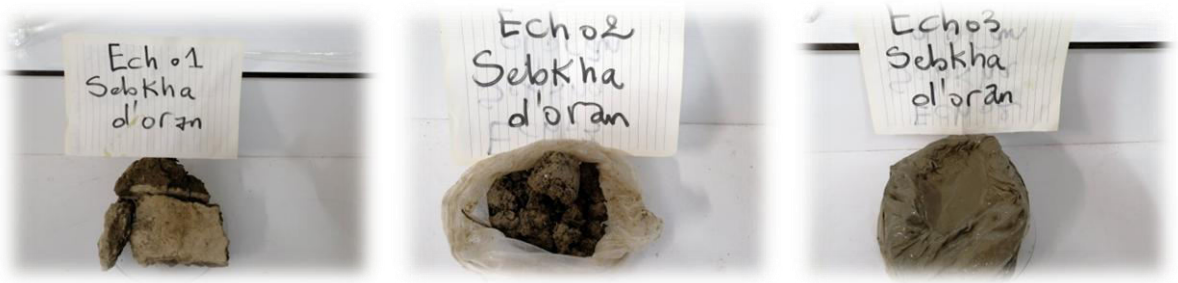


Figure 11: Différents échantillons de sol de la sebkha d'Oran.

2.3 Sold'benchikao(ITAFV)

Le sol agricole de la station ITAFv de benchikao contient les éléments de base nécessaires au fonctionnement des systèmes biologique terrestre, car il est une source essentielle de nitrates, d'eau et d'élément minéraux, et c'est un habitat pour les organismes vivants dissous dans la chaine alimentaire**.** Nous avons prélevé quatre échantillons de 250g dans des sacs stériles à partir de quatre zones différentes de sol agricole.

3. Isolement des actinobactéries

3.1. Prétraitement des échantillons

Nous avons apporté les échantillons dans des saces scellés et stériles, en suit Afin d'augmenter le nombre des actinobactéries du sol au cours des isolements, les échantillons de sol ont subi un prétraitement par un séchage à la température ambiante pendant une durée de 3 à 5 jours. Les échantillons de sol ont été tout d'abord séchés puis broyés afin de faciliter l'isolement des actinobactéries.



3.2. Enrichissement des échantillons par le bicarbonate de calcium ($CaCO_3$)

Cette méthode consiste à mélanger 10g d'échantillon de sol avec1g de CaCO3. Le mélange est incubé dans une étuve à 40°C pendant 7 à 9 jours dans une atmosphère saturée d'humidité. Ce prétraitement a pour avantage, la réduction de la flore fongique ainsi que l'augmentation du nombre d'actinobactéries.

3.3Les milieux de culture utilisés

Parmi les milieux de culture sélectifs des actinobactéries, quatre milieux sont utilisés pour L'isolement de ces microorganismes. La composition de ces milieux de culture est présentée :

- **Milieu Bennett** (glucose extrait de levure peptone extrait de viande agar)
- **Milieu ISP4** (*international Streptomyces Project)*
- **Milieu CAA** (*gélose caséine amidon agar*)
- **Milieu GN** (gélose nutritif)

3.4. Ensemencement des échantillons

Pour isoler et dénombrer les espèces d'actinobactéries présentent dans nos échantillons de sol, nous avons utilisé la méthode de suspensions dilutions **(Badji *et al.,* 2005).** Cette technique consiste à prélever 10 g de sol et les introduire dans 100 ml d'eau physiologique stérile. A partir de cette suspension, des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-5}) sont réalisées. Un volume de

0,1 ml correspondant à 100 µl des deux dernières dilutions (10^{-4} et 10^{-5}) sont étalés dans des boites de Pétri contenant le milieu d'isolement. Les boites sont incubées à 28°C pendant 21 jours. La lecture est faite quotidiennement à partir du 3èmejour d'incubation **(Djinni, 2009).**

4. Dénombrement des colonies

Le dénombrement des colonies d'actinobactéries est effectué après 21 jours d'incubation. Seules les colonies présentant les caractéristiques macroscopiques des bactéries d'Actinomycète les sont dénombrées.

5. Observation microscopique

Toutes les colonies bactériennes qui se rapprochent par leurs aspects macroscopiques aux actinobactéries: colonies dures et incrustées dans la gélose et présence de mycélium aérien, sont observées au microscope optique, en utilisant la coloration simple au bleu de méthylène ainsi que la coloration de Gram. L'observation au microscope optique est effectuée avec les différents grossissements **(Kalyani*et al.,* 2012)**.L'ensemble des isolats obtenus des différents échantillons de sols sont repiqués sur le même milieu qui a servi à l'isolement.

6. Purification des isolats bactériens

Les colonies qui se rapprochent par leurs aspects macroscopiques et microscopiques sont purifiées afin obtenir des cultures pures. À l'aide d'une pipette pasteur stérile on prélève un inoculum à partir des colonies de milieu d'isolement, qui sera ensuite ensemencé par épuisement sur le même milieu que celui d'isolement sous forme des stries. Cette dernière opération est répétée jusqu'à l'obtention des cultures pures. La pureté des isolats est contrôlée par des examens microscopiques directs après chaque repiquage (**Boussaber *et al.,* 2012).**

7. Coloration de Gram et observation microscopique

Elles sont effectuées selon les méthodes classiques. Les isolats à coloration Gram positif et présentant un aspect filamenteux sont conservés sur gélose inclinée à 4 °C, avec un repiquage tous les 4 semaines.

8. Conservation des isolats d'actinobactéries

Seules les colonies à coloration Gram positif présentant les aspects caractéristiques des actinobactéries sont conservés sur milieu ISP4 à 4°C.Les isolats purifiés sont conservés afin de les utilisés pour des tests ultérieurs. Les isolats sont repiqués dans des boites de Pétri Contenant le milieu ISP4. Ils sont ensuite incubés à 28 °C pendant 7 jours, puis conservés à 4°C**. (Oskay *et al.,* 2004).** Pour l'identification de nos isolats, nous nous sommes basés sur

des observations macroscopiques, microscopiques et des caractères physiologiques et biochimiques.

9. Aspect macroscopique et caractères culturaux des isolats

L'aspect phénotypique et les caractères culturaux représentent une grande importance en taxonomie bactérienne. Ils sont déterminés sur le ou les milieux de culture suivants: ISP4, benntte, GN, CAA.L'importance de la croissance, le développement du mycélium aérien sur chaque milieu, la pigmentation du mycélium aérien et celui du substrat (le dos de la colonie) et la présence ou absence de pigments diffusibles dans la gélose sont observés et notés.

10. Morphologie des mycéliums (aériens et de substrat)

La morphologie des mycéliums est observée par la technique de culture sur lame. L'observation microscopique a été effectuée au grossissement **(x 40).**

11. Mise en évidence de l'activité antagoniste

11.1. Souches de microorganismes cibles indicatrices

Les microorganismes cibles proviennent de la collection du laboratoire de microbiologie de l'Université d'Oran Ahmed Ben Bella, déposé dans la banque de donnée de la collection mondiale **(ATCC).** Les souches bactériennes ont toutes été revérifiées au laboratoire afin de nous assurer qu'il s'agissait bien d'espèces bactériennes en culture pure. Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques des bactéries indicatrices.

Tableau05 : Caractéristiques des bactéries indicatrices.

Microorganismes	**Coloration de Gram**	**Code d'accession**
Pseudomonas auroginosa	Gram -	ATCC27853
Sallmonella enterica		ATCC14028
Staphylococcus aureus	Gram +	ATCC49775
Streptococcus pneumoniae		ATCC49619
Bacillus cereus		ATCC10987
Enterococcus lactis		ATCC11454

ATCC: American type **C**ulture **C**ollection.

11.2. Technique de stries croisées

L'activité antimicrobienne des isolats est évaluée par la méthode des stries croisées sur milieu ISP4. Celle-ci consiste à ensemencer les isolats d'actinobactéries à tester en un seul trait à la surface du milieu solide en bordure de la boite de Pétri. Après incubation pendant 10 jours à28°C. Les souches cibles sont ensemencées perpendiculairement à la strie longitudinale de l'actinomycète (Figure12).Les boites sont incubées à 37°C pendant 24h à 48h pour les bactéries et 25 °C pendant 5 jours pour la levure et la moisissure. La lecture des résultats s'effectue par la mesure de la distance d'inhibition entre les bordures de la souche cible et l'isolat d'actinobactéries testé.

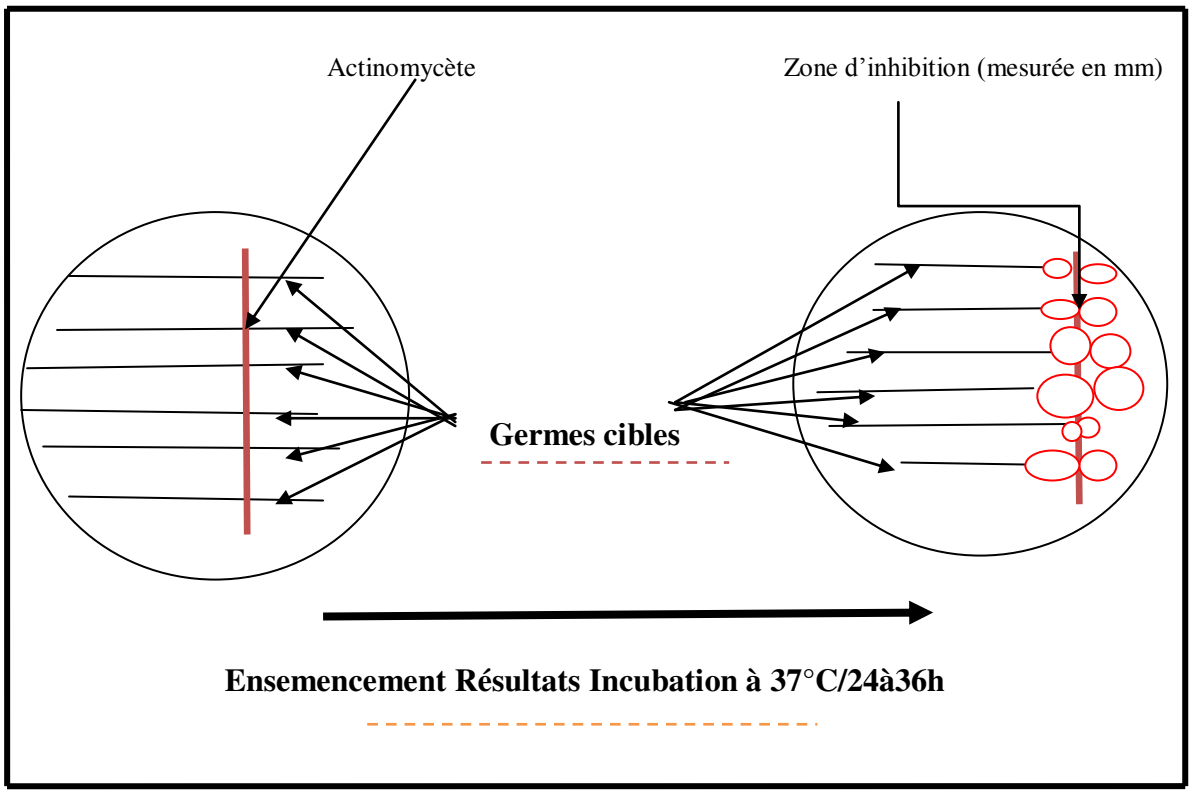


Figure12 : Mise en évidence de l'activité antibiotique sur milieu solide par la méthode des stries croisées **(Rothrock *et* Gottlieb, 1981).**

11.3. Test de sensibilité aux antibiotiques

La méthode de standardisation des germes cibles utilisée est celle des suspensions dilutions accompagnée d'une mesure de la densité optique à différentes longueurs d'onde suivant le Germe étudié, (DO = 0,08-0.1) de la solution mère sur un spectrophotomètre ou la longueur d'onde est 625 nm. La charge de l'inoculum utilisée est de 10^8UFC/ml pour les bactéries

(Billerbeck *et al.* , 2002).Les disques d'antibiotiques sont déposés aseptiquement à environ 10mm de la périphérie de la boite de Pétri coulé précédemment par milieu Muller Hinton **(Annexe)**, à l'aide d'une pince stérilisée par flambage, en appuyant légèrement pour Assurer le contact avec le milieu. Les boites sont placées dans un réfrigérateur à 4±1°C pendant 2h puis mises à incuber à 28 ±2°C. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré après 72 h d'incubation (**Chun *et al.,* 1998;Monciardini *et al.,* 2003**).lorsque le diamètre de zone d'inhibition est supérieur ou égal 15 mm l'isolats sensible, l'absence de zone l'isolat est résistante (R).

Tableau06: Les antibiotiques utilisés dans le test d'antibiogramme leur familles et leur mode d'action.

Antibiotiques	**Charge (µg/disque)**	**La famille**	**Mode d'action**
gentamicine	10	aminosides	bactéricide
érythromycine	15	macrolides	bactériostatique
ofloxacine	05	fluoroquinolones	bactéricide
rifampicine	30	rifampicine	bactériostatique
nitrofurantoin	100	Fluoroquinolones et cotrimoxazole	bactériostatique
amoxyclave	30	Aminopénicillines	bactéricide
colistine	10	polymyxines	bactéricide
pipemidice	20	quinolones	bactériostatique

12. Etudes physiologiques et biochimiques des isolats d'actinobactéries

Des tests de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques et protidiques sont été effectués:

12.1. Hydrolyse de la caséine

La caséine, protéine de lait, peut être hydrolysée par certaines espèces bactériennes. Chaque isolat bactérien testé est ensemencé sur milieu gélosé en boite de Pétri additionné de 5% de lait stérile. Les boites sont incubées à 28°C pendant 7 jours. L'observation des zones d'éclaircissement du milieu autour des colonies témoigne l'hydrolyse de la caséine (caséine+) **(Staneck et Roberts, 1974; Géraldine *et al.,* 1981)**.(Annexe)

12.2. Dégradation de l'amidon

La gélose à l'amidon est une gélose nutritive, additionnée de 1% d'amidon, elle permet de mettre en évidence la dégradation de ce polyholoside. Les souches d'actinobactéries sont

ensemencées sur gélose à l'amidon. Après 14 jours d'incubation à 30°C, la culture est recouverte d'une solution de Lugol. L'hydrolyse de l'amidon est mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies. Les zones contenant de l'amidon se colorent en bleu (**Marchal et Bourdon, 1973**). (Annexe)

12.3. Dégradation de la gélatine

Les isolats d'actinobactéries sont cultivés sur milieu gélose nutritif contenant 4% (v/v) de gélatine puis incubés à 30 °C pendant 21 jours. Après incubation, les zones où la gélatine est hydrolysée, la gélose devient moue correspondant ainsi aux zones d'hydrolyse (**Marchal et Bourdon, 1973, modifié).**(Annexe)

12.4. Pouvoir hémolytique

Ce test consiste à ajouter dans un flacon contenant 200 ml de gélose nutritive stérile en état de surfusion (45°C), une quantité de sang humain avoisinant un pourcentage de 5%.Le flacon est ensuite homogénéisé délicatement pour ne pas éclater les cellules sanguines.

Après homogénéisation, le contenu du flacon est coulé dans des boites de Pétri. Après refroidissement du milieu, les actinobactéries sont ensemencées sous forme d'un trait au centre de chaque boite de Pétri. Les zones claires au tour de la colonie représentent la zone d'hémolyse.

12.5. Utilisation des composées glucidiques comme seules sources de carbone

Les glucides (oses, diholosides, polyholosides,...) peuvent être dégradés par de nombreuses bactéries suivant deux grandes voies: l'oxydation(en aérobiose) et la fermentation(en anaérobiose). Ce test consiste à apprécier la croissance des actinobactéries en présence de composés glucidiques à raison de 10g/l comme seule source de carbone, additionnés au milieu ISP4.Les isolats d'actinobactéries sont ensemencées en stries à l'aide d'une anse stérile à la surface du milieu gélosé en boite de Pétri. Les boites sont ensuite incubées à 28°C pendant 21 jours. Lorsque la croissance est meilleure et nettement supérieur à celle du témoin sans sucre dans ce cas le test est considéré comme positif**(Harir, 2018).**Les composés glucidiques et les dérivés testés sont les suivants: lévulose, raffinose, rhamnose, maltose, lactose, D.fructose, D.glucose, Sucrose, D.galactose, Xylose.

13. Croissance en présence d'inhibiteurs

13.1. Différentes concentration de Na Cl

Le milieu ISP4 contenant des concentrations croissantes en Na Cl (3,5, 7, 9 et 10 %) est ensemencé par les spores prélevées d'une culture de 14 jours de l'isolat d'actinobactéries identifié. L'incubation est réalisée à la température de 28 °C pendant 21 jours. La croissance est ensuite notée selon une échelle: (faible, moyenne, bonne croissance).

13.2. Croissance à différentes températures

Chaque bactérie a une température pour laquelle sa croissance est optimale, ainsi que des températures extrêmes au-dessus des quelles elle ne se développe pas. Ce test consiste à évaluer la croissance des souches à différentes températures sur le milieu ISP4.

La croissance des souches d'actinobactéries a été testée à différentes températures (5, 15, 20, 28et 37°C) pendant 21jours **(Meklat, 2012).**

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Isolement des actinobacteries

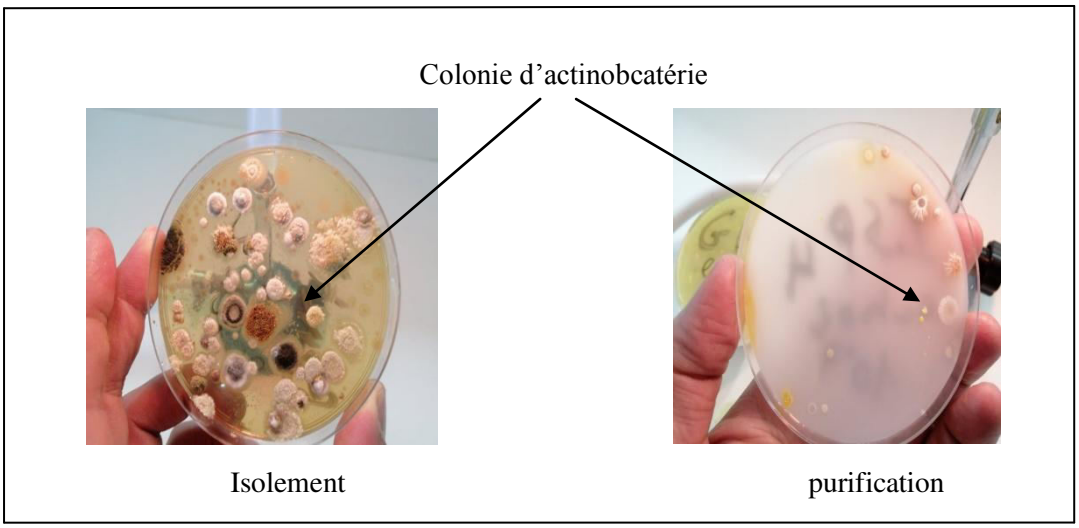


Figure 13 : aspect macroscopique des colonies isolées et purifies d'actinobacteries (pris personnelle).

Apres incubation durant 14 à 21 jours, des colonies présentant des caractéristiques d'actinobactéries apparaissent sur les 4milieux d'isolement (ISP4, CAA, bennett, GN) ajustés à un pH 7, Ces colonies sont reconnues par leurs aspects macroscopiques.

Ce sont des colonies dures incrustés dans la gélose. Microscopiquement, elles présentent des hyphes filamenteux ramifiés.

2. Dénombrements les colonies d'actinobacteries

A) sol de Tamazguida (lac de dhaya)

Tableau 07 : le dénombrement des actinobacteries de sol (Tamazguida) traitée et non traitée.

Les milieux	Dhaya non traitée		Dhaya traitée	
	Echantillon 01 (10^{-3})	Echantillon 02(10^{-3})	Echantillon 01 (10^{-3})	Echantillon 02 (10^{-3})
ISP4	3	2	17	2
bennett	3	1	12	3
CAA	1	2	1	5
GN	2	0	3	7

B) sol de sebkha d'Oran

Tableau08 : le dénombrement des actinobacteries de sol (sebkha d'Oran) non traitée et traitée.

Les milieux	Sebkha non traitée			Sebkha traitée		
	Echantillon 01 10^{-3}	Echantillon 02 10^{-3}	Echantillon 03 10^{-3}	Echantillon 01 10^{-3}	Echantillon 02 10^{-3}	Echantillon 03 10^{-3}
bennett	1	1	0	0	1	0
GN	0	0	0	1	3	2
CAA	2	0	0	2	0	0
ISP4	2	2	1	2	4	5

C) Sol agricole (ITAFV de Benchikao)

Tableau 09 : le dénombrement des actinobacteries de sol agricole (ITAF benchikao) non traitée et traitée.

Les milieux	Sol agricole non traité				Sols agricoles traité			
	Ech01 10^{-3}	Ech 02 10^{-3}	Ech 03 10^{-3}	Ech04 10^{-3}	Ech 01 10^{-3}	Ech 02 10^{-3}	Ech 03 10^{-3}	Ech 04 10^{-3}
ISP4	2	1	3	3	3	5	2	4
bennett	1	1	2	0	1	2	1	2
CAA	0	1	1	0	1	2	2	1
GN	1	0	1	0	2	3	1	1

Remarque : Ech = échantillon

Au total,18 isolats d'actinobacteries sont bien isolés Au cours de la purification, 10 isolats ont été contaminées,8 isolats ont été récupérées : SNT3, DT1, Agr1, Agr3, Agr4, DNT2, SNT4, DT4.

DNT : dhaya non traité / DT : dhaya traité

SNT : sebkha non traité / ST : sebkha traité

Agr : agricole

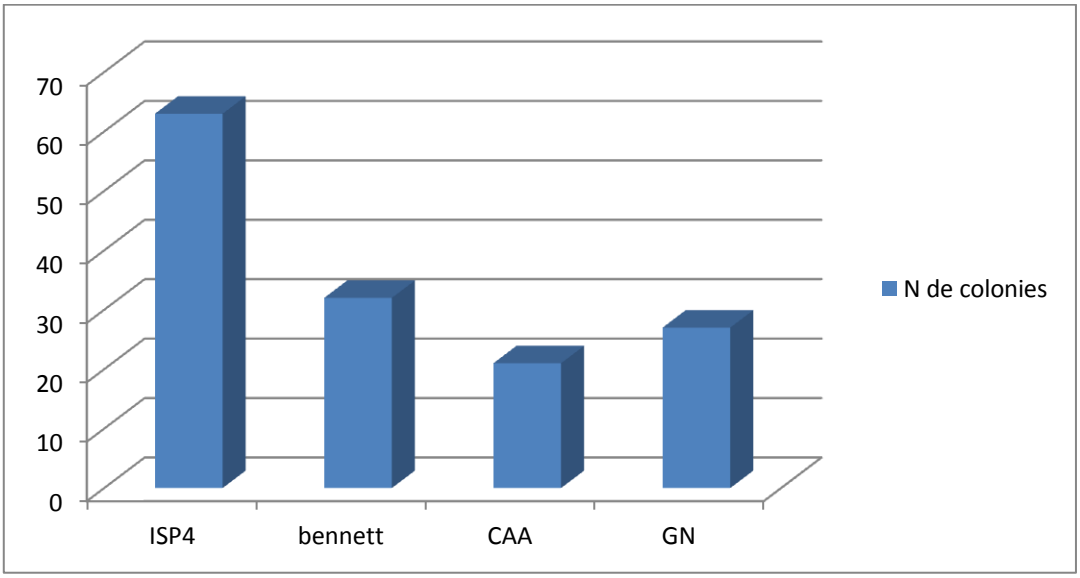


Figure 14 : Histogramme représentant le nombre de colonie d'actinomycètes isolés à partir de chaque milieu de culture dilution 10^{-3}.

N = nombre

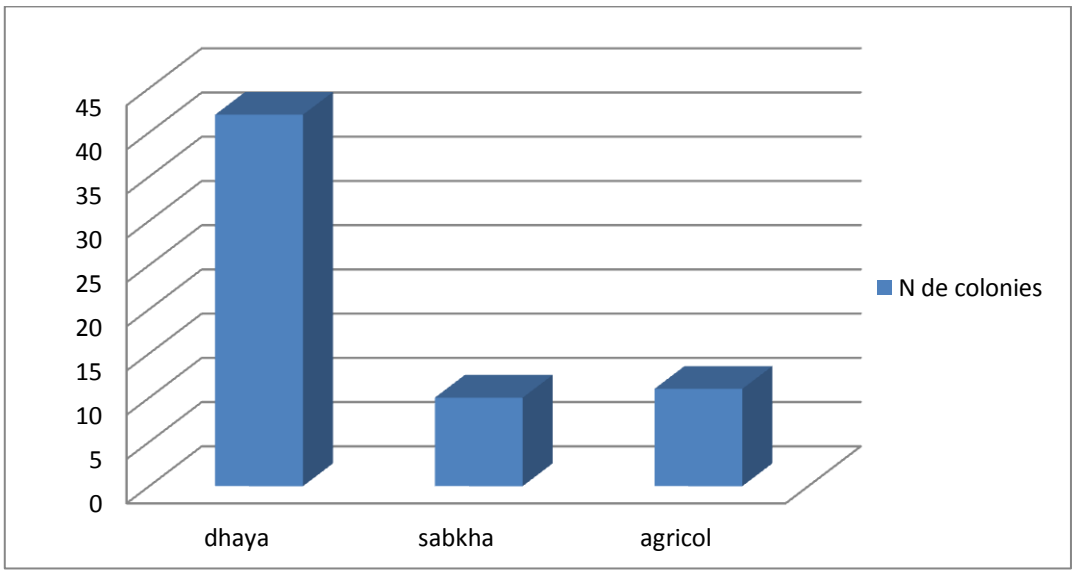


Figure 15 : histogramme représentant le nombre de colonie d'actinomycètes isolés à partir de chaque type de sols (échantillon 01 pour chaque type de sols).

N = nombre

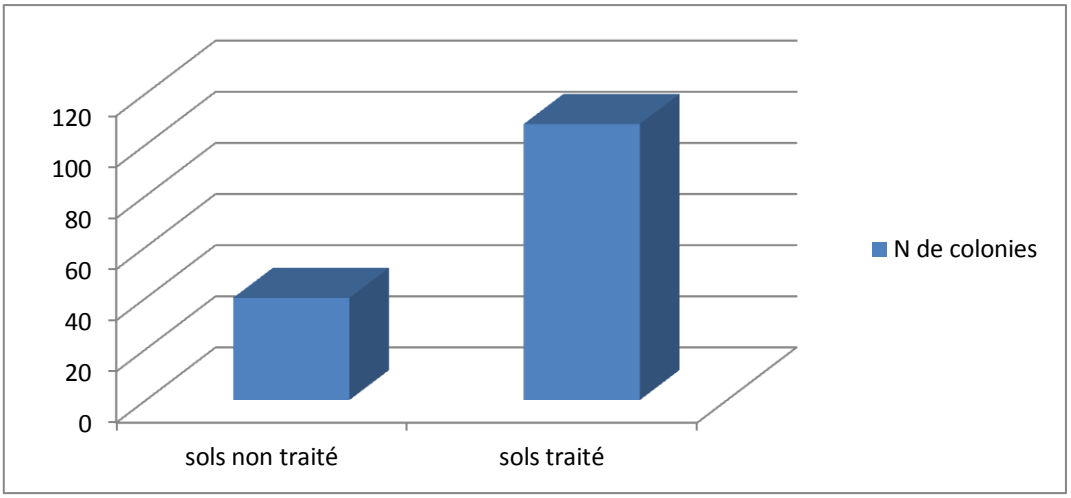


Figure 16 : histogramme représentant le nombre de colonie d'actinomycète selon la présence de traitement ou non.

N = nombre

Selon les figures précédentes, nous avons réalisé une comparaison entre la charge bactérienne présente dans les différents types de sols étudiés. Le sol de dhaya (Le sol limoneux) a représenté le taux le plus élevé que les autres sols. En comparant le nombre de colonies des actinomycètes isolés en présence et en absence du traitement au carbonate de calcium, nous avons trouvé que ce dernier favorise la croissance bactérienne des actinobactéries.

En comparaison entre les quatre milieux de culture utilisés dans cette étude, nous avons révélé que le milieu ISP4 a donné un meilleur résultat par rapport aux milieux CAA, GN et Bennet.

3. Caractères culturaux

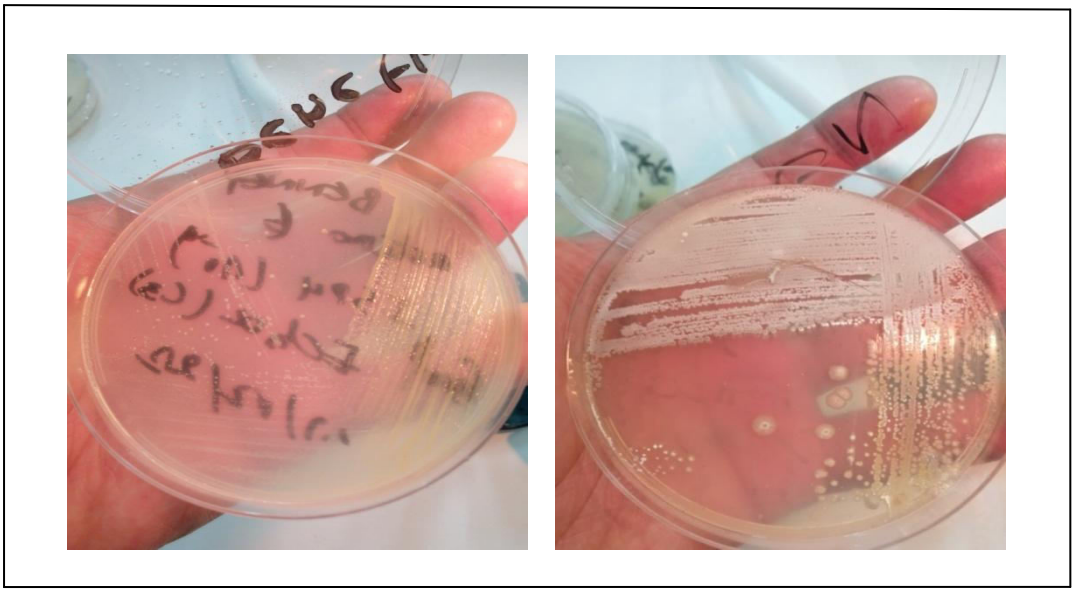


Figure 17: Caractères culturaux des actinobactéries (pris personnelle).

Après 14 à 21 jours d'incubation, des colonies jaunes sont apparues, de forme irrégulière, sèches, de couleur beige à crème correspondant au mycélium de substrat. Celui-ci est formé dans les premiers stades de la croissance et s'est développé dans le milieu de culture. Ce mycélium peut être aussi observé sur le dos de la colonie lorsque le milieu est totalement transparent. Sur les milieux (ISP4, CAA, bennett, GN) un aspect poudreux de couleur blanche à crème est observé dès le début de la deuxième semaine, c'est le mycélium aérien.

Ce dernier a continué à se développer durant toute la deuxième semaine. Dès le début de la troisième semaine jusqu'au 21jour, le mycélium aérien pris progressivement une couleur beige foncé à marron claire. Ce changement correspond à la formation des spores sur les extrémités des hyphes aériens.

4. Caractères morphologiques

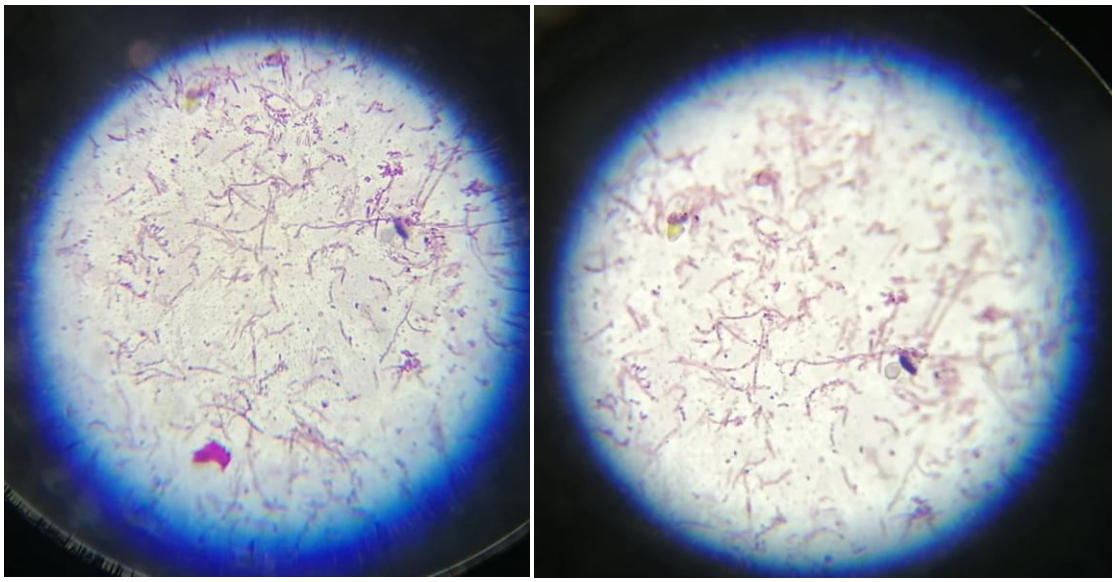


Figure18 : les caractères microscopiques des quelques isolats choisis (pris personnelle).

Les caractères phénotypiques des isolats purifiés, observés sous microscope optique (**Grossissement x40**), sont présentés sur le Tableau10 et la Figure 18.

Les isolats présentent un mycélium de substrat formé de longs hyphes fins, ramifiés et ne portant pas des spores. A partir de ces hyphes, les isolats ont développé un autre mycélium aérien, moins ramifié que celui du substrat et se différencie aux extrémités des hyphes en longues chaînes de spores. Les spores ont une forme cylindrique, non mobiles. Il est à noter aussi qu'aucune autre structure n'est observée comme les sporanges ou les sclérotes.

La coloration de Gram a permis de mettre en évidence que les quatre isolats d'actinobactéries sont des bactéries à coloration Gram positif.

Tableau 10 : Caractères morphologiques des actinobactéries

isolats	Macro morphologie	Micro morphologie	Forme d'hyphe	Diamètre des colonies (mm)
SNT3	Colonies blanchâtre à contour irrégulier sous forme de chou-fleur	Coccien chaînette	Droite	(2-7)
DT1	Blanc cassé, gris, Jaune Orangé. Colonies grises foncées, adhérent entre elles, poudreuses	Bacilles en chainettes	Droite	(1-3)
AGr1	Blanc cassé, gris, jaune Orangé. Colonies de grande taille avec un contour arrondi, aplatis, poudreuses	Bâtonnets longs, isolés	Droite flexueuse	(2-4)
AGr3	Colonies blanchâtre à contour irrégulier sous forme de chou - fleur	Coccien chaînette	Droite	(2-7)
AGr4	Blanc cassé, gris, jaune Orangé. Colonies grises foncées, adhérent entre elles, poudreuses	Bacilles en chainettes	Droite	(1-3)
DNT2	Blanc cassé, gris, jaune Orangé. Colonies de grande taille avec un contour arrondi, aplatis, poudreuses	Bâtonnets longs, isolés	Droite flexueuse	(2-4)
SNT4	Colonies grise, blanc cassé, gris. Colonies grises foncées, adhérent entre elles, poudreuses	bacille en chaînette	flexueuse	(2-5)
DT4	Colonies grise, blanc cassé, gris. Colonies grises foncées, adhérent entre elles, poudreuses	bacille en chaînette	flexueuse	(2-5)

5.Conservation des isolats



Figure 19 : Conservation d'isolats d'actinobactéries dans des tubes contenant le milieu ISP4 incliné.

La figure 19 montre la conservation des isolats d'actinobactéries dans des tubes contenant le milieu ISP4 incliné après14 jours d'incubation.

6. Tolérance aux différentes températures et de salinité

Les résultats illustrés par le Tableau 11 et les Figures 20, 21, 22,23 montrent que tous les isolats sont capables de croître dans un intervalle de salinité allant de 3.5 à 10%. D'autre part, les actinobactéries testées sont capables de croître dans une gamme de température allant de 15 à 30°C, avec un optimum de croissance entre 20 et 30°C. En revanche, aucune croissance n'a été obtenue à la température 5°C, alors qu'une très faible croissance a été observée à la température 37°C. Le Tableau 11présente les résultats de la tolérance à la salinité et aux différentes températures.

Tableau 11: Résultats de la tolérance à la salinité et aux différentes températures.

actinobactereis	**Croissance à différentes températures(°C)**					**Croissance à différentes concentrations de NaCl (%)**				
	5	**15**	**20**	**30**	**37**	**3.5**	**5**	**7**	**9**	**10**
SNT3	-	+	+	++	+/-	-	-	-	-	-
DT1	-	+/-	+	++	+/-	+	-	-	-	-
AGr1	-	+/-	+	++	+/-	+	+	-	-	-
AGr3	-	+	+	++	+/-	-	-	-	-	-
AGr4	-	+	+	++	+/-	+	-	-	-	-
DNT2	-	+/-	+	++	+/-	-	-	-	-	-
SNT4	-	+	+	++	+/-	+	-	-	-	-
DT4	-	+/-	+	++	+/-	+	-	-	-	-

(+): positif / (-): négative / (-/+): plus ou moins / (°C): croissance à différentes températures / %: concentration de NaCl.

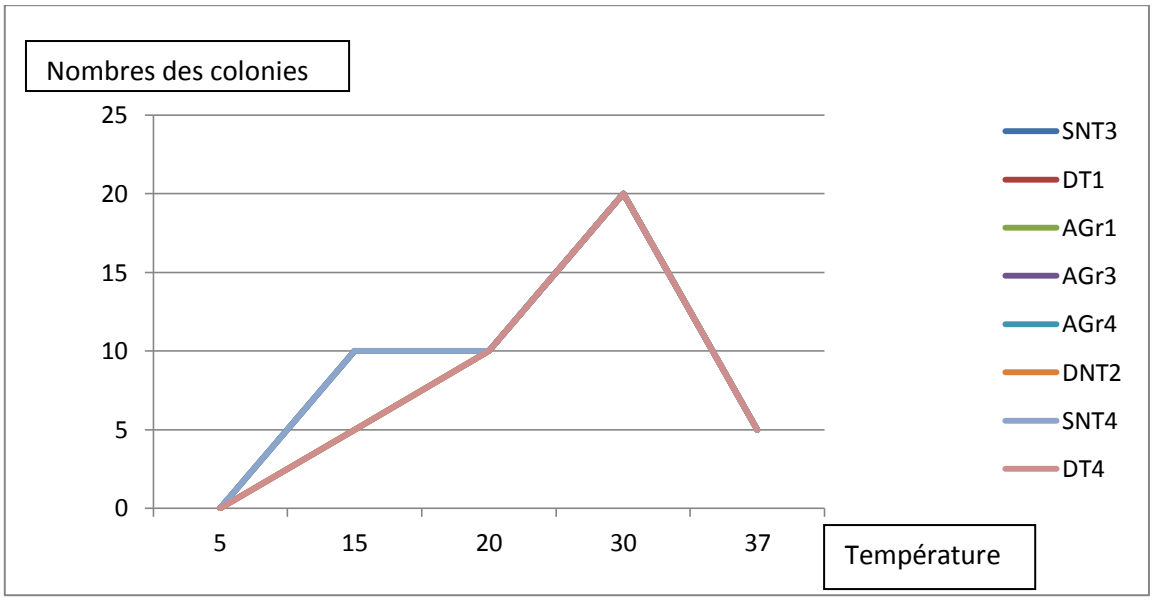


Figure20:courbe qui représente la Croissance des isolats d'actinobactéries vis-à-vis de déférentes température (°C).

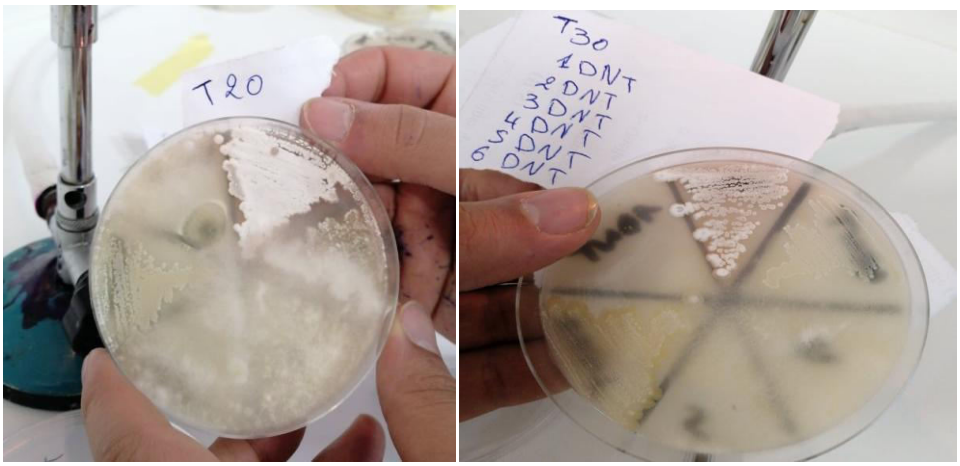


Figure21: Croissance des actinobacteries à différents températures (pris personnelle).

La température de croissance des huit isolats se situe entre 15 et 30°C, avec un optimum d'environ 28 °C. Ces isolats sont inhibés à 5°C et ont présenté une très légère croissance à 37°C.

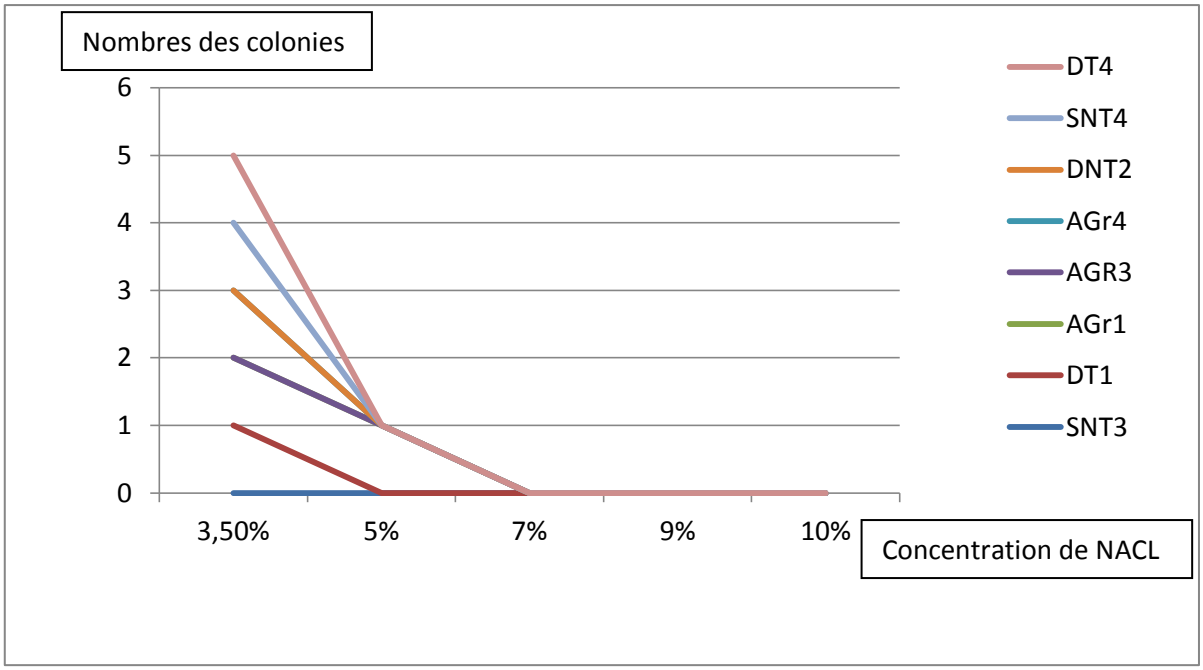


Figure22 : croissance des isolats d'actinobacteries vi à vis de déférente concentration de NACL.

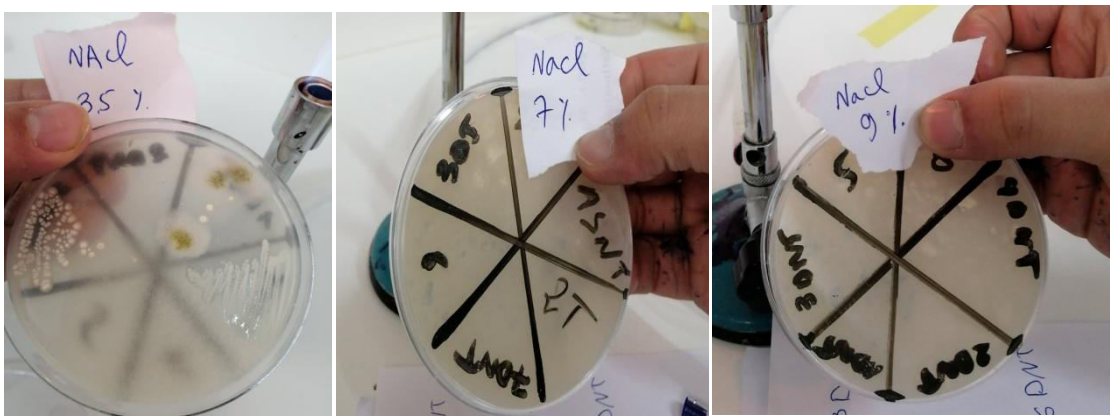


Figure 23: Quelques des images qui représente la croissance des actinobacteries a différentes concentration de NACL (pris personnelle).

Dans des milieux légèrement salins (3.5% ,5%) il y avait une faible croissance. Alors que dans les milieux hyper salins (7% ,9%,10%) il n'y avait aucune croissance.

7. Résultats d'études physiologiques et biochimiques

7.1 Assimilation des sucres



Figure 24 : Résultats de l'assimilation des sucres par les actinobactéries (pris personnelle).

Les résultats de l'assimilation des sucres sont présentés dans le Tableau 12 et la Figure 24. Pour l'utilisation des sucres, nous constatons tout d'abord que les huit isolats ont bien assimilé le fructose, le glucose, saccharose.

En comparaison avec les autres sucres étudiés, nous avons remarqué que le glucose est le seul sucre dégradé par tous les isolats.

7.2 Hydrolyse de la caséine



Figure25 : Résultat de hydrolysation de caséine d'actinobacteries (pris personnelle).

La caséine, protéine du lait, peut-être hydrolysée par certaines espèces bactériennes. La Figure 25, présente les résultats de l'hydrolyse de la caséine. D'après ces résultats nous ne constatons que les huit isolats d'actinobactéries ont hydrolysé la caséine. Ce résultat positif s'est traduit par l'apparition d'une zone claire au tour des colonies testées. La dégradation de la caséine est due à l'enzyme caséinase.

7.3 Dégradation de l'amidon



Figure26 : Résultats de dégradation d'amidon par nos isolats (pas dégradation).

L'amidon, macromolécule formulée de n unités glucose enchaînés, est hydrolysé par l'exoamylase dans le milieu extracellulaire en n molécules de glucoses. Puis le glucose (Molécule de petite taille) pénètre dans la cellule grâce à glucose perméase. La figure 26 signifie que nos huit isolats n'ont dégradé l'amidon.

7.4 Hydrolyse de la gélatine

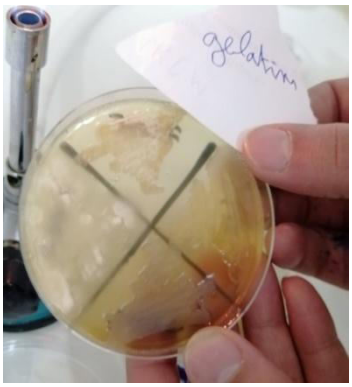


Figure27 : Résultats de l'hydrolysation de la gélatine par nos isolats (pris personnelle).

Les résultats de l'hydrolyse de la gélatine sont présentés par la Figure 27. Ces résultats montrent que les huit isolats utilisent la gélatine comme source de carbone. Ces résultats témoignent de la présence de l'enzyme gélatinasse chez l'ensemble des actinobactéries testés.

7.5 Pouvoir hémolytique



Figure 28 : Résultats de l'hémolyse par nos isolats (pris personnelle).

Les résultats de l'effet hémolytique sont présentés par la Figure 28.Selon les résultats, le test s'est révélé positive et l'isolat a montré un effet hémolytique (présence de zone claire autour des colonies).

TABLEU 12: Assimilation des composées glucidiques comme seules sources de carbone et quelques composés (amidon, sang, gélatine, caséine).

actinobacteries	fru	glu	sac	caséine	amidon	gélatine	sang
SNT3	-	+	-	+	-	+	-
DT1	-	+	-	-	-	+	-
AGr1	+	+	-	+	-	+	-
AGr3	+	+	-	+	+	+	+
AGr4	-	+	-	-	-	-	-
DNT2	-	+	+	+	-	+	+
SNT4	-	+	-	-	-	+	-
DT4	**-**	+	-	+	-	-	+

(+): positive / (-): négative. / Glu: glucose / fru : fructose / sac : saccharose.

8 .Résultats de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

Les résultats de la sensibilité des actinobactéries aux antibiotiques sont présentés par le tableau 13 et la figure29. Les zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques apparaissent très claires avec des bordures distinctes.

L'inhibition est notée positive lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieure ou égale à 15 mm. Les résultats de l'antibiogramme en milieu solide des huit isolats, montrent que certains isolats sont sensibles, d'autres résistants ou intermédiaires aux antibiotiques testés. Tendis que l'antibiotique gentamicine (10) est résistant à tout l'isolats(diamètre de la zone claire auteure du disque variée entre 20mm et 50mm) sauf AGr4,DNT2,SNT4 ,DT4 (pas de la zone claire) et érythromycine (15) est sensibles a tout l'isolats sauf AGr3 et ofloxacine est sensible à SNT3(diamètre de zone claire auteure du disque 35mm),sensible à DT1(diamètre de la zone claire auteure du disque 30mm),sensible à AGr1(diamètre de la zone claire auteure du disque 20mm) .le tableau suivant montrés tous les détails de test antibiogramme.

Tableau 13 : Résultats d'antibiogramme des actinobactéries.

Antibiotique / isolats	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SNT3	40	10	35	45	R	R	R	20	R
DT1	40	15	30	45	R	R	R	25	R
AGr1	20	10	20	10	R	R	R	25	R
AGr4	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AGr3	30	40	30	25	10	20	R	10	20
DNT2	R	R	R	R	R	R	R	R	R
SNT4	R	R	R	R	R	R	20	R	R
DT4	R	R	R	R	R	R	R	R	R

1 –gentamicine 2-érythromycine 3- ofloxacine 4- rifampicine 5- ampicilline 6- nitrofurantoin 7- amoxyclave 8- colistine 9- pipemidice

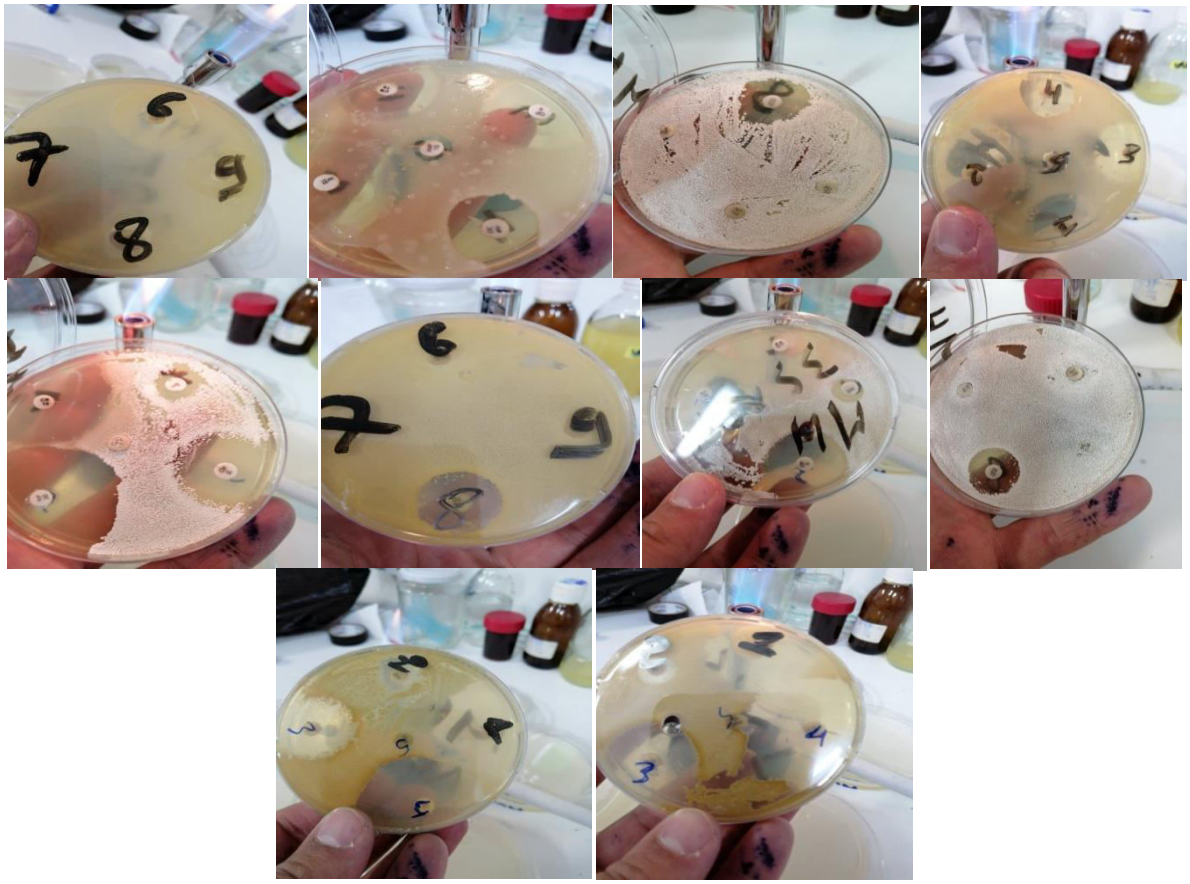


Figure29 : Représentant les Résultats de l'antibiogramme sur le milieu Muller Hinton

(Pris personnelle)

9. Activité antimicrobienne

Nous avons testé l'activité antimicrobienne des huit isolats , sur six espèces bactériennes(*Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Bacillus cereus, Salmonella, Enterococcus lactis* et *Pseudomonas aeroginosa),* nous avons ensemencé la souche d'actinobcatérie, après l'incubation pendent 14jours à 21jours, nous avons observé que la distance est située entre 0 mm à 16 mm, par exemple pour l'isolat SNT3nous avons trouvé une distance de 0 mm pour les deux espèces *Pseudomonas aeroginosa* et *Staphylococcus aureus*, tandis que chez *Salmonella* une distance de 16 mm a été enregistrée. Ces résultats sont montrés ci-dessous sur la Figure 30 et le Tableau 14.

Le tableau 14 : représentant les résultats de test activité antimicrobiennes

Isolat d' Actino-bactéries	**Activité vis-à-vis (mm)**					
	Staphylococcus aureus	***Streptococcus pneumoniae***	***Bacillus cereus***	***Salmonella***	***Enterococcus lactis***	***Pseudomonas aeroginosa sp***
SNT3	0	14	4	16	10	0
DT1	0	1	5	8	6	4
Agr1	1	5	7	10	0	7
Agr3	13	13	9	6	0	4
Agr4	4	7	1	11	6	3
DNT2	12	14	0	8	4	7
SNT4	0	2	3	10	8	2
DT4	0	0	0	0	0	0



1-Staphylococcus aureus *2- Streptococcus pneumoniae*

3- Bacillus cereus *4-salmonella*

5 - Enterococcus lactis *6-Pseudomonas aeroginosa sp*

Figure 30 : Représente les résultats de l'activité antimicrobienne (pris personnelle).

- **Discussion générale :**

Les Actinobactéries sont omniprésentes dans la nature, et sont utilisées dans différents domaines. Elles ont un rôle important dans le secteur pharmaceutique, agro-alimentaire, industriel, agricole et autre. Elles contribuent également à la dégradation de la matière complexe. Elles produisent des substances antimicrobiennes qui exercent une activité antagoniste vis-à-vis des microorganismes pathogènes et/ ou d'altérations.

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 Actinomycetales **(Boudemagh, 2007).** Plusieurs auteurs considèrent que la combinaison d'un prétraitement chimique ou physique des échantillons avec l'addition des antibiotiques est une précaution essentielle dans l'isolement des actinobactéries.

Au cours de notre travail nous avons utilisé deux techniques de prétraitement des échantillons du sol, l'une physique c'est le séchage des échantillons du sol à l'air libre pendant sept jours. Elle pour but de réduire la flore bactérienne indésirable. D'après (**Fan 2010**), le séchage des échantillons du sol pendant 7 à 21 jours, réduit considérablement le nombre des champignons ainsi que les bactéries. L'autre technique est chimique, c'est l'enrichissement par le bicarbonate de calcium (CaCO3), pour faciliter l'isolement sélectif des actinobactéries, Ayant une croissance lente, par rapport aux bactéries et aux champignons. L'enrichissement des échantillons du sol par le bicarbonate de calcium est une technique décrite par **El-Nakeeb** et Lechevalier (1963). Cette technique permis non seulement une augmentation du nombre de colonies des actinobactéries, mais aussi une diminution de la flore fongique et bactérienne **(Gurung et al. 2009).**

Le nombre faible d'actinobactéries isolés à partir des échantillons de sols peut-être expliqué par la période d'échantillonnage réalisé pendant la saison hivernale (mois de Février),ainsi que par les facteurs physico-chimiques(le pH, la matière organique et le taux d'humidité), qui influencent considérablement sur le nombre ainsi que le genre d'actinobactéries qu'abrite le sol. Selon les travaux de Hiltner et Stromer **(In Loqman, 2009),** les actinobactéries représentent 20% de la flore microbienne du sol au printemps, alors qu'en automne la densité des actinomycètes dépasse les 30%.Cet accroissement est probablement lié à la disponibilité des éléments nutritifs et aux conditions physico-chimiques **(Hop *et al.,* 2012 ; Adegboye *et al.,* 2012;Lee et hwang, 2002)**

Les antibiotiques synthétisés par les actinobactéries ont suscité beaucoup d'intérêt dans les industries pharmaceutiques pour leur valeur thérapeutiques. En effet, la majorité de ces bactéries sont considérées comme des germes inoffensifs pour l'hôte. Elles sont considérées comme des microorganismes à potentiels thérapeutiques très intéressants. La connaissance de ce groupe de bactéries pourrait nous permettre de les utiliser dans les différents domaines précédemment cités. En raison de leur présence dans des écosystèmes souvent hostiles et complexes, nous nous sommes proposé d'isoler cette population à partir de biotope (le sol). Cette étude est basée sur des observations macroscopiques et microscopiques et des tests physiologiques et biochimiques. Elle est ensuite complétée par des tests d'activité antimicrobienne vis-à-vis des germes pathogènes afin d'évaluer leur pouvoir antimicrobien ainsi que leur capacité à se développer à différentes concentrations de Na Cl et à différentes températures. Une étude sur la sensibilité des isolats d'actinobactéries aux antibiotiques a été également effectuée.

Après purification, isolement et dénombrement de nos isolats, les cultures sont conservées sur gélose inclinée à 4°C.

L'étude macroscopique nous a permis de déterminer les caractères culturaux de nos isolats (aspect, couleur, forme et contour). Quant à l'étude microscopique, elle nous a permis de différencier les isolats selon la coloration de Gram.

En suite, les tests biochimiques et physiologiques réalisés sur nos isolats, consistent en la recherche de l'hydrolyse de la gélatine, de l'amidon, de la caséine et leur effet hémolytique. Nous avons ensuite évalué par des tests leur capacité de croissance à différentes températures (5°C, 15°C, 20°C, 28°C et 37°C), à différentes concentrations de Na Cl (3%, 5%, 7%, 9% et 10 %), et enfin, leur activité antimicrobienne vis-à-vis de certains germes pathogènes ainsi que le test de sensibilité aux antibiotiques.

La caractérisation phénotypique montre que les isolats bactériens, appartiennent au groupe des Actinobactéries et que l'ensemble de ces isolats se rattache à un seul et unique genre, le genre Streptomyces. Ce genre semble le plus dominant dans les échantillons de sol analysés. Les isolats d'actinobactéries assimilent différemment les sources carbonées. Dans ce contexte, l'isolat SNT3 se distingue seul des 3 autres en possédant un spectre important d'assimilation des sucres. Par ailleurs, les tests d'activité antimicrobienne effectués ont permis d'évaluer l'action des isolats sur quelques espèces bactériennes et sur un mycète. Les isolats étudiés présentent in vitro une activité antibactérienne intéressante, néanmoins, d'autres études portant sur ce phénomène doivent être entreprises. Les résultats traduisent aucun effet

antagoniste en présence de l'isolat DT4, en revanche, en présence de l'isolat SNT3, on a enregistré les distance les plus haut (16et 14 mm)que corresponds *Streptococcus pneumoniae* et *Salmonella*. En effet plusieurs travaux ont démontré un pouvoir antibactérien remarquable de ces actinobactéries vis –à-vis de nombreux germes pathogènes (**McKenzie *et al,*. 2010 ; Mythili *et* Ayyappa, 2011 ; Ng *et* Amsaveni, 2012**).

L'ensemble des résultats des caractères culturaux, phénotypiques et biochimiques des huit isolats a permis de les rapprocher au genre Streptomyces. Plusieurs travaux ont signalé que le genre Streptomyces est le germe le plus dominant dans les sols arides et sem-arides d'Algérie (**Sabaou *et al.,* 2018**), Néanmoins, ces résultats préliminaires ne permettent pas de rattacher ces isolats à des espèces proposées dans la littérature, en raison du faible nombre de tests réalisés, comparés à ceux rapportés dans le manuel de Bergey's (1989) ou bien à ceux effectués par **Badji *et al.,* (2006**).

Bien que la détermination phénotypique et biochimique des bactéries constitue une partie indispensable et essentielle à l'identification des actinobactéries, elle est cependant imprécise et limitée. Afin d'affiner nos résultats, une caractérisation moléculaire est nécessaire.

Conclusion

Conclusion

Ce stage a été pour nous un apprentissage du travail de recherche en laboratoire. Il nous a permis de comprendre et d'apprendre l'utilisation de quelques techniques fondamentales de la microbiologie. Nous avons pu nous familiariser à manipuler dans des conditions stériles et à utiliser les outils de base en microbiologie. Mais surtout, ce stage nous a octroyé l'opportunité de rencontrer de près mes enseignants et de profiter de leur connaissance dans le monde de la recherche. Ce stage aété pour nous un exercice pour améliorer nos connaissances dans le monde microbien.

•La température de croissance des quatre isolats se situe entre 20 et 30°C, avec un optimum d'environ 28 °C.

•Elles ne sont pas capables de croître dans un intervalle de salinité allant de 3 à 10%.

•les huit isolats d'actinobactéries sont capables d'hydrolyser la caséine, l'amidon et la gélatine.

•L'isolat SNT3 a montré une zone d'inhibition importante vis-à-vis de *salmonella.*

•Les isolats DNT2 et Agr3 ont donné des zones d'inhibition varie entre 12 à 15 sur *Staphylococcus aureus* et *streptocoque pneumoniae.*

•tous les isolats ont une résistance différents aux les antibiotique utilisé tandis que isolats AGr4 est sensible a tout les antibiotique utilisé et AGr3 est résistance à tout les antibiotiques utilisé et les autres isolats ont résistance différent.

Pour mieux valoriser les isolats d'actinobactéries.il est souhaitable :

- d'étaler les sites de prélèvement d'échantillons afin de diversifier l'origine des isolats.
- constituer une collection réellement représentative de la population d'actinobactéries.
- Réaliser de nouveaux des tests in vitro et in vivo.
- Et enfin, Il conviendrait également d'étendre ce travail par d'autres techniques pour mieux identifier les isolats bactériens, et affiner cette taxonomie par des techniques de biologie moléculaire.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

Adegboye. M. F et Babalola. O. O. 2012. Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. African Journal of Agricultural Research. Vol 7. N° 15.Pp: 2255 2261.

AharonowitzY., Demain A.L. (1978). Carbon catabolite regulation of cephalosporinAlgeria**. Journal de Mycologie. Médicale, 15, 45–51**
.andphosphate. In: Kleinkauf H., Von Dohren. H, Dormaner H., Nesmann G. Regulation

AndriambololonaT. 2010. Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas du foret d'anaphore. Thèse de doctorat, UniversitéD'ANTANANAREVO. 5 –10p.

Anibou. M; Chait. A; Zyad. A; Taourirt.M; Ouhdouch.Y; and Benherref.A. (2008). -Actinomycetes from Moroccan habitats: isolation and screening for cytotoxic activities.World. J. Microbiol. Biotechnol, 24, 2019 2025p.

Ara. I, Bukhari. N. A, Wijayanti. D. R. & Bakir. M. A. 2012. M. A. Proteolytic activity of alkaliphilic, salt-tolerant actinomycetes from various regions in Saudi Arabia. African Journal of Biotechnology. Vol. 11(16). 3849-3857p.

Asselineau J. et Zalta J.P. (1973). -Les antibiotiques. Structures et exemples de mode d'action. Herman Ed., Paris.

Badji.B, Riba. A , Mathieu. F , Lebrihi. A , Sabaou. N. 2005. Activité antifongique d"une souche d"Actinomadura d"origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxinogènes. Journal de Mycologie Médicale. Vol 15. 211–219p.

Barreto, T, R. et al.2008. Population densities and genetic diversity of actinomycete sassociated to the rhizosphere of theobroma cacao. Brazilian Journal of Microbiology.Vol: 39.N: °3. 464-465.

Référence bibliographique

Basilio.A; Gonzalez.I; Vicente.M.F; Gorrochategui.J; Cabello.A;Gonzalez.A; and Genilloud.O. (2003). -Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. J. Appl. Microbiol, 95, 814–823p.

BelyagoubiLarbi, 2014. Antibiotiques produits par des bactéries actinomycètes et bactéries lactiques issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat. Université Abou Bakr Belkaïd -Tlemcen, 143p.

Benabdellah A.M, 2014.Screening de deux souches extrèmophile halophile du genre Bacillusde la sebkha d'Oran (caractérisation phénotypique) 24.06.2014.

BentleyS.D; chater k.f; cerdeno-tarraga.a.-m; challis. g.l; thomson. n.r; james.k.d; harris.d.e; quail.m.a; kieser. h; harper. d;bateman.a; brown.s; chandra.g; chen.c.w; collins. m; cronin.a; fraser.a; goble. A; J. Hidalgo; T. Hornsby; S. Howarth; C.-H. Huang; T. Kieser; L. Larke; L. Murphy; Oliver. K; O'Neil.S; Rabbinowitsch. E; Rajandream. M.-A; Rutherford.K; Rutter.S; Seeger.K; Saunders.D; Sharp. S;Squares. R; Squares.S;Taylor. K; Warren.T; Wietzorrek.A; Woodward.J; Barrell. B.G; Parkhill.J; and Hopwood.D.A. (2002). –Complete genome sequence of the model actinomycete Streptomyces coelicolor A3(2). Nature, 417, 141-147.

Bertrand, R., Lenoir, J., Piedallu, C., Riofrío-Dillon, G., De Ruffray, P., Vidal, C.,Gégout, J. C. (2011). Changes in plant community composition lag behind climate warmingin lowland forests. Nature, 479 (7374), 517.

Berdy, J.2005. Bioactive microbialmetabolites. J Antibiot (Tokyo)58. 1-26.22p.

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.

Boudemagh. A. 2007. Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétalesproductrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives.Thèse doc en microbiologie appliqué: Université Mentouri Constantine. 144p.

Référence bibliographique

Boudjella. H. 2007. Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des Streptosporangium des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par trois souches.Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique El-Harrach –Alger.

Boughachiche.F, Reghioua. S, Oulmi. l, Zerizer. H, Kitouni. M, Boudemagh. A, Boulahrouf. A. 2005. Isolement d‟actinomycetales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha de Ain Mlila. Sciences & Technologie. N : 23. 5-10p.

Boughachiches,F,Reghioua,S.,Ierizer,H.,etBoulahrouf,A.(2012,March).Antibacterial activity of rare Streptomyces spacies against clinical resistant bacteria.
In Annales de biologie Clinique Vol.70, No.2.169-174p.

Boussaber.E, Kadmiri. I. M, Hilali. L, Hilali. A. 2012. Comparaison de l‟activité antimicrobienne des souches d‟actinomycètes isolées de milieux variés. ScienceLib Editions Mersenne. Vol 4. N ° 121203. Pp : 1-21.

Breton A., Theilleux J., Sanglier J.J., Viobis G.1989. Organismes producteurs: biologie, taxonomie et écologie. In “Biotechnologie des Antibiotiques”. Larpent J.P. etSanglier J.J., Masson : Paris. 33-70p.

Bycroft B.W.1988.Dictionnary of antibiotics and related substances.London : Chapman and Hall,944p.

Chater.K.F. 2006.Streptomyces inside out: a new perspective on the bacteria that provide us with antibiotics. Phil. Trans. R. Soc. B, 361, 761–768p.

Chen L., Wang G., Bu T., Zhang.Y., Wang Y., Liu M. and Lin.X. (2010b). -Phylogenetic analysis and screening of antimicrobial and cytotoxic activities of moderately halophilic bacteria isolated from the Weihai Solar Saltern (China). World J.Microbiol.Biotechnol.,26, 879-888p.

Cheng J. R., Fang A., Demain A. L. (1995). Effect of amino acids on rapamycin biosynthesis in Streptomyceshygroscopicus.Applied Microbiologyand Biotechnology. 43: 1096-1098p.

Référence bibliographique

Chun G., seangC.M., Lee K.G., Kang S .A., Good fellow M. et Hah V.C. (1998). Nocardiaflavorosea sp. Nov international journal of systymatic bacteriology, 48(3), 901-905p.

ColombieV.2005.Description de la production de spiramycines par Streptomycesambofaciens. Modélisation métabolique, stimulation et capteur logiciel. Thèse de doctorat. Institue nationale des sciences appliqué, Université de Toulouse,174p.

Decre D.,Courvalin P. 1981. De l'intérêt d'antibiotiques nouveaux. Bull. Soc. Fr. Microbiol, 12(2), 160 –175p.

Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle.

Demain. A.L; and Lancini.G. (2006). -Bacterial Pharmaceutical Productsin Procaryotes, 1, 812–833p.

DesnottesJ.F. 1995. Recherche de nouveaux antibiotiques, évolution des méthodes d'évolution microbiologiques. Bull. Soc. Fr. Microbiol.

Djaballah C., 2010. Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérentsisolés se la sebkha de Ain M'Lila. Mémoire de Magister enMicrobiologie. Université Mentouri - Constantine : 102p.

Djinni I,2009 Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées productrices de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Béjaia memoire de Magister en Microbiologie Appliquée.Université A. Mira de Bejaia Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie.

Donadio S.,Monciardini P., Alduina R., Massa P., Chiocchini C., Cavaletti L., Sosio M., Puglia A.M. 2002. Microbiol technologies for the discovery of novel bioactive metabolite. J. Biotechnol, 99,187 –198p.

Référence bibliographique

El-Mehalawy,A. et al. 2004.Influence of Maize Root Colonization by the Rhizosphere Actinomycetes and Yeast Fungi on Plant Growth and on the Biological Control of Late Wilt Disease.International journal of agriculture and biology.Vol 6.N°:4. 599–605p.

El-Nakeeb, M., Lechevalier, H. 1963.Selective Isolation of Aerobic Actinomycetes.ApplMicrobiol.Vol: 11. N°: 2..75-77p.

Euzeby JP. (2015). List of bacterial names with standing in nomenclature. http://www.bacterio.cict.fr/.**Fan**. L, Zheng J, Yang. X. 2010. The effect of natural air-dry time on actinomycetes Isolation from sample soil.Journal of Hainan Medical University.

George. M, George. G and Hatha. M. A. A. 2010. Diversity and antibacterial activity of actinomycetes from wetland soil.The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences.Vol: 28.: 52-57p.

Geraldine, M., Schofield, M., Schaal, K. P. (1981). A numerical taxonomic study of members.

Getha K.,Vikineswary S., Wong W.H., Seki T., Ward A., Goodfellow M. 2005. Evaluation of Streptomyces sp. strain g10 for suppression of Fusarium wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. J. Ind. Microbiol. Biotechnol.Vol: 32. 24-32p.
Goodfellow M, Williams ST. 1983. Ecology ofActinomycetes. Ann Rev Microbiol. Vol:37.: 189-216p.

Goodfellow M. (2012).Phylum XXXI.Actinobacteria phyl.nov.In:Goodfellow et al.,(Editors).Bergey Manuel of Systematic Bacteriology,The Actinobacteria,Secondedition,Vol.V,Part A, Newyork,Dordrechet, Heidelberg, London.1-28p.

Gottlieb D. 1973.Generalconsideration and implication of actinomycétales.in actinomycétalecaractiristics and pratical importance.edited by G syks and F.A skinner.academic press, London newyork.

Référence bibliographique

Gurung. T. D. Sherpa. C. Agrawal. V. P. &Lekhak.. B.2009. Isolation and Characterization of Antibacterial Actinomycetes from Soil Samples of Kalapatthar, Mount Everest Region.Nepal Journal of Science and Technology.Vol10.:173-182p.

Hasley C., Leclerc H, 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. Editions Lavoisier TEC&DOC.France.

Hayakawa, M., Ishizawa, K., and Nonomura, H. 1988.Distribution of rare actinomycetes in Japanesesoils.J. Ferment. Technol. Vol: 66.: 367–373p.

Holt. JG., Krieg NR., Sheath P.H.A., Staly J.T., Williams S.T., 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. William and wikins.

Hop. D. V, Sakiyama. Y, Binh. C. T. T, Otoguro. M, Hang. D. T. Miyadoh. S, Luong. D. T & Ando. K. 2012. Taxonomic and ecological studies of actinomycetes fromVietnam: isolation and genus-level diversity. The Journal of Antibiotics. Vol: 64.: 599–606p.

Kalyani.A.L.T. RamyaSravani K. M. Annapurna J. B. 2012. isolation andcharacterization of antibiotic producing actinomycetes from marine soil samples.International Journalof Current Pharmaceutical Research.Vol: 4. N°: 2. 109-112p.

Kitouni, M.(2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes identification moléculaire des souches actives et caractérisation.

Kitouni.M; Boudemagh. A; Oulmi. L; Reghioua. S; Boughachiche. F; Zerizer. H; Hamdiken. H; Couble. A; Mouniee. D; Boulahrouf. A; Boiron. P. (2005). -Isolation of actinomycetes.

Lacey J.,1997.Actinomycetes in composts. Annals of Agricultural and Environnemontale medicine,4,113-121 p.

Larpent. J.P; et Sanglier. J.J. (1989). –Biotechnologies des antibiotiques. Masson. Paris, p. 481.

Référence bibliographique

Lechevalier H.A., Lechevalier M.P.(1970). Agritical evaluation of genera of aerobicActinomycetes. In: The Actinimycetales. Prauser H.(Eds).G.Fisher Vorlag, Jena P. p:393-405.

LechevalierM.P. 1988. Actinomycètes in agriculture and forestry. In: Actinomycetes in Biotechnology. Goodfellow, M.G., Williams, S.T. and Modarski, M. Ed., Academic Press London, New-York, 327 –358.pp.

Lee. J. Y., Hwang. B. K., 2002. Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea.Canadien Journal of Microbiology,48: 407 –417p.

Lichtmen H., Watson J ., Ginsberg V ., Pierce J.v ., StokstadE.l., Jukes T.H.(1949). Vitamin B12 B some properties and its therapeutic use.Experimental Biology and Medcine., 72(3),643-645 p.

Loqman. S. 2009. La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne: Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. Thèse doc : Université De Reims Champagne-Ardenne Ecole Doctorale Sciences Exactes et Biologie.: 253p.

LOUCIF K.,2011. Recherche des substances antibactériennes à partir d'une collection des souches d'actinomycetes.caractérisation préliminaires de molécules bioactives. Mémoire de magister de microbiologie, Université Mentouri –Constantine, 21p.

Maier.R. M., Pepper. I. L., Gerba. C. P. 2009. Environmentalmicrobiology. AcademicPress: London. 598p.

Masand M. et Menghani E. (2015). Antimicrobial activity of isolates of actinomycetesfrom soils of semi arid regions of Rajasthan. Word journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Volume 4, Issue 04,1549-1556.

MarchalN., Bourdon JL. (1973). Milieux de culture et identification biochimique des bactéries. Doin (Eds). Paris. 179 p.

McKenzie. N. L ;Thaker. M; Koteva.K; Hughes.D.W; Wright. G. D; and Nodwell.J. N. 2010. Induction of antimicrobial activities in heterologous streptomycetes using alleles of the Streptomyces coelicolor gene absA.The Journal of Antibiotics. Pp: 1–6 Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.

Meklat A;Bouras N; i Zitouni A; Mathieu F; Lebrihi A; Schumann P;Spro¨er C; Klenk H; Sabaou N (.2012). Actinopolyspora algeriensis sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil.773p.

Meklat A. (2012). Taxonomie et potentiel antagoniste des actinomycètes halophiles des solssahariens et mise en évidence de nouvelles espèces d'Actinopolyspora. Thèse de Doctorat à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie. 162 p.

Mesoudi O,2013.Contributions à la caractérisation de souches d'actinomycètes productrices des métabolites antibactériens isolées de la sebkha de knadessa (BECHAR), Université Abou BakrBelkaid, Tlemcen. 84 p.

Miller D.B.1982.Neurotoxicity of the pesticidalcarbanates.Neurobehavioral Toxicology and Tetratology,4,779-787p.

Monciardini P., Cavaletti L., Schumann P .,Rohde M., Et Donadio S.(2003). ConexibacterWoeseigensp. A novel representative of a deep evolutionary line of descentwithin the claddActinobacteria.International journal of SystimaticEvolutionary Microbiology, 53(2), 3-10p.

Mythili.B and Ayyappa Das. M. A. 2011. Studies on Antimicrobial Activity of Streptomyces spp. Isolates from Tea Plantation Soil.Research Journal of Agricultural Sciences.Vol: 2. N°: 1. 104106p.

Référence bibliographique

Newman D.J. and Cragg M.G (2007). -Natural products as sources of new drugs over the last 25years. J. Nat. Prod., 70, 461-477p.

Ng. Z. Yand Amsaveni. S. 2012. Isolation, Screening and Characterization of Antibiotic-Producing Actinomycetes from Rhizosphere Region of Different Plants from a Farm of Sungai RamalLuar, Malaysia.Journal of Advanced Biomedical & Pathobiology Vol: 2 N°: 3. 96-107 p.

Nouioui, I.,2014 phylogénie et évolution de genre frankia diplôme de doctorat université CLOUDE BERNARD LYON .

Nouredine. L. 2006. Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, Saccharothrix algeriensis. Thèse de Doctorat -Université de TiziOuzou -Algérie. 186p.Of the Actinomycetaceae and related taxa.Journal of General Microbioogyl,127(2),237-259.

O'Gara. F. Dowling. D. N, Boesten. B. 2008. Molecular Ecology of RhizosphereMicroorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs. John Wiley & Sons:Weinheim. 192p.

Omura S., and TANAKA y.(1990). Metabolismandproducts of Actinomycetes an introduction .Actinomycetologica,4(1), 13-14.

Ortiz-Ortiz, BOJAALIIF.YAKOLEFFV. 1984. Biological, biochemical, and biomedical aspects of actinomycetes. Academic press, Ihc, New York.

Oskay M., TAMER A. U., AZERIC. 2004. Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of turkey. African journal of biotechnology, Vol.3 (9).441 –446p.

Ouhdouch. Y. 2003. Aperçu bibliographique sur la taxonomie des actinomycètes. Premier atelier national du réseau NAFRINET-MAROC.18-70p.

Parthasarathi S., Kim C.J., Lee J.C.,Sathya S., Manikandan M., Manikandan T. and BalakriShnan,K. (2011). –Taxonomic characterization and UV/VIS analysis of antagonistic marineactinomycete isolated from South Pacific Coast of Philippines. Int. J. Med. Res., 1, 99-105p.

Petrosyan P, Garcia-Varela M, Luz-Madrigal A, Huitron C, Flores ME.(2003 Jan). Streptomyces mexican sp . nov., a xylanolytic micro
-organisme isolated from soil. Int J Syst Evol Microbiol.;53(pt1):269_73.

Prakash.A .Satyanarayana. T, ,Johri. B. N. 2012. Microorganisms in Environmental Management.Springer. .819p.

Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A. 2010. Microbiologie. De Boeck : Bruxelles.2eme édition 1088p.

Promnuan Y., Kudo T., Ohkuma M. and Chantawannakul P. (2011).
Actinomadura apis sp. nov., isolated from a honey bee (Apis mellifera). hive, and the reclassification of Actinomadura cremea subsp. Rifamycini .

Reghioua. S. Boughachiche . F. Oulmi. L. Zerizer. H. Kitouni. M. Boudemagh. A. Boulahfrouf. A. 2008. Separation et caracterisationpreliminaire d'antibiotiques produits par une souche representatived‟actinomycetes isoles de sol aride de la region de Biskra. Sciences &Technologie. N°28..59-64p.

Rickes E.L., BRINK N.G., Koniuszy F.R., Wood T.R., WOOD T.R., FOLKers K. (1948). Crystalline vitamin B12.Science. 107(2781),396-397p.

Rothrock.C; and Gottlieb.D. (1981). -Importance of antibiotic production in antagonism ofselected Streptomyces species to two soil-borne plant pathogens.
The Journal of Antibiotics,34 (7), 830-835p.

Saker R. 2015. Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes .por obtention de diplôme doctorat.UniversitéFerhat Abbes.

Sanchez S.,Demain A. L. (2002). Metabolic regulation of fermentation processes. Enzymes**Sanglier J.J, Haag T.A., Huck T.A. and Fehr T. (1993).**Review of actinomycetescompounds 1990-1995. Exp. Opin. Invest. Drugs, 5, 207-223p.

Santhanam R., Okoro C.K., Rong X., Huang Y., Bull A.T., Andrews, B.A., Asenjo, J.A., Weon, H.Y. and Goodfellow, M. (2012). Streptomyces deserti sp. nov., isolated from hyper-arid Atacama Desert soil. Antonie van Leeuwenhoek, 101, 575–581p.

Sharma. D, Kaur. T, Chadha. BS & Manhas. R. K. 2011. Antimicrobial Activity ofActinomycetes Against Multidrug Resistant Staphylococcus aureus, E. coli and VariousOther Pathogens. Tropical Journal of Pharmaceutical Research December. Vol 10. N°: 6.801-808p.

Sibanda.T, Leonard. V. Mabinya. L. V, Mazomba. N, Akinpelu. D. A, Bernard.K, Olaniran. A. O, and Okoh. A. I. 2010. Antibiotic Producing Potentials of ThreeFreshwater Actinomycetes Isolated from the Eastern Cape Province of South Africa. Int JMol Sci. Vol : 11. N° 7. 2612–2623p.

Silini S, (2012). Contribution à l'étude de la biodégradation de la méthyl éthylcétone en réacteur batch par les actinomycètes isolés àpartir des boues activées de la station d'épuration d'ElAtmania. Thèse de Magister en écologie option : Gestion des déchets : évaluation et solution environnementales. Université Mentouri -Constantine. 101p.

Smaoui. S. 2010. Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir demicroorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat : Institut NationalPolytechnique de Toulouse (INP Toulouse). 207p.

Solecka J.,Zajko J., postek M.and Rajnisz A.(2012).Biologically active secondary metabolites fromactinomycetes.Central Eauropean Journalof biology 7.373-390p

.**StaneckJ.**L.,and robertsG.D.(1974).simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thinlayerchromatography.journal of applied microbiology,28,226-231p.

Référence bibliographique

TanakaA, Y., OMURA.S. 1990. Metabolism and products of actinomycetes-an introduction.actinomycetologica, 4(1), 13, 14p.

Thakur D., Yadav A., Gogoi B.K, and Bora T.S. (2007).Isolation and screeningStreptomyces in soil from areas from the states of Assam and Tripura, India, forantimicrobial metabolites. J. Med Microbiol., 17, 242-249p.

Theilleuxj.O, 1993. Les actinomycètes inmicrobiologie industrielle: les microorganismes d'intérêt industriel, Leveau.J.Y et MOUIX M. Lavoisier Tech et doc, Apria,V 612, 425p.

VijayakumarR; Muthukumar.C; Thajuddin.N; Panneerselvam.A; and Saravanamuthu.R. (2007).-Studies on the diversity of actinomycetes in the Palk Strait region of Bay of Bengal, India.Actinomycetologica, 21 (2), 59-65p.

Williams P.G. (2009).-Panning for chemical gold:marine bacteria as a source of new therapeutics.TrendsBiotechnol.,27, 45-52p.

Xiao K., Kinkel L.L., and samac D.A.(2002).Biological control of phytophtora root rots on alfalfa and soybean with Streptomyces. Biological Control, 23(3), 285-295p.

Zenova G. M., Manucharova N. A. and Zvyagintsev D. G. (2011). -Extremophilic and extremotolerant actinomycetes in different soil types. Soil. Biol., 44: 417-436p.

zhe Lang, 2018 Dan Qi, Jianjiang Dong, LiweiRen, Qifa Zhu, Weiwei Huang, Yongmin Liu, Diannan Lu, Isolation and characterization of a quinclorac-degrading Actinobacteria Streptomyces sp. strain AH-B and its implication on microecology in contaminatedsoil journale NCBI .

.Zitouni. A.(2005). -Taxonomie et antibiotiques des Saccharothrix et des Nocardiopsis des sols sahariens et nouvelles molécules bioactives sécrétées par Saccharothrix sp SA 103. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, (Algérie).230p .

Référence bibliographique

Zouaghi A., 2007-Optimisation de la production del'Oxytétracycline par Streptomyces rimosus. Diplôme National d'Ingénieur. Université 7 Novembre de Carthage : 12p.

Sites web

https://fr.wikipedia.org/wiki/Source_thermale) 2018.

Annexes

ANNEXES 01

- **Le milieu bennett** : extrait de levure : 1g, extrait de viande:1g, peptone pancréatique de caséine : 2g, glucose : 10g, agar : 15g, l'eau distillé : 1000ml, (ph=7,3).
- **Le milieu ISP4** : amidon : 10g, K_2HPO_4 : 1g, $MgSO_4$: 1g, NaCl : 1g, $(NH_4)_2SO_4$: 2g, $CaCO_3$:2g, agar : 20g.
- **Le milieu CAA** : Amidon : 10g, caséine : 0.3g, KNO_3 :2g, K_2HPO_4 :2g, NaCl : 2g, $MgSO_4.7H_2O$: 0.05 g, $CaCO_3$:0.02g, $FeSO_4$. $7H_2$ 0 :01g, Agar : 18g, eau distillée : 1000 ml, (pH =7,3).

- **Le milieu gélose nutritive (GN) :** Peptone : 5g , Extrait de levure : 2g , Extrait de viande : 1g , NaCl : 5g , Agar : 15g , Eau Distillée q.s.p 1000ml , (pH =7,3).

- **Mueller Hinton** : Infusion de viande de bœuf : 2 g, Amidon : 15 g
, Hydrolysat de caséine : 17,5g, Agar : 17 g, Eau distillée : 1000 ml
, (pH =7,3).
- **Dégradation de l'amidon** (Marchal et Bourdon, 1987)

10 g d'amidon dans 100 ml de gélose nutritive. Une solution de Lugol permet de mettre en évidence la dégradation de l'amidon.

- **Dégradation de la gélatine** (Marchal et Bourdon,1987)(modifiée)4 g de gélatine dans 100 ml de gélose nutritive.
- **Dégradation de la caséine du lait** (Gordon et al. 1974)

10 g de lait en poudre écrémé sont dissous dans 100 ml d'eau distillée (pH 7,5), puis stérilisés àl'autoclave. 100 ml d'eau distillée (pH 7,5) contenant 3,6 g d'agar sont parallèlement autoclavés.Ces deux solutions sont mélangées aseptiquement puis coulées en boîtes de Pétri stériles. L'apparition d'une auréole claire autour des colonies Indique la dégradation de la caséine.

- **Coloration de Gram**

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de cristal; il est En suite rincé rapidement à l'eau distillée, traité pendant une minute par une solution de Lugol, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration En le traitant avec l'éthanol 95%. Il s'agit de l'étape critique: la lame est maintenue inclinée et en fait couler le solvant sur le frottis pendant 15 à 30 secondes

seulement Jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau distillée. À ce stade les cellules Gram-seront incolores, les Cellules Gram+ violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 10 à 30 secondes à la fushine(ou safranine) pour colorer les cellules Gram-présentes. Après un bref rinçage à l'eau distillée, on sèche le frottis au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen et on l'examine à l'objectif (X 100) à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé Tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge **(Delarras, 2007).**