



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR- KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : SCIENCES Biologie moléculaire et cellulaire

OPTION : Microbiologie générale

Thème

*Aptitudes enzymatiques et activités
antimicrobiennes d'une collection de souches
actinomycétales*

Présenté par :

AZIZI Amira

BOUALI Djamila

Soutenu le: 05/06/2016

Jury des soutenances :

Président : BOUAKKAZ A.

Maître assistant A Université Abbes Laghrou

Promoteur: BENSOUICI K.

Maître assistant A Université Abbes Laghrou

Examineur : HALLASSI I.

Maître assistant A Université Abbes Laghrou

Promotion : 2015/2016

Remerciements

Avant toute chose, on tient à remercier « Allah » qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce travail.

*Nous tenons à exprimer en premier, notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à Madame **BENSOUCI KARIMA**, pour ses encouragements, ses fructueuses conseils, son aide précieuse dans la réalisation de ce travail. Nous remercions*

*Mme **BOUAKKAZ Amel**, maitre-assistant A l'Université **ABBES LAGHROUR-KHENCHELA**, pour nous faire l'honneur de présider le jury de soutenance, ainsi que Mme **HALLASSI I**, maitre-assistant A à l'université **ABBES LAGHROUR** d'avoir accepté d'examiner notre mémoire. Nous aimerons également remercier tout l'ensemble des professeurs de la spécialité et tous les enseignements du département de la Biologie qui nous ont enseigné pendant notre formation.*

AŹOŹOŹA

Remerciements

*Nous tenons à exprimer en premier , notre
profonde gratitude et nos vifs remerciements à
Madame BENSOUICI KARIMA, pour ses
encouragements, ses fructueux conseils, son aide
précieuse dans la réalisation de ce travail. Nous
remercions Mme BOUAKKAZ Amel, maitre assistant A à
l'université ABBES LAGHROUR -KHENCHELA, pour
nous faire l'honneur de présider le jury de soutenance, ainsi
que Mme Hallassi I, maitre assistant A à l'université ABBES
LAGHROUR d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.*

*Nous aimerons également remercier tout l'ensemble des
professeurs de la spécialité et tous les enseignements du
département de la Biologie qui nous ont enseigné pendant
notre formation.*

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes parents

Toute ma famille

*Toute la promotion master biologie
(2016).*

*Tous les enseignements du département
de*

*La Biologie qui nous a enseigné
pendant notre formation.*

Surtout

Darbouche Ab delhak

Azizi amira





Dédicaces

je remercie avant tout « Allah »

Je dédie l'apanage de cet écrit aux personnes les plus chères à mon cœur et la lumière de mon âme, mes parents, que je profite pour les remercier pour tout : ma mère et mon père

A mon mari et à ma très chère fille Rawane

A mes deux chers frères Madani et Yassine

A mes chères sœurs Malika, Wahiba,

Rabaa et surtout Ghania

A mes amies et surtout Amira, Liela, Samira et Malika

A mes enseignants qui m'ont éclairée la route du savoir



DJAMILA

Introduction

Introduction

Les actinomycètes sont des organismes procaryotes, classés parmi les bactéries. Elles sont incluses dans l'ordre des actinomycétales défini dans la huitième édition du manuel de Bergey comme regroupant des bactéries à Gram positif qui tendent à former des filaments ramifiés. Ces bactéries constituent une part importante de la microflore tellurique. Elles sont retrouvées dans l'air, les eaux, le fumier, les composts, le foin, les pailles, les grains de céréales, les résidus fibreux de cannes à sucre et le pollen des plantes. Généralement neutrophiles, elles peuvent cependant être présentes dans certains sols très acides, dans les déserts chauds et secs de divers continents, dans les lacs extrêmement alcalins ainsi que dans certains milieux très salés. Nombre d'entre elles ont un rôle très important dans le secteur pharmaceutique par la production de substances intéressantes telles que les antibiotiques, les vitamines, des substances antihistaminiques, vasodilatatrices ou immunostimulante et des enzymes utilisées dans les industries.

La production de nouvelles molécules bioactives est actuellement une préoccupation majeure et primordiale à cause de la prolifération de microorganismes pathogènes ayant développés une résistance aux molécules utilisées actuellement. Dans ce contexte les actinomycètes aujourd'hui nommés actinobactéries, sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que producteurs d'antibiotiques. On estime que les deux tiers des quelque six mille antibiotiques isolés jusqu'ici sont produits par les actinomycètes, dont un nombre appréciable a trouvé une application thérapeutique.

Pour ces raisons, nous avons voulu tester l'activité antibactérienne et antifongique d'une collection d'actinomycètes isolée des échantillons de sol Saharien de la région d'El-oued. Cet écosystème est très rude et très mal exploré pour sa diversité microbienne et surtout en actinomycètes. Cette zone a montré dans des travaux antécédents, une biodiversité surprenante d'actinomycètes (**Kitouni *et al.*, 2005 ; Boudemagh *et al.*, 2005**).

La première partie de ce mémoire est une synthèse bibliographique : le premier chapitre représente une description générale des actinomycètes. Le deuxième chapitre est consacré aux antibiotiques.

La partie matériel et méthodes décrit l'ensemble du matériel biologique et les techniques utilisées lors des manipulations effectuées.

Les résultats sont présentés dans la troisième partie de ce mémoire accompagnés d'une discussion de ces résultats.

Introduction

La conclusion générale sur le travail clôture ce manuscrit et met en évidence les perspectives de recherche.

1. Définition et propriétés générales des actinomycètes

Les actinomycètes, sont des bactéries Gram positif, aérobies, qui forment des filaments ramifiés ou hyphes et des spores asexuées (**Prescott et al ., 2003**). La composition en guanine et cytosine (GC%) de la majorité des espèces affiliées à ce groupe se situent entre 63 et 78 % seuil supérieur connu pour les bactéries. Les bactéries associées au groupe des actinomycètes filamenteux sont toutes très proches du point de vue phylogénétique. (**Michael et al., 2007**).

La croissance de ces bactéries est lente avec un temps de génération de 2 à 3 heures, ils croissent en l'espace de quelques jours à quelques semaines (**Boudemagh, 2007**). Les actinomycètes forment des colonies circulaires constituées d'hyphes, c'est-à-dire de filaments qui irradient par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Gottlieb, 1973**). Cela explique leur dénomination qui provient de deux substantifs grecs «aktino» et «mycetes» qui signifie «champignons à rayons» ou «champignons rayonnant» (**Belyagoubi , 2014**). De nombreux actinomycètes ont également un mycélium aérien qui se dresse au-dessus du substrat et qui forme à l'extrémité des filaments des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores. Les actinomycètes pour la plupart ne sont pas mobiles. Lorsqu'il y a mobilité, elle est limitée aux spores flagellées (**Prescott et al.,2003**).

La reproduction des actinomycètes peut s'opérer suivant trois modes, la fragmentation pseudo bactérienne, la production de conidies et la production de sporanges (**Andriambololona , 2010**). Les actinomycètes sont un peu intermédiaires entre les champignons et les bactéries. Les champignons ont l'aspect filamenteux et la capacité de sécréter des antibiotiques ; les bactéries ont la possibilité d'effectuer de très nombreuses réactions biochimiques (**Sobti, 2013**).

2. Ecologie

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires que l'on rencontre sur tous les substrats naturels (**Larpen et Sanglier, 1989**). La grande majorité est d'origine tellurique et c'est à partir du sol que ces bactéries peuvent coloniser de nombreux biotopes (air, composts, eau, fourrages, fumiers, grains, canne à sucre, etc. (**Tab. 1**). Ils sont présents dans des zones géographiques variées : l'extrême nord, l'arctique, les tropiques, les plus hauts sommets des montagnes et les déserts

Tableau 1 Habitats de certains actinomycètes (**Grigorova et Norris, 1990**).

Actinomycètes	Habitats
<i>Actinoplanes</i>	L'eau douce, la litière végétale, le sol.
<i>Frankia</i>	Les nodules racinaires des non-légumineuses.
<i>Micromonospora</i>	L'eau douce, les sédiments, les sols humides.
<i>Nocardiaamarae</i>	Les boues activées.
<i>Rhodococcuscoprophilus</i>	Les déjections animales, l'eau, le sol.
<i>Saccharopolysporarectivirgula</i>	Moisi du foin.
<i>Streptomyces</i>	Le sol, la litière végétale, l'eau.
<i>Thermoactinomyces</i>	Le compost.

Dans le sol, les actinomycètes représentent 10 à 20% de la population microbienne totale (Chorine, 2009) où elles jouent un rôle majeur dans la décomposition des matières organiques ils sont présents dans les milieux aquatiques douces et marines tel que les genres *Actinoplanes* et *Micromonospora* (Gérard, 2010) aussi les sources d'eau chaude (Jadoon *et al.*, 2014).

Des actinomycètes ont été isolé à partir d'habitat variés tels que les champs cultivés, les pâturages, les forêts, les rizières, les feuilles fraîches, les résidus végétaux, les sédiments marins ou des lacs, les mangroves ou encore les étangs (Chorine, 2009) et les fruits de tomate, de concombre et de haricot saines. (Rakotoarimanga *et al.*, 2014). Certaines espèces ont été isolées à partir des milieux extrêmes : des sols pollués contenant des métaux, des hydrocarbures ou du pétrole, des sols issues des milieux climatiques extrêmes, désertiques ou glacières et de milieux hyper-salés (Chorine, 2009). Les actinomycètes se rencontrent également sur les débris des végétaux qu'on les retrouve au bord des rivières, des lacs et les champs de riz et les cavernes naturelles, beaucoup sont capables de sporuler ce qui leur permet de survivre en conditions défavorables tel que la salinité (Djaballah, 2010)

3. Morphologie

La morphologie des actinomycètes ressemble fortement à celle des mycètes. Toutefois, le diamètre des hyphes, habituellement de 0,5 à 1 µm, est deux à dix fois plus petit que celui des champignons (de 2 à 5 µm) (Belyagoubi, 2014). Le mycélium de ces bactéries présente une grande diversité morphologique. On rencontre des espèces dont le mycélium est rudimentaire au point d'être inexistant (la plupart des *Mycobacterium*), d'autres au mycélium fugace qui se

fragmente (comme certaines *Nocardia*) et enfin des espèces au mycélium développé et persistant comme dans le genre *Streptomyces*. Le mycélium fragmentaire et permanent sont illustrés sur la figure 1. Le mycélium permanent peut être organisé en mycélium végétatif (appelé aussi mycélium de substrat ou mycélium de base) et/ou en mycélium aérien. (Djaballah, 2010). Les spores peuvent, selon les genres, être produites isolément (*Micrmonospora*), deux à deux longitudinalement (*Microbispora*), en courtes chaînes (*Actinomadura*), en longues chaînettes (*Streptomyces*). Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales (figure 2)

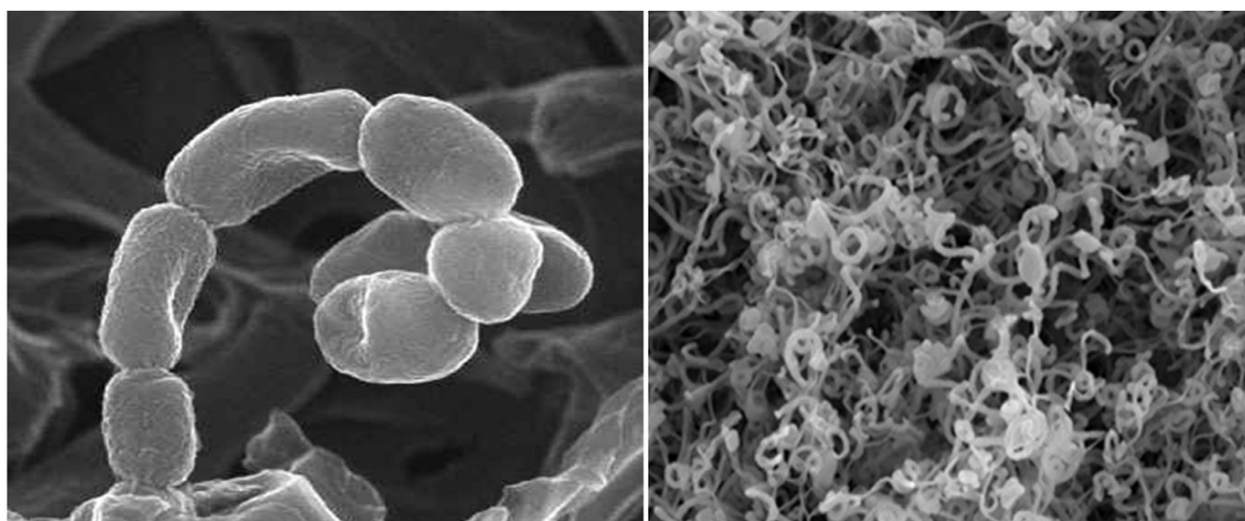
(A) *Streptomyces*(B) *Nocardia*

Figure 1: Observation par microscopie électronique à balayage des types fragmentaires et permanent du mycélium des actinomycètes. (B) Bactéries du genre *Nocardia* qui se fragmentent (A) Bactéries du genre *Streptomyces* en sporulation. Barre d'échelle : 1 μ m. (Belyagoub, 2014).

. De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores (Aouar, 2012). Les colonies qu'ils forment sur milieux solides sont caractéristiques, elles résultent de l'accumulation des hyphes ramifiés et non pas des cellules comme c'est le cas chez les bactéries non filamenteuses. Le diamètre des colonies est de 1 à 4 millimètres. L'aspect des colonies est compact, sec, lisse ou rugueux en chou-fleur à contours lisse ou échancré. Elles sont très souvent pigmentées en blanc, crème, jaune, violet, rose, gris, etc. (Boudemagh, 2007).

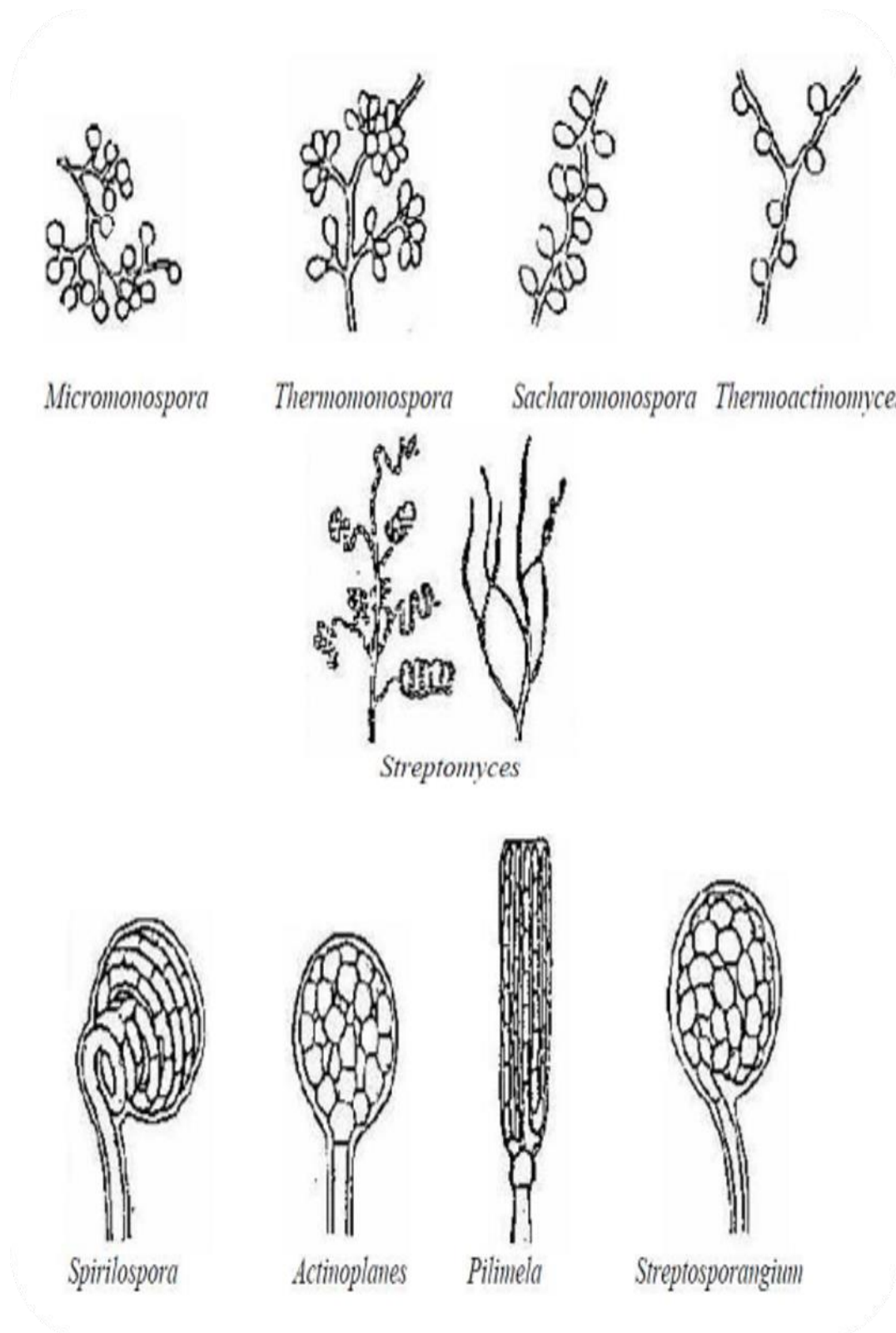


Figure 2 : Différentes chaînes de spores chez les actinomycètes ; spores endogènes et spores exogènes (Breton *et al.*, 1989)

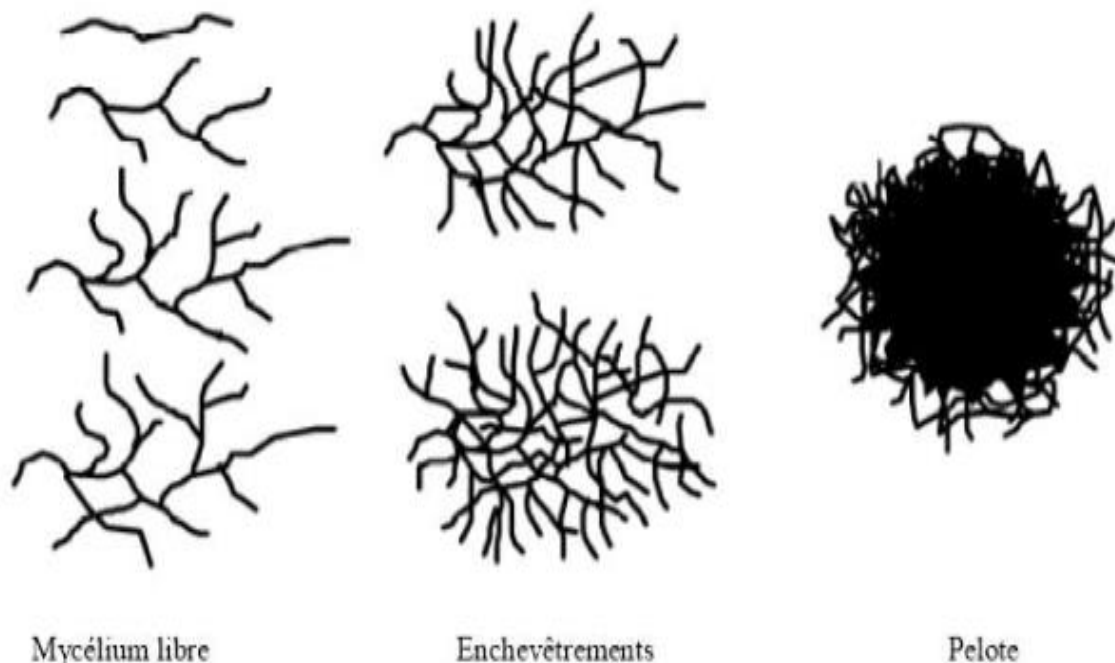


Figure 3 : Les classes morphologiques de *Streptomyces* cultivé en milieu liquide (Amanullahet al., 2000).

4. Cycle de développement des actinomycètes (exemple type : *Streptomyces* spp)

Le cycle de développement des *Streptomyces* débute par la germination d'une spore donnant naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes non spitées et pluri nucléés, ramifié et ancré dans le milieu solide sur ce mycélium primaire, se développera ensuite un mycélium aérien (Flardh et Bruttner, 2009). A l'extrémité du mycélium aérien se forme des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores (fig.4). Ces spores naissent par sputation du mycélium primaire. Habituellement en réponse à un stress d'environnement (manque de nutriment). Si les spores sont localisées dans des sporanges, on les appelle des sporangiospores. Généralement ces spores ne sont pas résistantes à la chaleur mais résistent bien à la dessiccation et ont de ce fait une importante valeur adaptative, les actinomycètes sont immobiles, excepte pour les spores de certains genres (*Actinoplan*, *Spirillospora*...etc) (Prescott et al.,2010).

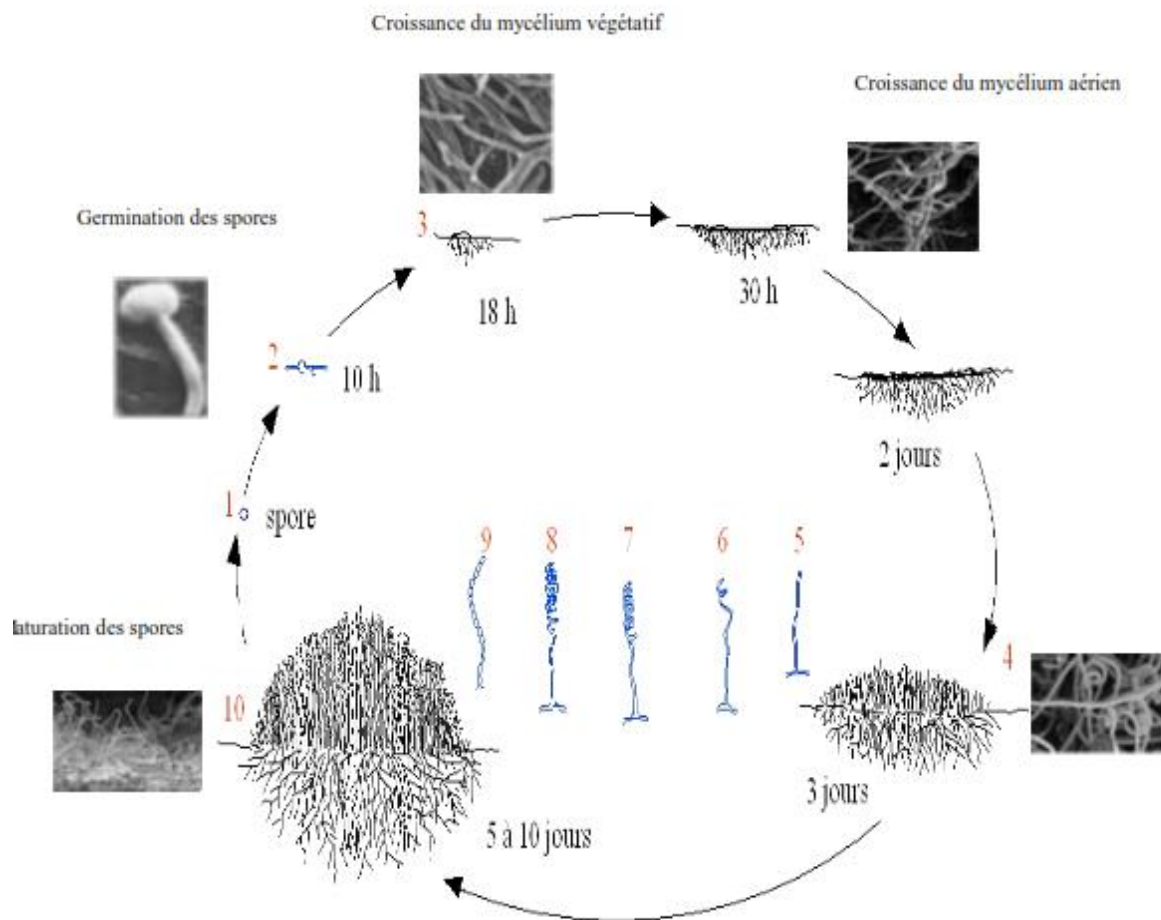


Figure 4 : Étapes de développement et structures d'une colonie d'actinomycètes (genre *Streptomyces*) sur milieu solide (**Hopwood et al., 2011**), 1: spore, 2: tube germinale, 3: mycélium végétatif, 4: colonie jeune, 5: mycélium aérien, 6: sporophore, 7: sporulation, 8 et 9: maturation des spores, 10: colonie mature

5. Physiologie

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

5.1. Le taux d'humidité

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

5.2 La température

La température optimale de croissance est entre 25 à 30°C mais les espèces thermophiles peuvent croître à des températures 55 à 65°C (**Rangaswami et al., 2004**).

5.3 Le pH

La plupart des actinomycètes de sol sont neutrophiles et croissent dans un intervalle de pH y compris 5 à 9 avec une croissance optimale à un ph neutre ou légèrement alcalin (**Lee et Hwang , 2002**). Des travaux ont montré l'existence d'une large diversité d'actinomycètes acidophiles qui diffèrent morphologiquement et physiologiquement des actinomycètes neutrophiles (**Basilio, 2003**). Les souches acidophiles croissent à des valeurs de ph comprises 3,5 à 6,5 avec un ph optimale de croissance compris entre 4,5 à 5,5 tel *Streptacidiphilus jiangxiensis* (**Huang et al., 2004**) et *Streptacidiphilus oryzae* (**Wang et al., 2006**).

5.4. Le rapports avec l'oxygène

Les actinomycètes du sol sont généralement aérobies mais certains genres peuvent être anaérobie facultatifs voir même anaérobie stricts comme est le cas du genre *Actinomyces* (**Djaballah, 2010**).

5. 5. La Matière organique

En 1986 **Henis** a montré que le nombre des actinomycètes est corrélé positivement avec le taux la matière organique, quel que soit le taux de la salinité du sol (**Lee et Hwang, 2002**).

5.6 Tolérance en NaCl

Selon leurs exigences en NaCl, les microorganismes sont divisés en deux groupes :

Les halophiles ont besoin de sel (NaCl) pour leurs croissances. Cette concentration peut varier de 1 à 6 % (p/v) pour les actinomycètes faiblement halophiles jusqu'à 15 à 30 % pour les bactéries halophiles extrêmes, les halotolérants acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leur croissances (Nanjani, 2011).

6 Principaux domaines d'utilisation des actinobactéries

OOH6.1. La production d'enzymes

Dans leur environnement naturel, les actinomycètes sont des bactéries saprophytes, ils participent à la dégradation par la production d'enzymes extracellulaires de la matière organique, donc au recyclage des biopolymères complexes comme la cellulose, la lignine, la lignocellulose, la kératine, la chitine, la pectine et le xylène (Zerizer, 2014). Les actinomycètes synthétisent des chitinases, des glucanases, des peroxydases (Tokala *et al.*, 2002) et des glutaminases (Divya Teja *et al.*, 2014). Des espèces de *Streptomyces* produisent des amylases, des cellulases et des hémi-cellulases. D'autres sont capables de dégrader la lignine. *Streptosporangium* sp. isolé à partir des feuilles de maïs produit des glucoamylases exploitées en industrie afin de dégrader l'amidon (Hasegawa *et al.*, 2006). Les actinomycètes produisent aussi de multiples protéases (Patke et Dey, 1989) qui peuvent ensuite trouver des applications dans l'industrie alimentaire ou l'industrie des détergents (Moreira *et al.*, 2002). En outre, les enzymes issues d'actinomycètes sont aussi utilisées dans les procédés de bioconversion. Enfin, de part leur capacité à dégrader de nombreux xénobiotiques comme les nitriles (Martinkova et Milerova, 2003). Les dioxines (Iida *et al.*, 2009) ou encore les composés halogénés (Janssen *et al.*, 2005), les actinomycètes suscitent l'intérêt pour leur usage dans la décontamination des sols pollués (Martinkova *et al.*, 2008).

6.2. Production d'antibiotiques

Les antibiotiques décrits dans la littérature se répartissent en fonction du type d'organisme producteur de la façon suivante

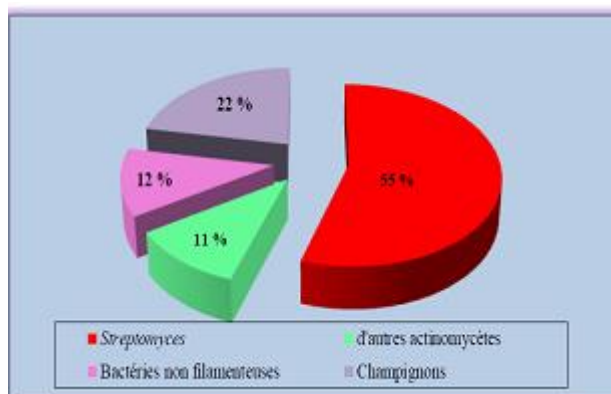


Figure 5 : Répartition de production des antibiotiques entre les actinomycètes, les champignons, et d'autres bactéries non filamenteuses (**Berdy, 2005**)

Les actinomycètes sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que producteurs d'antibiotiques (**Berdy, 2005**). Elles produisent approximativement 2/3 de ces biomolécules (**Bulter et al., 2002**). De nombreuses actinobactéries du sol synthétisent des substances antimicrobiennes, celles-ci montrent un rôle antagoniste élevé. 75% et 60% des antibiotiques produits par les actinomycètes sont utilisés respectivement en médecine et en agriculture (**Riedlinger et al., 2006 ; Ben Ameer et al., 2006**). Les espèces appartenant au genre *Streptomyces* constituent 50% de la population totale des actinomycètes telluriques, et 75-80% des antibiotiques dérivent de ce genre (**Mellouli et al., 2003**). Les antibiotiques produits par *Streptomyces* montrent une grande diversité au niveau de leur structure et de leurs cibles cellulaires (**Thomson et al., 2004**). D'autre part, *S. viridochromogenes* et *S. hygroscopus* synthétisent le tri-peptide phosphinothricine qui possède des propriétés bactéricides, fongicides et herbicides (**Schwartz et al., 2004**). La staurosporine (*Streptomyces* sp. TP-A0274 et *Lechevalieria staurosporeus*) et la rébéccamycine (*L. aerocolonigenes* ATCC 39243) sont des antibiotiques anti-tumoraux (**Onaka, 2006**). *S. fungicidicus* produit l'enduracidine ayant une activité bactéricide considérable contre les streptocoques multi-résistants et les bactéries à Gram positif. D'un autre côté, *S. rochei* sbsp. *volubilis*, T-2636 accumule la sédécamycine qui inhibe fortement la croissance de *Staphylococcus aureus* (**Higashide, 1995**). De plus, *Streptomyces* est la source la plus importante de métabolites secondaires présentant une activité biologique d'intérêt pour la santé humaine et animale : antibactérienne (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol), antifongique (nystatine), antivirale (tunicamycine), antiparasitaire (ivermectine), immunosuppressive (rapamycine), antitumorale (actinomycine, mitomycineC, anthracyclines), inhibiteur d'enzyme (acide clavulanique) (**Demain, 2000**) (tab 02).

Tableau 2 : Exemples d'antibiotiques produits par des actinomycètes (**Boucheffa, 2011**)

structurales Principales classes d'antibiotiques	Exemples d'antibiotiques
-Macrolides	-Spiramycine -Tylosine
-Peptides	-Actinomycine -Pristinamycine
-Tétracyclines	-Chlorotétracycline -Oxytétracycline
-Divers	- Chloramphénicol

En outre, *Nocardiosis* sp. VITSVK 5(FJ973467) a une activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* et *A. niger* par comparaison à l'amphotéricine-B. De plus, il est actif vis-à-vis *Candida cruzi*, *C. tropicalis* et *C. albicans* par comparaison à la streptomycine (Vimal *et al.*, 2009).

Plusieurs travaux relativement récents, montrent la capacité des actinomycètes telluriques à produire les antibiotiques, nous citons par exemple quelque uns :

Les études menées par **Badji *et al.*, (2006)** visant à isoler des actinomycètes rares producteurs d'antifongiques non-polyéniques à partir d'un sol saharien, plusieurs actinomycètes ont été sélectionnés. Un actinomycète nommé AC104 a été isolé à partir du milieu « chitine – vitamines B » additionné de rifampicine. Cet isolat présente une très forte activité antimicrobienne vis-à-vis de champignons filamenteux et de bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Sur la base de ses caractéristiques morphologiques et chimiques, l'isolat a été rattaché au genre *Actinomadura*. Les études physiologiques comportant 76 tests et l'analyse de la séquence de l'ADNr 16S ont montré que l'isolat AC104 est assez différent des espèces connues d'*Actinomadura* et pourrait ainsi être original. La production d'antibiotiques a été testée sur plusieurs milieux de culture, le meilleur étant le milieu ISP2. Cinq zones actives ont été localisées par bio-autographie. Parmi ces antibiotiques, le complexe nommé 104A qui a présenté la plus forte activité antifongique. Ce produit a été purifié par HPLC en phase inverse, il s'est avéré être composé de quatre molécules différentes. Les études spectroscopiques, notamment l'UV-visible, l'infrarouge, la spectrométrie de masse et la RMN protonique, ont permis de

constater que ces molécules contiennent un noyau aromatique para di-substitué par des chaînes aliphatiques. Ces composés sont différents de ceux synthétisés par les espèces du genre *Actinomadura* et semblent être des molécules nouvelles.

En 2012 **Boussaber** a isolé des souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques, à partir de trois écosystèmes marocains différents. vingt-neuf souches d'actinomycètes ont été isolées sur trois milieux de culture choisis en fonction des données de la littérature (Olson, Bennett et GLM), à partir d'échantillons de sol prélevés de forêt, de dunes phosphatées et de décharge de poterie. L'activité antifongique des souches d'actinomycètes isolées a été mise en évidence sur milieu de culture Bennett par deux techniques de diffusion sur gélose. Parmi les 29 souches d'actinomycètes isolées, 25 soit 86.20 % ont montré une activité antifongique vis-à-vis d'au moins un champignon étudié. Les extraits des trois actinomycètes représentatifs ont montré une activité inhibitrice intéressante, surtout la souche SP13' qui s'est révélée plus efficace et présente une intense activité antifongique.

Jihani (2013) a isolé vingt souches d'actinomycètes à partir d'échantillons de sol et de bois prélevés à partir d'une vieille maison dans l'ancienne médina de Fès et d'échantillons de sol prélevés de la région de Moulay Yacoub et des rives d'Oued Sebbou. L'activité antimicrobienne réalisée par la technique des cylindres d'agar et celle des stries croisées, a été déterminée contre des bactéries à Gram positif (*Bacillus subtilis* 5262, *Bacillus cereus* cip 14579, *Staphylococcus aureus* 7625, *Staphylococcus epidermidis* 6821), des bactéries à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* 76110, *E. coli* 7624) et la levure *Candida albicans*. Parmi les vingt isolats, douze (60 %) ont montré une activité contre au moins une des souches tests. Par ailleurs, l'analyse moléculaire des vingt isolats par amplification et séquençage partiel du gène de l'ARNr 16S a permis d'attribuer dix-huit isolats au genre *Streptomyces* et deux aux genres *Saccharothrix* et *Lentzea*. Cinq isolats à savoir (Sj32, Sj33, Sj38, Sj68 et Sj69) ont été décrites particulièrement intéressantes. Les substances bioactives produites par les cinq souches d'actinomycètes sont extraites par des solvants organiques et les molécules produites sont purifiées par HPLC. Une étude de la stabilité de l'activité antibactérienne en fonction de la température et de la protéinase K a montré que les substances bioactives seraient de nature non protéique pour Sj32, Sj33, Sj68 et Sj69 et protéique pour Sj38. La fraction active de la souche Sj32 a été démontrée active contre les cellules MRC-5 et présente une forte cytotoxicité. Enfin, l'étude de l'effet de la fraction active de la souche Sj32 sur la transcription et la traduction bactérienne in vitro, a montré que cette substance purifiée n'inhibe pas ces deux processus biologiques.

En 2014 **Wahabi** a isolé 26 souches d'actinomycètes à partir d'échantillons de sol et d'écorces d'arbres prélevés d'écosystèmes différents (sol de champ à Sousse, sol de sable avec végétation et sol de dune à Douz). Leur identification a été réalisée en se basant sur leurs caractères macroscopiques et microscopiques. L'activité antimicrobienne a été effectuée contre deux bactéries à Gram positives et trois bactéries à Gram négatives. Elle a été réalisée par trois techniques qui se basent sur le principe de diffusion qui sont la technique du cylindre d'agar, la technique des disques et la technique des puits. Parmi les 26 souches isolées, 21 souches (80.64%) ont montré une activité contre au moins une bactérie-test étudiée dont 38% ont présenté une forte action antibactérienne. Ces derniers ont comme cible majoritaire les bactéries à Gram positives.

6. 3. Production de l'acide indole acétique (AIA)

Les phytohormones sont des auxines, des gibbérellines ou de l'éthylène (**Ahmad et al., 2005**). Parmi les auxines, l'acide indole acétique (AIA) occupe une place de choix. Il est issu du métabolisme du L-tryptophane chez de nombreux microorganismes (**Ghosh et Basu, 2006**). Les microorganismes telluriques utilisent les sources naturelles de tryptophane et améliorent la croissance des plantes (**Narayana et al., 2009**). Les bactéries productrices des phytohormones sont considérées comme de véritables régulateurs de la croissance végétale dans des conditions de stress salin (**Perrig et al., 2007**). L'AIA influence plusieurs paramètres physiologiques chez la plante, à savoir l'élongation et la division cellulaire, la dormance apicale, la différenciation des tissus vasculaires, la production d'éthylène, l'initiation racinaire (**Keyeo et al., 2011**) et la prolifération racinaire aboutissant ainsi à une meilleure disponibilité en eau et en nutriments (**Ashrafuzzamann et al., 2009**). Selon Matsukawa *et al.* (2007), chez de nombreuses espèces de *Streptomyces*, l'AIA stimule la formation du mycélium et améliore également la production des antibiotiques.

6.4 La solubilisation des phosphates

Généralement, le contenu de phosphore dans le sol est de 0,05% (p/p), cependant seule une très faible proportion des phosphates est disponible aux plantes (**Kumar et al., 1999**). Il est présent sous forme de composés métalliques liés au fer, à l'aluminium, ou au silicium dans les sols acides ou avec le carbonate de calcium dans les sols alcalins (**Whitelaw, 2000**). Afin de compenser cette pauvreté naturelle en phosphore, ce dernier est ajouté au sol sous formes de

fertilisants phosphorés dont seulement 1% est utilisé par les plantes, le reste est rapidement converti en composés insolubles tels que les phosphates calcique et ferrique. Pour cette raison, les microorganismes solubilisant le phosphore ont un intérêt particulier (Yadav *et al.*, 2011) les bactéries et les levures sont les plus performants (Sahu *et al.*, 2007). Parmi les bactéries possédant cette activité, les actinomycètes occupent une place de choix (Jiang *et al.*, 2005) Certaines actinomycètes possèdent une capacité importante de produire des phosphatases alcalines (Ghorbani-Nasrabadi *et al.*, 2013).

6.5. La production de sidérophores

Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire secrétées par de nombreux champignons et bactéries en réponse à la carence en fer (Pérez-Mirinda *et al.*, 2007). Ils solubilisent et transportent le fer vers la cellule microbienne à travers des récepteurs spécifiques (Cabrera *et al.*, 2001; Sridevi *et al.*, 2008). Les streptomycètes du sol sont capables de produire les sidérophores (Muller *et al.*, 1984). *Streptomyces fulvissimus* ATCC 27431 en accumule à un taux avoisinant à 94% (Bendale *et al.*, 2009).

6.6. Autres intérêts

La lignine est un complexe biopolymérique résistant à la dégradation microbienne, cependant quelques espèces de champignons et bactéries dont les actinomycètes sont capables de la dégrader (Antai et Crawford, 1981; Hasegawa *et al.*, 2006). Certaines espèces actinomycétales peuvent dégrader l'acide salicylique (AS) produit par les plantes et les bactéries. Ce dernier et son dérivé, l'acide acétylé salicylique (aspirine) sont largement utilisés comme des médicaments (Ishiyama *et al.*, 2004). Les actinomycètes ont un rôle important dans l'amélioration de la qualité du sol agricole. En effet, ils contribuent à la fertilisation du sol, contribuent aux processus de recyclage et de la biodégradation de la matière organique et des éléments minéraux (Goodfellow *et al.*, 1984).

Les phénols considérés comme toxiques pour l'environnement marin sont dégradés par diverses souches actinomycétales (Winter *et al.*, 1991). *Streptomyces hygroscopus* produit l'acide pétridique qui stimule le développement des racines des haricots et dont le rôle semble équivalent à celui de l'acide indole acétique (Igarashi, 2004).

Un nouveau polysaccharide synthétisé par *Streptomyces virginia* H03 est doué de potentielles activités antibactériennes vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* et *Candida utilis* contaminant les aliments (**He et al., 2010**).

Enfin, le mycostope est un produit commercial synthétisé par *Streptomyces griseovirdis* K61 et *Streptomyces lydicus* WYEC 108, il est utilisé dans le traitement des maladies causées par *Phytium* sp. *Fusarium* sp. *Rhizoctonia* sp. et *Phytophthora* sp. (**Rugthaworn et al., 2007**).

1. Historique

Le mot antibiotique fut employé pour la première fois, en 1942 par Waksman. Il faut noter cependant que le terme d'antibiose était déjà connu par Pasteur pour la première fois en 1889. Par la suite, cette observation fit l'objet d'un certain nombre de publications, y compris celle de Fleming en 1929, se rapportant à la découverte de la pénicilline et celle de Dubos en 1939 à celle de la tyrothricine. (**Simon, 1970**).

L'immense importance de ces composés passa toute fois inaperçue et il fallut attendre 1943 pour que la pénicilline fût produite industriellement. On peut d'ailleurs penser que seules les nécessités militaires furent à l'origine d'une quantité impressionnante de recherches théoriques et pratiques qui entraînèrent le développement prodigieux des industries de fermentation pendant ces 25 dernières années.

La fabrication de la pénicilline fut suivie, dès 1946 de celle de la streptomycine et si, depuis cette année-là, un nombre considérable de nouveaux antibiotiques a été présenté, seul un nombre limité de ceux-ci fait actuellement l'objet d'une fabrication industrielle. (**Simon, 1970**).

Actuellement, il n'est plus possible de développer des antibiotiques sans en connaître la structure chimique, les propriétés pharmacologiques et toxiques. (**Bergogne, 1999**).

2. Définition

Un antibiotique (du grec anti : « contre », et bios : « la vie ») Ce sont des substances naturelles produites par des moisissures ou des bactéries ou des composés chimiques, obtenus par synthèse organique, qui inhibent ou détruisent même à très faible concentration, d'autres microorganismes, sans présenter une toxicité pour l'hôte (**Gazengel et Anne, 2007**).

Les antibiotiques sont des métabolites secondaires, ils sont des agents antimicrobiens, en général produits naturellement par une bactérie ou par un champignon. (**Tortora, 2003**). Dans la majorité des cas, leur synthèse débute à la fin de la phase exponentielle (tropopause) et le début de la phase stationnaire (idiophase). Les antibiotiques sont des biomolécules possédant une activité antimicrobienne ; ils sont capables d'inhiber et même détruire des bactéries ou des champignons (action bactériostatique ou bactéricide ou fongistatique ou fongicide) mais toute

fois chaque antibiotique a une spécificité d'action, Ils n'agissent pas sur les virus. Un antibiotique est donc efficace s'il répond à deux conditions :

- est actif sur les microorganismes responsable de l'infection. .
- Il diffuse dans l'organisme jusqu'au lieu de l'infection (quelquefois il s'y concentre).

(Figarella *et al.*, 2007)

3. Modes d'action des antibiotiques

Les agents antimicrobiens détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs Structures essentielles (paroi cellulaire, ribosomes, membrane plasmique et ADN) et /ou en perturbant leurs métabolismes et par conséquent leurs fonction (tortora *et al.* ,2003)

a. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane

De nombreux antibiotiques inhibent la synthèse du peptidoglycane, composant essentiel de la paroi des bactéries à Gram(+) et à Gram(-). La synthèse de la paroi bactérienne comporte trois étapes successives. Chacune de trois étapes peut être perturbée par l'action des antibiotiques. Par exemple, les β -lactames inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane (Samaoui, 2010 ; Kitouni, 2007).

b. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique

Plusieurs antibiotiques agissent au niveau des ribosomes en bloquant la biosynthèse des protéines des microorganismes (Samaoui, 2010). Les antibiotiques les plus importants sont les macrolides, les aminoglycosides, les tétracyclines et les phénicolés (Boughachiche, *et al.*,2012).

c. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques et de leurs précurseurs

Dans cette classe, on trouve deux groupes d'antibiotiques. Un premier groupe agit directement sur la synthèse des acides nucléiques, qui ont les folâtres, en particulier l'acide tetrahydrofolique qui joue un rôle essentiel dans la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. Le deuxième groupe intervient au niveau des précurseurs de synthèse. Nous citons à titre exemple les quinolones qui agissent sur les enzymes réglant la conformation de l'ADN tel que les topoisomérases (essentiellement l'ADN gyrase). L'arrêt de l'activité de ces enzymes bloque tout changement de conformation et toute synthèse d'ADN (Samaoui,2010; Loucif, 2010).

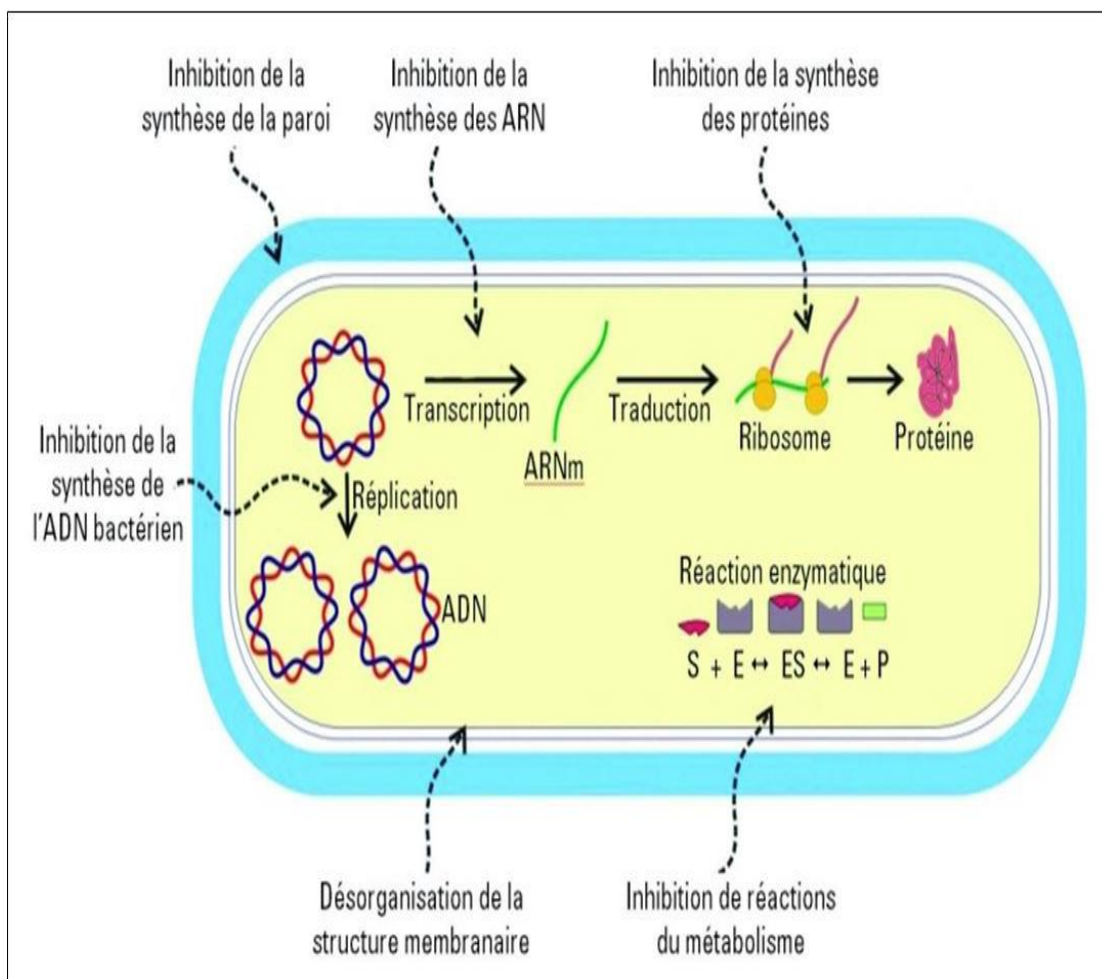


Figure 6 : Modes d'action des antibiotiques (sit 1)

4. Classification des antibiotiques

La diversité et la complexité des molécules antibactériennes rendent nécessaire leur classification (Samaoui, 2010). Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères :

L'origine la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'activité. Tout en adoptant la classification des antibiotiques en grandes familles (Samaoui, 2010 ; Yala *et al.*, 2001)

Tableau 3 : classification générale propriétés et origines des antibiotiques à usage thérapeutique (Larpent et sanglier, 1989 ; Joffin et Leyral, 2006)

familles	Nom	Origine	Site d'action Mode d'action
Antibiotique antibactérien Béta-lactamines Pénicilline céphalosporines	Pénicilline G X	<i>Penicillium chrysogenum</i> ou <i>notatum</i> (1928)	Paroi bactéricide
	Acide clavulanique	<i>Streptomyces clavuligerus</i>	Paroi bactéricide
	Céphalosporine C	<i>Cephalosporium acremonium</i>	Paroi bactéricide
	céphalosporine	<i>Cephalosporium acremonium</i>	
aminosides	Cyclosérine	<i>Streptomyces orchidaceus</i>	Ribosomes (30s)
	Spectinomycine	<i>Streptomyces spectabilis</i>	Bactériostatique
	Gentamycine	<i>Micromonospora purpurea</i>	
	Kanamycine	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	
	Paromomycine	<i>Streptomyces rimosus</i>	
	Streptomycine	<i>Streptomyces griseus</i> (1947)	
	Tobramycine	<i>Streptomyces tenebrarius</i>	
	Néomycine	<i>Streptomyces fradiae</i>	

chloramphénicol		<i>Streptomyces</i> <i>Synthèse</i>	Ribosomes (50s) Bactériostatique
tétracyclines	Chlortétracycline	<i>Streptomyces aureofaciens</i> (1947) <i>Semi- syntactique</i>	Ribosomes (50s) Bactériostatique
Macrolides lincosamines, Streptogramines	Erythromycine	<i>Streptomyces erythreus</i> (1952)	Ribosomes (50s) Bactériostatique bactéricide
	Josamycine	<i>Streptomyces narbonensis</i> (1967)	
	Oléandomycine	<i>Streptomyces antibioticus</i> (1954)	
	Spiramycine	<i>Streptomyces ambofaciens</i> (1954)	
Polypeptides	Amphotricine	<i>Streptomyces canus</i>	Membrane
	Bactracine	<i>Bacillus subtilis</i> (1945)	Cytoplasmique
	Cactinomycine	<i>Streptomyces chrysomatus</i>	Bactéricide
	Colistine Y	<i>Bacillus colistinus</i>	
	Gramicidine A	<i>Bacillus brevis</i> (1939)	
	Polymyxine B	<i>Bacillus polymyxa</i> (1947)	
	Tyrosine	<i>Bacillus brevis</i> (1939)	

	Virginiamycine	<i>Streptomyces virginiae</i>	
Rifamycines	Rifamycine	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Nocardia mediterranei</i> • <i>Streptomyces</i> 	ARN polymérase Bactéricide
Quinolones		<i>Synthèse</i>	ADN ligase bactéricide
Sulfamides, Triméthoprimes		<i>Synthèse</i>	Métabolisme des folates bactériostatique
Vanomycines, novobiocines		<i>Streptomyces</i>	Paroi
fosfomycines			Bactéricide
Acide fusidique stérotde	Acide fusidique	<i>Fusidium coelcineum</i>	
Nitrofuranes		<i>Synthèse</i>	ADN Bactéricide
Polenes	Amphotéricîne B	<i>Streptomyces coelicolor var aminophilus</i>	Membrane Cytoplasmique fongicides
	Fungimycine	<i>Streptomyces nodosus</i>	
Fluorocytosine		<i>Synthèse</i>	ADN et ARN Fongicides
Imidazole et dérivés			Inhibition de la synthèse de l'ergostérol . Fongicide
Griséofulvine		<i>Synthèse</i>	Actif sur les dermatophytes

Tableau 4 : Antibiotiques bactéricides et Antibiotiques bactériostatiques (Joffin et Leyral, 2006).

Bactéricides	Bactériostatiques
B-Lactamines (sur bactéries en croissance)	Phénicolés
Vancomycine	Tétracyclines
Polypeptides	Macrolides et lincosamides
Aminosides	Acides fusidique
Streptogramines	Sulfamides
Quinolones	Rifampicine (plus ou moins bactéricide)
Nitro- imidazoles	Synergistines
Polymyocines	Fosfomycine

5. Les antibiotiques produits par les actinomycètes

Les actinomycètes sont largement reconnus par leur capacité de produire des métabolites secondaires bioactives, spécialement des composés menus d'activité antimicrobienne. Ces bactéries sont responsables de produire deux tiers d'antibiotiques commercialement valable (Thais *et al.*, 2013), dont environs 80% sont isolés du genre *Streptomyces*. Même si on inclut les autres métabolites secondaires, ces bactéries restent les plus grands fournisseurs avec environs 60% (les *Streptomyces* ont toujours la plus grande partie avec 80%) (Boughachiche, 2012), la plupart de ces bactéries ont été isolé à partir du sol (Thais *et al.*, 2013).

Tableau 5 : Les antibiotiques produits par les actinomycètes

Actinomycètes producteurs	Antibiotiques	Références
1/Les agents antibactériens		
<i>Streptomyces Lavendulae</i>	Pénicilline	<i>Torres et al., 1999</i>
<i>Micromonospora sp.</i>	Clostomycine	<i>Takahashi et al., 2003</i>

<i>Streptomyces griseus</i>	Candicidine	<i>Jinenez et al., 2009</i>
<i>Streptomyces lydicus</i>	Streptolydigine	<i>Liuet al., 2007</i>
<i>Streptomyce lindensis</i>	Rétamycine	<i>Inoue et al., 2007</i>
<i>Marinispora sp.</i>	Marinomycine	<i>Sturdikovà et Sturdik, 2009</i>
<i>Streptomyces aureofaciens</i>	tracycline, (auréomycine	<i>Habib et al, 2001</i>
<i>Verrucosispora sp.</i>	Abyssomycine	<i>Sturdikovà et Sturdik, 2009</i>
2/ Les agents antifongiques		
<i>Streptomyces griseochromogenes</i>	Blasticidine	<i>Fukunaga et al., 2008</i>
<i>Streptomyces humidus</i>	Phenylacétate	<i>Hwang et al., 2001</i>
<i>Nocardia transvalensis</i>	Transvalencine	<i>Mukai et al., 2006</i>
<i>Streptomyces nodosus</i>	Amphotéricine B	<i>Carle et al., 2003</i>

6. Résistance aux antibiotiques

Pour être efficace, un antibiotique doit parvenir au contact de la bactérie, puis pénétrer dans la cellule afin de se fixer à une cible et perturber le fonctionnement du microorganisme, sans être détruit ni modifié. Si l'antibiotique ne parvient pas à pénétrer dans la bactérie ou à se fixer sur une cible, il devient inefficace. Ce phénomène appelé résistance est lourd de conséquences. Ainsi, de nombreux microorganismes pathogènes classiques développent des résistances multiples aux antibiotiques (**Moumeni et Hanneche ,2015**)

Cette résistance peut être naturelle ou acquise

6. a. La résistance naturelle

La résistance naturelle est liée au patrimoine génétique de la bactérie, elle est donc commune à toutes les bactéries d'une même espèce et fait partie des caractères normaux de l'espèce. Par

exemple, les quinolones de première génération sont inactives sur les bactéries à Gram positif. La résistance naturelle est transmise uniquement à la descendance. Elle n'est donc pas transmissible sur le mode horizontal d'une bactérie à l'autre ou entre espèces différentes. (Lozniewski et Rabaud, 2010)

6. b. Résistance acquise

L'est présent seulement chez certaines souches de l' espèce. Cette résistance résulte d' une modification génétique par mutation ou d' une acquisition de matériel génétique étranger ; les résistances mutationnelles sont chromosomiques, spontanées, rares (fréquence de 10^{-6} à 10^{-9}) stable et transmissibles uniquement de façon verticale.

- les résistances par acquisition d'ADN sont la conséquence d'un transfert horizontal y compris entre espèces éloignées phylogénétiquement. Des gènes de résistances aux antibiotiques sont pour la plupart chromosomiques. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégrons ou encore sur des phages .Ces mécanismes de résistances peuvent alors diffuser très rapidement dans une population (Faure, 2009)

6. c. La "Multirésistance"

Il s'agit d'une terminologie très couramment utilisée même si elle ne répond pas à une définition univoque. Il est d'usage de parler de multirésistance pour « une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique » ou pour « une bactérie sensible à moins de trois familles d'antibiotiques ». La multirésistance peut donc être acquise, mais aussi naturelle, comme par exemple pour *Burkholderia cepacia*, ou à un moindre degré pour *Acinetobacter* spp. Au total, ce terme s'emploie généralement pour une bactérie qui pose en général un problème de ressource thérapeutique (Lozniewski et al., 2010).

6. d. Principaux mécanismes de résistance

-La diminution de la perméabilité membranaire des bactéries à gram négatif.

-L'inactivation enzymatique.

-La modification du site d'action.

-L'augmentation de l'efflux (Label et Soussy, 2007).

La résistance aux antibiotiques est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multirésistance. Elle se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (Yala *et al.*, 2001).

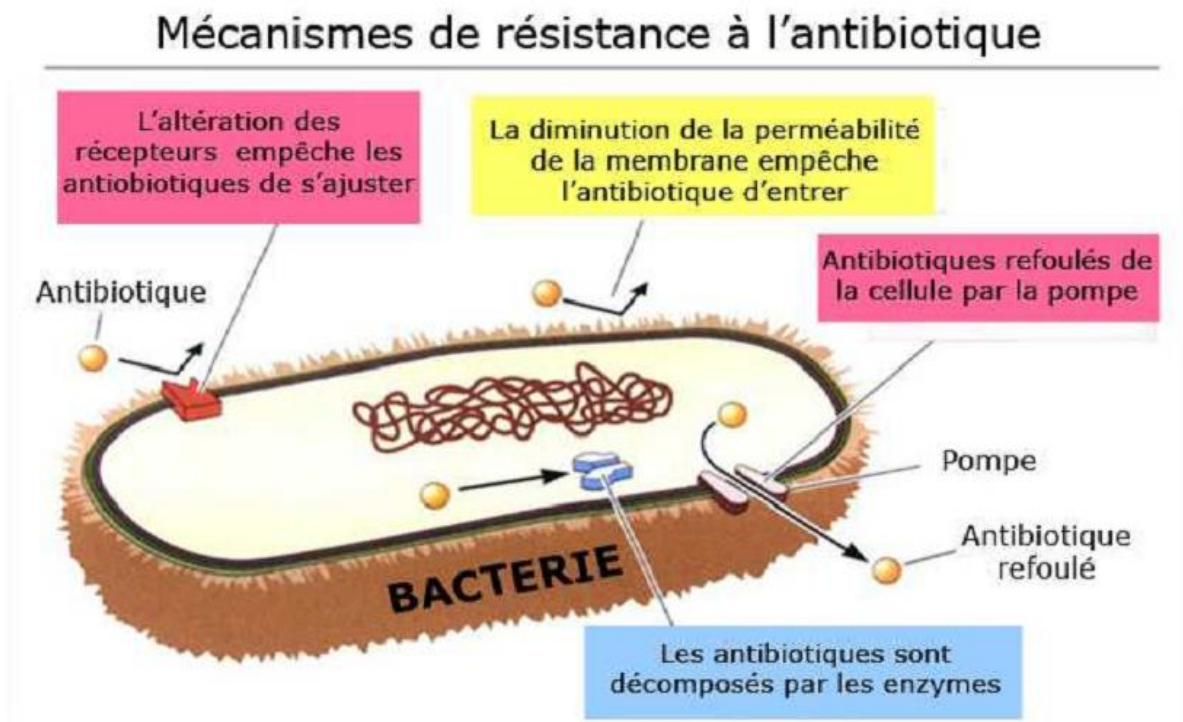


Figure 7: Représentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Virginie, 2010)

1. Souches d'actinomycètes utilisées

La collection des souches d'actinomycètes utilisées dans cette étude, proviennent des échantillons de sol de la région d'El-Oued dans le Sahara Algérien. Elles ont été conservées par congélation en présence de 10% de glycérol comme cryoprotecteur. Au laboratoire toutes ces bactéries ont subies une revivification.

2. Revivification des souches

Les actinomycètes purs, qui ont été isolés, purifiés puis conservés par congélation ont subi une revivification. 0.1 ml de chaque suspension bactérienne sont ensemencés en surface dans des boîtes de Pétri contenant le milieu GLM (**Annexe**). Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 28° C pendant 21 jours. Des observations régulières sont effectuées chaque jour après la première semaine.

3. Préparation les milieux de culture

Nous avons utilisé les milieux de culture suivant :

GLM (glucose-extrait de levure-malt) : Milieux de croissance et d'isolement des actinomycètes (**Boudemagh, 2005**).

-ISP2 : (International *Streptomyces*-Project) préconisés par **Shirling et Gottlieb, (1966)**. Milieu sélectif de la croissance des actinomycètes, utilisé pour le test de l'activité antimicrobienne.

-GN : gélose nutritive milieu ordinaire pour revivification des bactéries tests (**annexe**).

-Milieu Sabouraud : milieu utilisé pour la revivification des champignons tests (**annexe**).

4. Activité antibactérienne

Le travail porte sur la mise en évidence de la production des substances antimicrobiennes par la collection d'actinomycètes isolées à partir des sols arides. Cette activité a été testée par la méthode des cylindres d'agar (**Bastide et al., 1986**). Ce test vise à tester la sensibilité de plusieurs souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif vis-à-vis des actinomycètes. Les germes producteurs et les germes tests sont mis en Co-cultures sur le même milieu gélosé.

Matériel et méthodes

4.1. Caractéristiques des souches tests

Dans notre étude, nous avons utilisé 8 souches bactériennes pathogènes qui proviennent des hôpitaux. Parmi ces souches, certaines sont sensibles et présentent un profil antibiogramme normale il s'agit de *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Morganilla sp*, *Enterobacter sp*, *Citrobacter sp*, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603, *Escherichia coli* ATCC 25922. Une bactérie multi résistante a été également testée. C'est la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 43300. Elle est résistante à la méthicilline et à l'oxacilline (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Origine et caractéristiques des bactéries tests

Souches bactériennes	Gram des souches	Provenance des bactéries
<i>Bacillus cereus</i>	+	Souche clinique
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	+	Souche de la collection Américaine ATTC Résistante à la méthicilline et à l'oxacilline
<i>Proteus mirabilis</i>	-	Souche clinique
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	Souche sensible de la collection Américaine ATTC
<i>Morganilla sp</i>	-	Souche clinique
<i>Enterobacter sp</i>	-	Souche clinique
<i>Citrobacter sp</i>	-	Souche clinique
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	-	Souche sensible de la collection Américaine ATTC

4.2. Préparation des inocula de bactéries-tests

Pour chaque souche test, un inoculum est réalisé à partir d'une culture de 24 heures sur gélose nutritive (**annexe**). Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure de chaque souche test sont prélevées et transférées dans des tubes à essais contenant l'eau physiologie stérile (9 ml). Après agitation par le vortex et assurance que la turbidité de ces tubes est équivalente à 0,5 Mc Farland (**annexe**).

4.3. Préparation des cylindres d'agar

Les souches d'actinomycètes sontensemencées en stries serrées à la surface du milieu GLM. Les boîtes sont ensuite incubées à 28° C pendant 7 jours. Des cylindres de gélose de 6 mm de diamètre de chaque actinomycète, sont prélevés à l'aide d'un emporte-pièce.

4.4. Préparation des boîtes de Pétri contenant les souches tests.

A l'aide d'une pipette Pasteur, un prélèvement de 0.1 ml à partir de chaque tube contenant les bactéries tests est réalisé. Cette quantité estensemencée en surface du milieu ISP2 à l'aide d'un etaleur.

4.5. Technique des disques d'agar

Les disques d'agar de chaque actinomycète sont déposés à la surface du milieu ISP₂ préalablementensemencé par les germes tests (**Saker, 2015**). Les boîtes ainsi préparées sont placées à 4°C pendant deux heures pour permettre la diffusion des substances actives des actinomycètes. Les boîtes sont ensuite incubées à 37° C pendant 24 à 48 heures. (**Gungi et al., 1983**).

4.6. Lecture

Après incubation des boîtes, les zones d'inhibition sont observées autour des disques d'actinomycètes. Cela indique que l'actinomycète producteur des antibactériens actifs contre la souche test en question. Les diamètres d'inhibition sont mesurés en millimètre, moyennant une règle graduée. L'absence de zones d'inhibition autour des disques d'agar, indique un résultat négatif qui montre que les bactéries sont résistantes aux substances produites par les

actinomycètes. Plus cette zone est grande, plus l'activité antibactérienne est grande (Petrosyan *et al.*, 2003). Les résultats sont exprimés suivant le (tableau 7).

Tableau 7 Normes utilisées dans la méthode des disques (Leipzig, 1996)

Diamètre du halo d'inhibition (X)	Sensibilité du germe	Résultat
$X < 7\text{mm}$	Insensible	-
$7\text{ mm} < X < 8\text{ mm}$	Assez sensible	+
$8\text{ mm} < X < 9\text{ mm}$	Sensible	++
$X > 9\text{mm}$	Très sensible	+++

5. Activité antifongique

La production de métabolites antifongiques par les souches d'actinomycètes est mise en évidence par la technique des cylindres d'agar en utilisant le milieu Sabouraud. Les champignons-tests utilisés sont : *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* ces deux souches sont des phytopathogènes.

5.1. Préparation des inocula fongiques calibrés

Les souches tests de champignons sont cultivées sur milieu Sabouraud à 28° C pendant deux semaines. Une suspension de spores est réalisée, en ajoutant de l'eau physiologique et en raclant la boîte à l'aide d'une anse de platine. La suspension mère obtenue est diluée jusqu'à obtention d'une densité optique à 623 nm comprise entre 0.18-0.20, ce qui correspond à 10^5 spores/ml et constitue l'inoculum calibré. (Bastide *et al.*, 1986).

5.2. Technique des cylindres d'agar.

Dans cette méthode les souches d'actinomycètes sontensemencées en stries serrées à la surface du milieu GLM. Après incubation à 28° C pendant 7 jours, on prélève à l'aide d'un emporte-pièce, pour chaque souche étudiée, des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre. Ces cylindres sont déposés à la surface d'un milieu de Sabouraudensemencé chacun en surface, par 1 ml des deux souches fongiques tests. Ces boîtes sont placées à 4° C pendant 2 heures afin de

permettre la diffusion des substances à activité antifongique (**Thibodeau *et al.*, 2002**). Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après 72 h d'incubation à 28° C.

5.3. Lecture

Après incubation, la présence des zones d'inhibition indique un résultat positif. Cette zone est observée autour des disques d'actinomycètes ce qui signifie que ces bactéries produisent des molécules antifongiques capables de stopper la croissance des champignons tests. Le diamètre d'inhibition est mesuré par une règle graduée. L'absence de zones d'inhibition claire autour des disques d'agar, indique un résultat négatif. (**Badji *et al.*, 2005; Boughachiche *et al.*, 20**)

Résultats et discussion

1. Revivification des souches d'actinomycètes

Les colonies d'actinomycètes ont été reconnues par leur aspect morphologique caractéristique. Elles apparaissent sèches, rigoureuses, colorés ou non, adhérent à la gélose et certaines présentent un mycélium végétatif et aérien. Certains actinomycètes montrent seulement un mycélium du substrat (**Boudemagh, 2007**). Dans notre travail, les colonies ont été repiquées sur milieu GLM. La photographie 1 montre l'aspect macroscopique de certains isolats d'actinomycète.



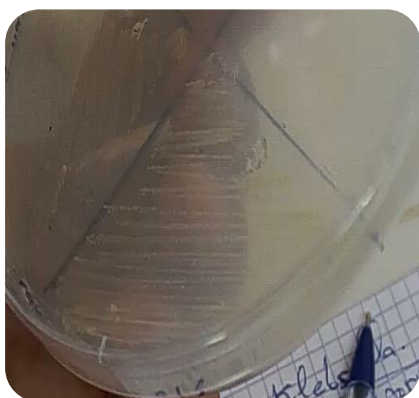
S16 (colonies Blanches crémeuses)



S6 (colonies Jaunes crémeuses)



S5 (colonies blanches pâteuses)



S12, S13, S14 (colonies Jaune claires sèches).



S9 (colonies vertes sèches).



S11 (colonies rouges brillantes).

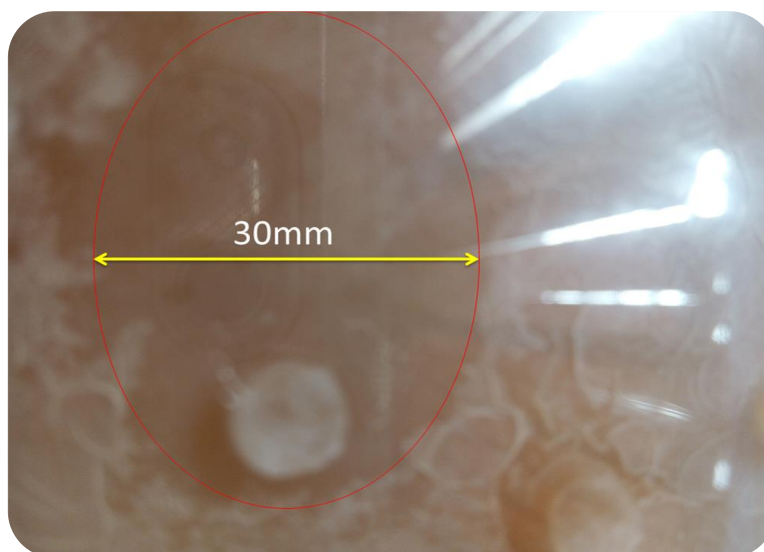
Photographie 1 : Aspect des colonies de certains isolats d'actinomycètes, cultivés sur milieu GLM.

Résultats et discussion

2. Etude des activités antimicrobiennes (méthode des cylindres d'agar)

2.1. Activités antibactériennes

La substance bioactives sécrétées par actinomycètes se disperse dans le milieu ISP2 inhibant la croissance des germes cibles. L'inhibition se présente sous forme d'une zone claire (ou zone d'inhibition) autour de la culture bactérienne. Le diamètre des zones d'inhibition est très important et indique le degré de la sensibilité du germe à l'égard de l'actinomycète producteur (**Photo.2**).



Photographie 2 : Activités antimicrobiennes de la souche S16 sur *Citrobacter sp*
Les résultats des activités antibactériennes des souches actinomycétales sont rassemblés dans les tableaux (**6 et 7**).

Résultats et discussion

Tableau 6: Résultats des activités antibactériennes des actinomycètes contre les bactéries Gram négatif

Souches tests Isolats	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Morganilla sp</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Citrobacter sp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
S1	1. (a)	20	2. (b)	11	26	-
S2	16	15	-	31	13	-
S3	11	19	-	-	20	13
S4	15	14	-	20	14	10
S5	-	15	11	11	-	-
S6	-	11	-	-	22	23
S7	12	-	-	-	18	14
S8	22	-	-	10	16	20
S9	-	-	-	20	13	25
S10	15	-	-	-	17	22
S11	20	13	15	15	17	17
S12	-	-	-	12	16	21
S13	-	-	-	-	-	-
S14	-	-	-	-	-	-
S15	14	-	-	13	12	12
S9	-	-	-	20	13	25
S10	15	-	-	-	17	22
S11	20	13	15	15	17	17
S16	13	11	22	22	30	20

(a) : Diamètre d'inhibition (mm) ; (b) : résultat négatif

Résultats et discussion

Tableau 7 : Résultats de l'activité antimicrobienne des actinomycètes contre les bactéries Gram positif

Souches tests	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Isolats		
S1	-	-
S2	-	-
S3	-	-
S4	-	-
S5	-	-
S6	-	-
S7	-	-
S8	-	11 (a)
S9	-	-
S10	1. (b)	11
S11	-	-
S12	-	-
S13	-	-
S14	-	-
S15	-	-
S16	-	15

(a): Diamètre d'inhibition (mm) ; (b) : résultat négatif

Résultats et discussion

Il en ressort que parmi les **16** isolats, **14** souches d'actinomycètes sont actives sur au moins une des bactéries tests étudiées, soit un pourcentage de **87,5 %**. L'activité antibactérienne contre les Gram négatifs est beaucoup plus importante que celle contre les Gram positifs (**tab.6 et 7**). Ces résultats sont identiques à ceux trouvés par **Hasavada et al., 2006 ; Atta et al., 2009 et Valli et al., 2012**. Les résultats obtenus indiquent aussi que les 16 isolats, ne présentent aucune activité antibactérienne vis-à-vis de *Bacillus cereus* car ce sont probablement des bactéries sporulées difficiles à éradiquer par les antibiotiques produits par ces actinomycètes.

Concernant *Staphylococcus aureus* 3 souches seulement des actinomycètes présentent une activité positive, cette souche bactérienne est résistante à la méthicilline et pose des problèmes d'infection nosocomiales partout dans le monde. Nos résultats sont très prometteurs car ils montrent que notre collection contient des isolats d'actinomycètes intéressants capables d'être une source de germes producteurs de molécules à activité antibactérienne contre cette souche très résistantes.

La plus importante activité a été remarqué vis à vis de *Citrobacter sp* .en effet sur 16 isolats testés 13 ont montré une activité positive sur cette bactérie la plus forte était avec l'actinomycète E1 avec un diamètre d'inhibition qui atteint les 30 mm

Selon les mêmes résultats la souche E1 à montrer une activité sur toutes les bactéries testes à l'exception de *Bacillus cereus*. Nos travaux s'accordent parfaitement avec ceux de **Devi NAK et al., 2006**, qui confirment que *Bacillus cereus* est résistant à plusieurs actinomycètes et que les plusieurs autres bactéries tests sont sensibles.

2.2. Activité antifongique

Les résultats de l'antagonisme des isolats d'actinomycètes testés contre les champignons phytopathogènes sont rapportés dans le tableau 5. Seulement 9 actinomycètes sont positifs sur *Fusarium oxysporum* (**photo.3**) en donnant des halos d'inhibitions entre 13 et 34 mm de diamètre.

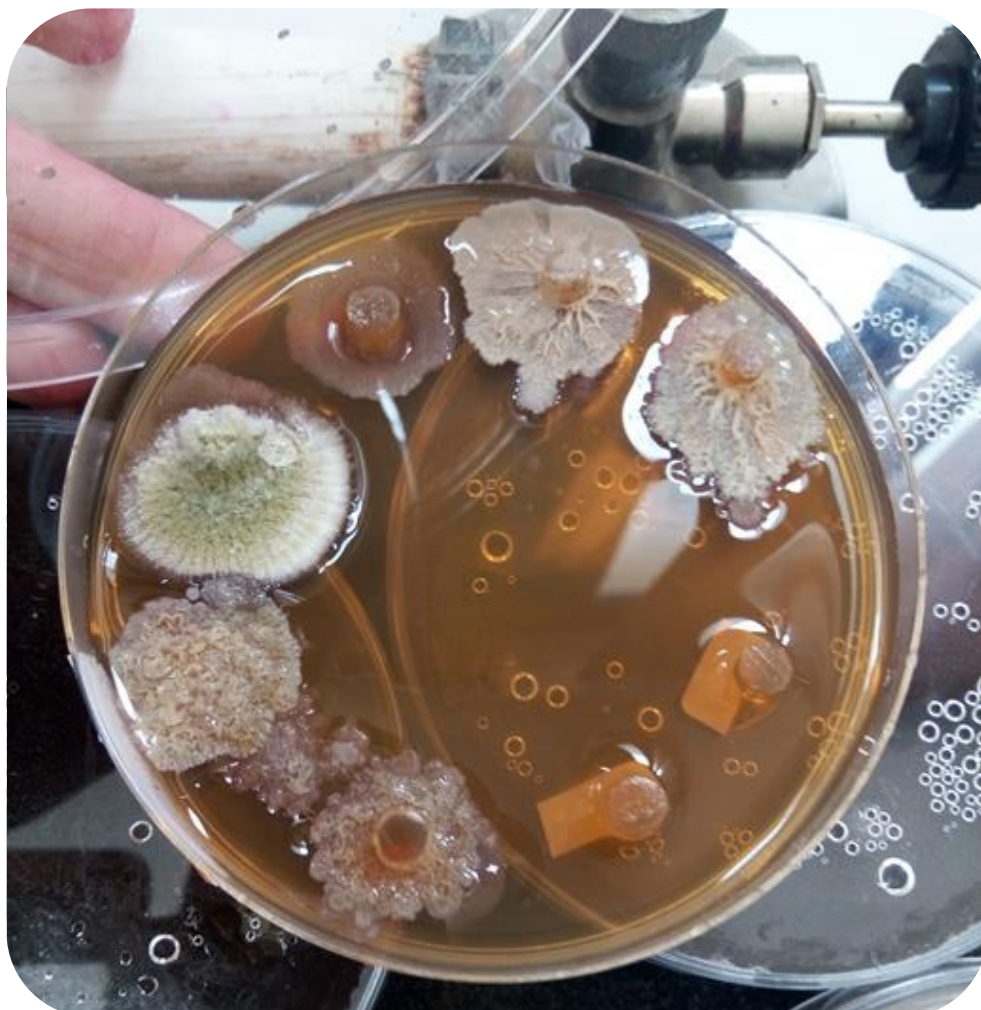
Tableau 8: Résultats des activités antifongiques des isolats d'actinomycète contre les champignons phytopathogènes

Résultats et discussion

	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
S1	-	-
S2	2. (a)	21 (b)
S3	-	22
S4	-	18
S5	-	21
S6	-	34
S7	-	-
S8	-	-
S9	-	31
S10	-	-
S11	-	30
S12	-	-
S13	-	13
S14	-	-
S15	-	-
S16	22	20

Résultats et discussion

a : Résultat négatif (b) : Diamètre d'inhibition (mm)



Photographie 3 : Activité antifongique sur *Fusarium oxysporum*

On constate également, que toutes les souches d'actinomycètes testées sont inactives sur *Aspergillus niger* (photo 4). Ce résultat montre clairement que l'activité antifongique est très rare parmi les actinomycètes. Cela converge avec plusieurs travaux antérieurs. Les travaux de **Boudemagh, 2007** dévoilent que sur 171 actinomycètes isolés à partir des sols semi-arides et des sols arides du sud-est et du sud-ouest Algérien, seulement 10 % des souches présentent une activité antifongique. Les travaux de **Hilali et al., (2002)** confirment également les mêmes résultats.

Résultats et discussion

La résistance des champignons aux antifongiques est en augmentation inquiétante. Les mycoses ont augmenté de façon dramatique au cours de la dernière décennie. Ils se classent au quatrième rang dans les infections nosocomiales (**Beck-sagué et Jarvis, 1993**).



Photographie 4: Activité antifongique des isolats d'actinomycètes contre *Aspergillus niger*

Conclusion et perspectives

Les Actinomycètes sont considérés comme les procaryotes les plus précieux et les plus utilisés en biotechnologie. Ce sont des bactéries responsables de la production de la moitié des métabolites secondaires découverts à ce jour. Ils constituent par conséquent, la source naturelle la plus prometteuse des biomolécules notamment les molécules d'antibiotiques qui sont si complexes pour être synthétisées par la chimie combinatoire.

L'utilisation massive des antibiotiques a conduit à exercer une forte pression de sélection, qui a favorisé l'émergence de gènes de résistance chez les bactéries et les champignons pathogènes. Il est donc incontournable de chercher de nouvelles molécules antibiotiques, pour stopper ces microbes dangereux.

Une collection d'actinomycètes isolés à partir du sol Saharien, de la région d'El-Oued à montrer que certaines de ces bactéries, sont des producteurs d'antibactériens et d'antifongiques.

Au bilan, les résultats indiquent que 87,5 % des souches ont une activité anticellulaire, contre les bactéries et les champignons tests utilisés. Ces actinomycètes ont cependant, une activité antibactérienne plus importante contre les bactéries à Gram négatif. En ce qui concerne l'activité antifongique le pourcentage est beaucoup plus faible et dépend, à la fois, les actinomycètes étudiés et les souches testes.

Considérant les résultats très satisfaisants, Nous espérons poursuivre nos investigations par identification des isolats au niveau de l'espèce. L'extraction et la purification de ces antibiotiques et l'optimisation de leurs utilisations dans les domaines de la biotechnologie sont également envisageables. Nous espérons aussi, continuer nos travaux en explorant d'autres extrêmes inexploités.

Références bibliographiques

• A

- **Ahmad, F., I. Ahmad , M. S. Khan. 2005.** Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk. J. Biol.* **29**: 29-34.
- **Amanullah A, Justen P, Davies A, Paul G.C, Nienow A.W et Thomas C.R. 2000.** Agitation induced mycelial fragmentation of *Aspergillus oryzae* and *Penicillium chrysogenum*. *Biochem Eng. J.* **5** (2): 109–114.
- **Andriambololona T., 2010.** Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des Actinomycètes telluriques, cas de forêt d'ANKAFOBE. pp.03-11
- **Antai, S. et D. L Crawford. 1981.** Degradation of softwood, hardwood, and grass lignocelluloses by two *Streptomyces* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* **42**(2): 378-380.
- **Aouar L. 2012.** Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des Appl. Environ. Microbiol. **67**: 1001-1003.
- **Atta H.M., Dabour S.M. et Desoukey S.G. 2009** Sparsomycin antibiotic production by *Streptomyces* sp. AZ-NIOFDI: Taxonomy, fermentation, purification and biological activity. *J Agric & Environ Sci.* **5**(3): 368-377.

• B

- **Badji B. ; Zitouni A. ; Mathieu F. ; Lebrihi A et Sabaou N. 2006.** Composés antimicrobiens produits par *Actinomadura* Sp. AC104 isolé dans un sol saharien algérien, NRC Canada, p 373.
- **Basilio.A., Gonza'les I .,Vicente M.F.,Gorrochategui J., Cabello A., Gonza'lez A.and Ogenilloud O . , 2003.** Patterns of antibiotiques actives from soil actinomycetes isolated under different condition of pH and salinity. *J. Appl microbial.* **95**.814.823.
- **Bastide A, Méo M, Andriantsoa M, Laget M and Duménil G. 1986.** Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique mircen *J. 2* : 453-466.
- **Belyagoubi L., 2014.** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. pp.07-17

Références bibliographiques

- **Bendale, M. S., B. L. Chaudhari et S. B. Chinchkar. 2009.** Influence of environmental factors on siderophore production by *Streptomyces fulvissimus* ATCC 27431. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*. **03**(4): 362-371.
 - **Bérdy, j., 2005.** Bioactive microbial metabolites, a personal view. *J. Antibiotic*. 58: 1-26.
 - **Boucheffa K., 2011.** Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyèniques: Identification des souches productrices et essai de caractérisation des antifongiques produits. pp.13-16.
 - **Boudemagh A . , M. Kitouni, F. Boughachiche, H. Hamdiken, L. Oulmi, S. Reghioua, H. Zerizer, A. Couble, D. Mouniee, A. Boulahrouf et P. Boiron. 2005.** Isolation and molecular identification of actinomycetes microflora of some saharian soils of South-East Algeria (Biskra, El-Oued and Ouargla). Study of antifungal activity of isolated strains. *Journal of Medical Mycology*. 15 39-44.
 - **Boudemagh A. 2007.** Isolement à partir des sols Sahariens des bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse de Doctorat. Université de Mentouri-Constantine, Algérie. p (23).
 - **Boughachiche F, Reghioua S, Zerizer H et Boulahrouf A. 2012.** Activité antibactérienne d'espèces rares de streptomyces contre des isolats cliniques multirésistants, *Ann Biol Clin*; 70 (2) : 169-74.
 - **Boughachiche F. 2012.** Étude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre *Streptomyces*, isolées de Sebkh. Thèse Doctorat. Université de Mentouri-Constantine, Algérie p (20-25).
 - **Boussaber Elarbi, Kadmiri Issam Meftah, Hilali Lahoucine, Hilal abderraouf, 2012.** Comparaison de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes isolées de milieux variés. *Sciences Lib Edition Mersenne* : Volume 4, N°121203 ISSN 2111- 4706.
 - **Bryan le, Vandenzelznm. 1977.** Effect of membrane energy mutations and cations on streptomycin and gentamicin accumulation by bacteria: a model for entry of Streptomycin and gentamicin in susceptible and resistant bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.*;12:163-77.
- C
- **Cabrera, G., A. Xiong, M. Uebel, V. K. Singh et R. K. Jayaswal. 2001.** Molecular characterization of the iron-hydroxamate uptake system in *Staphylococcus aureus* *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 1001-1003.

Références bibliographiques

- **Carle S., Pharm B. 2003.** Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmactuel*. 36 : 25-41.
- **Chorin A. C. 2009.** Synthèse enzymatique de nouveaux dérivés dithiopyrrolones par *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Génie des procédés environnementaux. Institut National Polytechnique de Toulouse. 248.

• D

- **Divya Teja, D., N. Harsha, S. Satya Vishala, P. K et Santhosha Lakshmi. 2014.** Production de L-glutaminase from marine ecosystems and optimal conditions for maximal production by actinomycetes. *Int. J. Adv. Res.* **2** (1): 485-491.
- **Djaballah C .H., 2010.** Biodiversité des actinomycètes halotolérants isolés de la SEBKHA d'AIN M' LILA. pp.09-10.

• F

- **Faure S. 2009.** Transfert d'un gène de résistance aux B-lactamines bla.CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie, Equipe d'accueil : unité Pharmacocinétique-Pharmacodynamie, AFSA Ecole Doctorale : Vie-Agro-Santé.
- **Figarella J. , Leyral G. et Terret M. 2007 .** Paris. Microbiologie générale et appliquée. P : 103 -104-105.
- **Flardh k, Brutter M.J. 2009.** Streptomyces morphogenetics : dissecting differentiation in filamentous bacterium *Nature Reviews*. **7** : 36-49
- **Fukunagak K., Misatot T., Asakawa M. Blasticidin, A. 1955.** new Anti-Phytopathogenic Fungal Substance. Part I. Bulletin of the agricultural Chemical Society of Japan. 19: 181-188.

• G

- **Gazengel Jean Marie et Anne Marie Orecchion. 2013.** La préparation en pharmacie- Guide de théorique et pratique, *Lavoisier* : 1338.
- **Ghorbani-Nasrbadi, R., R. Greneir, H. A. Alikhani, J. Hamedi et B. Yakhchali. 2013.** Distribution of actinomycetes in different soil ecosystems and effect of media composition on extracellular phosphatase activity. *J. Plant Sci. Plant Nutr.* **13** (1): 223-236.

Références bibliographiques

- **Ghosh, S. et P. S. Basu. 2006.** Production and metabolism of indole acetic acid in roots and root nodules of *Phaseolus mungo*. Microbiol. Res. 161: 362-366.
- **Goodfellow M. and Williams S.T., 1983.** Ecology of actinomycetes. Ann. Rev Microbiol., 189-216.
- **Gottlieb D.1973.** General consideration and implication of the Actinomycetales. In: Actinomycetale characteristics and practical importance. Edited by G. Sykes and F.A.Skinner. Academic Press, London, New York.
- **Grigorova, R., Norris, J.R. (Editors), 1990.** Techniques in microbial ecology. Methods in Microbiology, Vol. 22. Academic Press, London, pp. 627.
- **Gungi S., Arima K., Beppy T. 1983.** Screening of antifungal antibiotics according to activities inducing morphological abnormalities. Agricultural and Biological Chemistry. 47: 2061-2069.

• H

- **Hasavada S. H., Thumar J. T. et Singh S. P. 2006.** Secretion of a potent antibiotic by salt- tolerant and alkaliphilic actinomycete *Streptomyces sannanensis* strain RJT-1. Current Science. 91(10): 1393-1397
- **Hasegawa, S., A. Meguro, M. Shimizu, T. Nishimura et H. Kunoh. 2006.** Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. Actinomycetol. **20** (2): 72-81.
- **He, F., Y. Yang, G. Yang et L. Yu. 2010.** Studies on antibacterial activity and antibacterial mechanism of a novel polysaccharide from *Streptomyces virginia* H03. Food Control. **21**: 1257-1262.
- **Hilali L, Khattabi A, Nssarlah N, Malki A et Finance C. 2002.** Isolement des nouvelles souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques à partir du milieu naturel marocain. Rev Biol Biotech, 2(1): 49–53.
- **Hopwood D.A., Bibb M. J., Chater K.F., Kieser T., Bruton C.J., Kieser H.M., Lydiate D.J., Johnson J.A., Onderdonk A.B., Cosimi L.A., Yawetz S., Lasker B.A., Bolcen S.J., Brown J.M. and Marty F.M. 2011.** *Gordonia bronchialis* bacteremia and pleural infection: case report and review of the literature. J. Clin. Microbiol. 49(4): 1662–1666.
- **Hung Y., Cui Q., Wang L., Rodriguez C., Quintana E., Goodfellow M, and Lui Z., 2004.** *Streptacidiphilus jiangxiensis* sp. nov., a novel actinomycetes isolated from acidic rhizosphere soil in China. Antonie van Leeuwenhoek, 86:156-165

Références bibliographiques

- **Hwang B. K., Lim S.W., Kim B.S., Lee J.Y., Moon S.S. 2001.** Isolation In Vivo and In Vitro of Antifungal Activity of phenylacetic Acid and Sodium Phenylacetate from *Streptomyces humidus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 3739-3745.

• I

- **Igarashi, I. 2004.** Screening of novel bioactive compounds from plant-associated actinomycetes. *Actinomycetol.* **18** (2): 63-66.
- **Iida, T., Moteki, Y., Nakamura, K., Tagushi, K., Otagiri, M., Asanuma, M., Dohmae, N., Usami, R. and Kudo, T., 2009.** Functional expression of three rieske non-heme iron oxygenases derived from actinomycetes in *Rhodococcus* species for investigation of their degradation capabilities of dibenzofuran and chlorinated dioxins. *Biosci Biotechnol Biochem* 73, 822-827.
- **Ishiyama, D., D. Vujaklija et J. Davies. 2004.** Novel pathway of salicylate degradation by *Streptomyces* sp. strain WA46. *Appl. Environ. Microbiol.* **70** (3):1297-1306.

• J

- **Janssen, D.B., Dinkla, I.J.T., Poelarends, G.J. and Terpstra, P., 2005.** Bacterial degradation of xenobiotic compounds: evolution and distribution of novel enzyme activities. *Environ Microbiol* 7, 1868-1882.
- **Jean N J., Gug .L. 2006.** microbiologie technique 1 dictionnaire des techniques 4^e edition. CRDP d'aquitaine achevé d'imprimer en Espagne P (12 26)
- **Jiang, Y., W. J. Li, P. Xu, S. K. Tang et L. H. Xu. 2005.** Study on diversity of actinomycetes salt and alkaline environments. *Wei Sheng Wu Xue Bae.* **46**: 191-195.
- **Jihani Siham, 2013.** Isolement et identification moléculaire de souches d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de biotopes marocains et caractérisation partielle des principes actifs. DART-Europe E-thèses Portal.
- **Jinenez J. T., Sturdikova M., Sturdik E. 2009.** Natural products of marine origin and their perspectives in the discovery of new anticancer drugs. *Acta chimica Slovaca.* 2:63-74.

• K

Références bibliographiques

- **Keyeo, F., O. Noor Ai'shah, et H. G. Amir. 2011.** The effects of nitrogen fixation activity and phytohormones production of diazotroph in promoting growth of rice seedlings. *Biotech.* **10**: 1-7.
- **Kitouni M. 2007.** Isolement des bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat. Université de Mantouri Constantine, Algérie (39-54).
- **Kumar S.Tamura K.Jakobsen I.B.and Nei M.1999.** MeGA2 :Molécular evolutionary genetics analysis software.*Bioinformatics.*Vol 17.1244-1245

• L

- **Label B., Soussy C.J. 2010.** Résistance bactérienne aux ATB, Ed : Springer
- **Larpent JP, Sanglier JJ. 1989.** Biotechnologie des antibiotiques. Paris: Ed. Mas lignocelluloses by two *Streptomyces* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* **42**(2): 378-
- **Lee J. Y and Hwang B.K. 2002.** Diversity of antifungal actinomycetes of various vegetative soils of Korea. *Can. J. Microbiol.*48.407-414.
- **Liu S., Liu S. Y., Lu Z. X. 2007.** Antibacterial activity and property of the fermentation product of marine *Streptomyces* sp GB-2. *Chinese Journal of Biotechnology.* 23: 1077-1081
- **Lozniewski A., Rabaud C. 2010.** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Nancy: CCLIN Sud-Est-juillet
- **Lozniewski a., Rabaud c., Nancy. 2010.** Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux– Infections associées aux soins (CCLIN Sud-Est).

• M

- **Maier R. M., Pepper I. L., Gerba C. P. 2009.** Environmental Microbiology. Academic Press: London. P. (598)
- **Martinkova, L. et Milerova,V., 2003.** Synthetic applications of nitrile-converting enzymes. *Curr Org Chem* 7, 1279-1295
- **Martinkova, L., Vejvoda, V. et Kren, V., 2008.** Selection and screening for enzymes of nitrile metabolism. *J Biotechnol* 133, 318–326.

Références bibliographiques

- **Matsukawa, E., Y. Nakagawa, Y. Limura et M. Hayakawa. 2007.** Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. *Actinomycetol.* **21**: 32-39.
 - **Michael T. M., John M.m.2007** Biologie des micro-organismes PUBLIE PAR PEARSON E DUCATION France .11^e éducation. P (395 396)
 - **Moreira, K.A., buquerque, B.F., Teixeira, M.F.S., Porto, A.L.F. and Lima, J.L., 2002.** Application of protease from *Nocardiosis* sp. as a laundry detergent additive. *World J Microbiol Biotechnol* **18**, 307-312.
 - **Moumeni S, Hanneche A .2015.** Isolement de souches actinomycetales à partir de sols rhizosphériques et de sebka : mise en évidence de l'activité antimicrobienne memore
Présenté pour l'obtention du diplôme de MASTERUNIVERSITE ABBES LAGHROUR-KHENCHELA
 - **Mukai A., Fukai T., Matsumo Y., Ishakawa J., Hoshino Y., Yazawa K , Tansvalencin Z. 2006.** a new antimicrobial compound with salicyclic acid residue from *Nocardia transvalensis* IFM 10065. *The Journal of Antibiotics.* **59**: 366-9.
 - **Muller, G., B. F. Matzanke et K. N. Reymond. 1984.** Iron transport in *Streptomyces pilosus* mediated by ferrichrome siderophores, rhodotorulic acid, and enantionrhodotorulic acid. *J. Bacteriol.* **160**: 313-318.
- N
- **Nanjani.S.G et soni.H.P.2011.** isolation and characterization of extremly halotolerant and halophilic organisms form dwark and veraval .*Bioinformation.* vol :1N :1P (1-15)
 - **Narayana, K. J. P., P. Prabhakar, P. S. J. Krishna, Y. Venketeswarlu et M.Vijayalakshmi. 2009.** Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces albidoflavus*. *J. Biol. Res.-Thessaloniki.* **11**:P (49-55).
- O
- **Oskay M., Tamer A. and Azeri C., 2004.** Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afr J Biotechnol.*, **3**(9), 441–446.
- P
- **Patke, D. et Dey, S., 1989.** Proteolytic activity from a thermophilic *Streptomyces megasporus* strain SDP4. *Lett Appl Microbiol* **26**, 171-174.

Références bibliographiques

- **Perrig, D., M. L. Boiero, O. A. Masciarelli, C. Penna, O. Ruiz, F. D. Cassan et M.V. Luna. 2007.** Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Appl. Microbiol. Biotech.* **75** (5): 1143-1150.
- **Petrosan, P., M. Garcia-Varela, M. Luz-Madrigal. C. Huitron et M. E. Flores. 2003.** *Streptomyces mexicans* sp. Nov. *Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**: 269-273.
- **Prakash A., Satyanarayana T., Johri B. N. 2012.** *Microorganisms in Environmental Management.* Springer. 819 pp.
- **Prescott.L.M, Harley.J.P, Kleie.D.A.2003.** *Microbiologie.* De Boeck :Buuxelles.2eme édition P(539)
- **Prescott.L.M, Harley.J.P, Kleie.D.A.2010.** *Microbiologie.* De Boeck : Buuxelles.2eme édition P (1088).

• R

- **Rakotoarimanga. N, Zananirina J, Ramamonjisoa D et Ramanankierana H (2014).** Lutte biologique antifongique : actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum* L., 1753) pourri, Afrique *SCI* **10**(3) 243 –255.
- **Rangaswami.G.Bagyaraj.D.J.Bagyaraj.D.G.2004.** *Agricultural Microbiology PHI* :New Dlhi.P(440)
- **Rugthaworn, P. U. Dillokkunanant, S. Sangchote, N. Piadang et V.Kitpreechavanich. 2007.** A search and improvement of actinomycetes strains for biological control of plant pathogens. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. **41**: 248-254.

• S

- **Sahu, M. K., K. Sivakumar, T. Thangaradjou et L. Kannan. 2007.** Phosphate solubilizing actinomycetes in the estuarine environment: An inventory. *J. Environ Biol.* **28**(4): 795-798.
- **Saker Rafika .2015.** Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse de Doctorat 3 ème cycle. Université Farhat Abbas Sétif.P(173)

Références bibliographiques

- **Samaoui S. 2010.** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. France. P (5-8), (13).
- **Shirling E.B., Gottlieb O.1966.** Methods for characterization of *Streptomyces* species, Int. jour. Of .Sust.Bacteriology., 16:P(313-340).
- **Simon.P,Meunier R.1970.** Microbiologie industrielle et génie biochimique- Masson et Cie éditeurs .P(553).
- **Sobti s., 2013.** Isolement des bactéries telluriques résistantes aux effets de salinité .P (.03-04).
- **Sommer, P., C. Bormann et F. Cötzt. 1997.** Genetic and biochemical characterization of a new extracellular lipase from *Streptomyces cinnamomeus*. Appl. Environ.Microbiol. **63**(9): 3553-3560.
- **Sridevi, M., , K. G. Kumar et K. V. Mallaiah. 2008.** Production of catechol-type of siderophores by *Rhizobium* sp. isolated from stem nodules of *Sesbania procumbens* (Roxb.) W and A. Res. J. Microbiol. **03**(4): 282-287.
- **Sturdikova M., Sturdik E., 2009.** Natural products of marine origin and their perspectives in the discovery of new anticancer. Acta Chgmica Slovaca. 2: 63-74.

• T

- **Thais D, Mendes. Warley S, Borges, Andre R, Scott E. Solomon, Paulo C, Vieira,Marta C. T, Duarte, Fernando C and Pagnocca. 2013.** Anti-Candida Properties ofUrauchimycins from Actinobacteria Associated with Trachymyrmex Ants. BioMed .Res.Int.http://dx.doi.org/10.1155/2013/835081
- **Tokala, R. K., J. I. Strap, C. M. Jung, D. L. Crawford, M. H. S. Love, L. A Deoblad, J. F. Bailey et M. J. Morra. 2002.** Novel plant-microbe rhizospher interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). Appl Environ.Microbiol. **68**: 2161-2171.
- **Torres R, RamoN F, de la mata I, Acebal C, CastilloN MP. 1991.** Enhanced production of penicillin V acylase from *Streptomyces lavendulae*. Appl Microbiol Biotechnol.;**53**:81-4.
- **Tortora G.J., Funke B.R, Case C.L. 2003.** Introduction à la microbiologie. Ed : Renouveau pédagogique.

• V

Références bibliographiques

- **Valli S., Suvathi S.S., Aysha. O.S., Nirmala ., Vinoth K.P, Reena A. 2012.** Antimicrobial potential of Actinomycetes species isolated from marine environment. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 469-473.
- **Vimal, V., B. M. Rajan et K. Kannabira. 2009.** Antimicrobial activity of marine actinomycete, *Nocardiopsis* sp. VITSVK 5 (FJ973467). Asian J. Med. Sci. **01**: 57-63.
- **Virginie, 2010** des mécanismes de résistance aux antibiotiques
 - **W**
- **Wang L., Huang L., Liu Z, Goodfellow M. and Rodrriguez C. 2006.** Streptaciphidilus oryzae sp. novo., an actinomycete isolated from rice field soil in Thailand. Int. J. Sys. Env.Microbiol. p 56.1257-1261.
- **Whitelaw, M. A. 2000.** Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. Adv. Agron. **69**: 99-144.
- **Winter, B., A. Fiechter et W. Zimmermann. 1991.** Degradation of organochlorine compounds in spent sulfite bleach plant effluents by actinomycetes. Appl. Environ Microbiol. **57**(10): 2858-2863.
 - **Y**
- **Yadav, J., J. Prakash et K. N. Tiwari. 2011.** Plant growth promoting activities of fungi and their effect on chickpea plant growth. Asian. J. Biol. Sci. **04** (3): 291-299.
- **Yala D, Merad A.S, Mohamedi D et Ouar Korich M.N .2001.** Resistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb N°91
 - **Z**
- **Zerizer H. 2014 .** Les genres d'actinomycètes (hors mycobactéries) impliqués dans les infections dans la région de Constantine, Thèse de Doctorat. Université Constantine 1, P (4)

Table des matières

Résumé

Liste des figures.....I

Liste des Photographies.....II

Liste des tableaux.....III

Liste des abréviations.....IV

Introduction 1

Revuebibliographique

Chapitre I: les actinomycètes

1.Définition et propriétés générales des actinomycètes..... 3

2.Ecologie 3

3.Morphologie..... 4

4. Cycle de développement des actinomycètes (exemple type : Streptomyces spp)..... 7

5. Physiologie..... 8

5.1. Le taux d'humidité..... 9

5.2 La température..... 9

5.3 Le pH..... 9

5.4. Le rapports avec l'oxygène..... 9

5. 5. La Matière organique 9

5.6 Tolérance en NaCl..... 9

6 Principaux domaines d'utilisation des actinobactéries	10
6.1. La production d'enzymes	10
6.2. Production d'antibiotiques	10
6.3. Production de l'acide indole acétique (AIA)	14
6.4 La solubilisation des phosphates	14
6.5. La production de sidérophores	15
6.6. Autres intérêts	15

Chapitre II : Les antibiotiques

1. Historique	17
2. Définition	17
3. Modes d'action des antibiotiques	18
a. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane	18
c. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques et de leurs précurseurs	18
4. Classification des antibiotiques	19
5. Les antibiotiques produits par les actinomycètes	23
6. Résistance aux antibiotiques	24
6. a. La résistance naturelle	24
6. b. Résistance acquise	25
6. c. La "Multirésistance"	25
6. d. Principaux mécanismes de résistance	25

Matériel et méthodes

1. Souches d'actinomycètes utilisées	27
2. Revivification des souches	27
3. Préparation des milieux de culture	27
4. Activité antibactérienne	27

4.1. Caractéristiques des souches tests	28
4.2. Préparation des inocula de bactéries-tests.....	29
4.3. Préparation des cylindres d'agar.....	29
4.4. Préparation des boîtes de Pétri contenant les souches tests.....	29
4.5. Technique des disques d'agar	29
4.6. Lecture.....	29
5. Activité antifongique	30
5.1. Préparation des inocula fongiques calibrés	30
5.2. Technique des cylindres d'agar.	30
5.3. Lecture.....	31
Résultats et discussion	
1. Revivification des souches d'actinomycètes	32
2. Etude des activités antimicrobiennes (méthode des cylindres d'agar).....	33
2.1. Activités antibactériennes.....	33
2.2. Activité antifongique	36
Conclusion et perspectives.....	40
Références bibliographiques	41
Annexe	

Liste des figures

Figure 1: Observation par microscopie électronique à balayage des types fragmentaires et permanent du mycélium des actinomycètes.....	5
Figure 2 : Différentes chaînes de spores chez les actinomycètes ; spores endogènes et spores exogènes	6
Figure 3 : Les classes morphologiques de <i>Streptomyces</i> cultivé en milieu liquide	7
Figure 4 : Étapes de développement et structures d'une colonie d'actinomycètes (genre <i>Streptomyces</i>) sur milieu solide	8
Figure 5 : Répartition de production des antibiotiques entre les actinomycètes, les champignons, et d'autres bactéries non filamenteuses	11
Figure 6 : Modes d'action des antibiotiques	19
Figure 7: Représentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	26

Liste des Photographies

Photographie 1 : Aspect des colonies de certains isolats d'actinomycètes, cultivés sur milieu GLM.....	32
Photographie 2 : Activités antimicrobiennes de la souche S16 sur <i>Citrobacter sp.</i>	33
Photographie 3 : Activité antifongique sur <i>Fusarium oxysporum</i>	38
Photographie:4 : Activité antifongique des isolats d'actinomycètes contre <i>Aspergillus niger</i> ...	39

Liste des tableaux

Tableau 1: Habitats de certains actinomycètes	3
Tableau 2 : Exemples d'antibiotiques produits par des actinomycètes	11
Tableau 3 : classification générale propriétés et origines des antibiotique à usage thérapeutique	20
Tableau 4 : Antibiotiques bactéricides et Antibiotiques bactériostatiques.	23
Tableau 5 : Les antibiotiques produits par les actinomycètes.....	23
Tableau 6: Résultats des activités antibactériennes des actinomycètes contre les bactéries Gram négatif.....	34
Tableau 7 : Résultats de l'activité antimicrobienne des actinomycètes contre les bactéries Gram positif.....	35
Tableau 8: Résultats des activités antifongiques des isolats d'actinomycète contre les champignons phytopathogènes	36

Liste des abréviations

% : Pourcentage

µm : Micromètre

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ATCC : American Type Culture Collection

ATCC : American Type Culture Collection

C : Degré Celsius

E. coli: *Escherichia coli*

G- : Gram négatif

G+ : Gram positif

GC : coefficient de Chargaff

HPLC : haute performance liquide chromatographe

m : Mètre

MA : mycélium aérien

mm : Millimètre

MS : mycélium du substrat

UFC : Unité Formatrice de Colonies

Matériel

et

méthodes

Conclusion

et

perspectives

Résultats

et

discussion

Composition des milieux de culture

Milieu GLM (gélose à l'extrait de levure extrait de malt)

Extrait de levure	03g
Peptone	05g
Extrait de malt	03g
Glucose	10g
Eau distillée	1000ml

Le pH est ajusté à 7,2 puis ajouter 20g d'Agar.

Milieu ISP2 :

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10g
Glucose	4g
Eau distillée	1000ml

Le pH est ajusté à 7,2 puis ajouter 20g d'Agar.

Gélose nutritive (GN) :

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

Un milieu de culture microbienne très favorable à la croissance bactérienne, Le pH de la G-N est de 7,2

Milieu Sabouraud

Glucose.....	40 g
Peptone.....	10 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
Ph =7	

L'eau physiologie

NaCl	9g
Eau distillée	1000ml
Stérilisation à l'autoclave	

Mc Farland

Dihydrate de chlorure de baryum ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$).....	0,5 ml
Acide sulfurique.....	99,5 ml

Chapitre I:

Les

actinomycètes

Résumé

Dans le cadre de la recherche de nouveaux antibiotiques élaborés par les actinomycètes, l'étude de l'activité antibactérienne de seize souches actinomycétales d'origine saharienne a été réalisée. La technique des cylindres d'agar a été employée pour déceler l'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes vis-à-vis de souches bactériennes et fongiques pathogènes. La plupart des souches actinomycétales ont présenté une activité inhibitrice à l'égard des souches tests. Ces souches semblent être plus actives sur les bactéries à Gram négatif que sur les bactéries à Gram positif et les diamètres des zones d'inhibition varient entre 11 et 30 mm. Vis-à-vis de *Citrobacter sp* environ 81,25 % des isolats, ont une activité antibactérienne. Cependant, contre *Bacillus cereus* 100% des actinomycètes n'ont pas d'activité antibiotique. *Morganilla sp* est la bactérie qui présente une certaine résistance aux molécules produites par l'ensemble des isolats. L'antagonisme des isolats d'actinomycètes testés contre les champignons est très rare par rapport à l'activité antibactérienne.

Les actinomycètes telluriques des zones arides peuvent donc être une source potentielle de molécules antimicrobiennes d'une grande diversité.

Mots clés : Actinomycètes, antibiotiques, sol Saharien.

Abstract

As part of the search for new antibiotics produced by actinomycetes, study of the antibacterial activity of sixteen original Actinomycetales strains Saharan Africa was conducted. . Technical agar cylinder was used to detect the antimicrobial activity of the isolates of actinomycetes bearing to bacterial and fungal strains. Most Actinomycetales strains showed inhibitory activity against test strains. The Actinomycetales strains appear to be more active on Gram-negative bacteria on Gram positive and the diameters of inhibition zones vary between 11 and 30 mm. bearing to *Citrobacter sp* approximately 81.25% of the isolates, have antibacterial activity. Against *Bacillus cereus* 100% actinomycetes have a negative activity. *Morganilla sp* is the bacterium that has a certain resistance to molecules produced by all of the isolates. Antagonism actinomycetes isolates tested against fungi is very rare according to antibacterial activity.

Terrestrial actinomycetes drylands can be a potential source of antimicrobial molecular of great diversity. The number and the activity of microorganisms vary from one region to another.

Keywords: actinomycetes , antibiotics Saharan soil .

ملخص

في إطار البحث عن المضادات الحيوية الجديدة التي تنتجها الاكتينومييسات، قد أجريت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من ستة عشر سلالة الاكتينومييسات من صحراء جنوب أفريقيا . واستخدمت اسطوانة أجار كتقنية للكشف عن نشاط مضادات الميكروبات من طرف الاكتينومييسات المعزولة وجها لوجه السلالات البكتيرية والفطرية. وأظهرت معظم سلالات الاكتينومييسات فاعلية ضد سلالات الاختبار. تظهر معظم سلالات الاكتينومييسات نشاطا كبيرا في البكتيريا سالبة الجرام عكس البكتيريا ايجابية الغرام وأقطار التنشيط تختلف ما بين 11 و 30 ملم. وجها لوجه سيتروباكتر. تقريبا 81.25% من الاكتينومييسات المعزولة، لها نشاط مضاد للجراثيم. 100% من الاكتينومييسات المعزولة لديها النشاط السلبي ضد الباسيليس. مورقانيلا هي البكتيريا التي لديها مقاومة معينة للجزيئات التي تنتجها كل من الاكتينومييسات المعزولة . يمكن للاكتينومييسات المعزولة من الأرضية الجافة ان تكون مصدرا محتملا للجزيئات مضادة للميكروبات ذات التنوع الكبير. ونشاط الكائنات الدقيقة تختلف من منطقة إلى اخرى .

كلمات مفتاحية : اكتينومييسات ,مضاد حيوي ,تربة صحراوية.

<p>Noms et prénoms : AZIZI Amira</p> <p>BOUALI Djamila</p>	<p>Date de soutenance :</p> <p>05/06/2016</p>
<p>Master Académique en : Microbiologie générale</p>	
<p>Titre</p> <p>Aptitudes enzymatiques et activités antimicrobiennes d'une collection de souches actinomycétales</p>	
<p>Résumé</p> <p>Dans le cadre de la recherche de nouveaux antibiotiques élaborés par les actinomycètes, l'étude de l'activité antibactérienne de seize souches actinomycétales d'origine saharienne a été réalisée. La technique des cylindres d'agar a été employée pour déceler l'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes vis-à-vis de souches bactériennes et fongiques pathogènes. La plupart des souches actinomycétales ont présenté une activité inhibitrice à l'égard des souches tests. Ces souches semblent être plus actives sur les bactéries à Gram négatif que sur les bactéries à Gram positif et les diamètres des zones d'inhibition varient entre 11 et 30 mm. Vis-à-vis de <i>Citrobacter</i> sp environ 81,25 % des isolats, ont une activité antibactérienne. Cependant, contre <i>Bacillus cereus</i> 100% des actinomycètes n'ont pas d'activité antibiotique.</p> <p><i>Morganilla</i> sp est la bactérie qui présente une certaine résistance aux molécules produites par l'ensemble des isolats. L'antagonisme des isolats d'actinomycètes testés contre les champignons est très rare par rapport à l'activité antibactérienne. Les actinomycètes telluriques des zones arides peuvent donc être une source potentielle de molécules antimicrobiennes d'une grande diversité.</p>	
<p>Mots-clés: Actinomycètes, antibiotiques, sol Saharien.</p>	