



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement et de la recherche scientifique
UNIVERSITE ABBES LAGHROUR-KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT : Biologie

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

Master académique

FILIERE : Biologie moléculaire et cellulaire

OPTION : MICROBIOLOGIE

Thème

Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique de quelques souches actinomycétales

Présenter par

- HAMPLAOUI Zohra
- HAMPLAOUI Besma

Encadrer par

- LEULMI Nassima

Jury de soutenance :

Présidente : mdm DEROUICHE Fouzia (MAA) Université Abbes Laghrou de Khenchela

Promoteur : mdm LEULMI Nassima (MAA) Université Abbes Laghrou de Khenchela

Examinatrice : mdm MERABTI Rima (MAA) Université Abbes Laghrou de Khenchela

Promotion : 2014/2015



Remerciements

Je remercie avant tout Allah tout puissant de m'avoir guidé et m'aidé durant toutes mes années d'étude et de m'avoir donné la volonté, le courage et la patience pour atteindre cette étape.

Je tiens particulièrement à remercier mon encadreur LEULMI Nassima Maître de Conférences au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour ses conseils, ses commentaires et sa bienveillance. Qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude pour m'avoir guidée et aidée tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je tiens tout particulièrement à remercier la directrice de laboratoire Madame CHORFI Rafika, Professeure à l'Université Abbes Laghrour Khenchla de m'avoir accueilli et mis à ma disposition tout le matériel pour la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier aussi les professeurs DEROUICHE et MERABTI Ryma pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider ce jury, qu'elle trouve ici mes hommages les plus respectueux.

Je tiens également à remercier les personnels de laboratoire des Sciences de la Nature et de la Vie en particulier : Majida, Sara, Fatima pour leur aide précieuse et pour les nombreux services qu'ils m'ont rendus durant la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance, sans oublier tous ceux dont l'aide et les conseils m'ont été si utiles.

Je remercie mes collègues et amies pour leur soutien et plus précisément surtout Soumia AMRAN Mona , BUSLAH Fouzia , Naima , LAALAOUNA Khadidja , SABEG Khaoula, Saida , Ahlem , Besma , Sara , Amel , Hadda , Yasmina Fellah et tous pour leur aide et son amitié et ses encouragements. Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



DEDICACE



*Premièrement je dédie ma mère, à qui je dois ce que suis
devenue aujourd'hui,*

Je t'aime maman

Deuxièmes pour mon père qui donne pour moi tout l'aide

Troisièmes dédie mes sœurs Romaisa et Aya et mes frères

Khalifa et Bacem

Et sans doute je dédie mon chère mari Nacer et leur famille

Enfin tout dédicace pour toute la famille



Zohra

Dédicaces



Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et il m'a donné la force et la patience et le courage d'accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce travail, tout d'abord à mes parents qui m'ont soutenu tout au long de mes études par leur dévouement et abnégation et pour leurs amour, leurs sacrifices et leurs encouragements qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A ma sœur Sonia qui n'a jamais cessé de m'encourager pour qui je souhaite que du bonheur et la réussite pour ses études.

A mes très chers : Hakim ; hamza ; Yasser ; Abedel aàli merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A toute personne qui me connaisse et me considère comme une amie

Surtout : Mona ; Fouzia ; Saida ; Ahlam ; Sara Mercie pour leur soutien pour leur aide et son amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble

A tous mes collègues de la promotion avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant ces années.

Aux personnes qui m'ont encouragé et motivé, qui n'ont cessé d'œuvré pour ma réussite et pour mon bonheur

Pour tous mercis.



Besma

Résumé

Les actinomycètes sont des bactéries responsables de la production de la plupart des molécules bioactives.

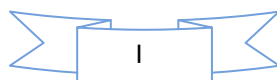
Dans ce travail, nous sommes intéressés à la recherche de molécules antibactérienne et antifongiques à partir des actinomycètes par utilisation la technique de cylindre d'Agar sur six milieux de culture différents.

Les quatre isolats d'actinomycétales isolés de la wilaya de KHANCHELA ont présenté une activité antibactérienne importante contre au moins une bactérie teste.

Ce travail a prouvé l'effet de la composition de milieu de culture sur la production des biomolécules, dont le meilleur milieu est le milieu Bennett.

En effet ces isolats possèdent activités significatif anti champignon filamenteux sauf L'isolat F10.

Mots clés: Actinomycètes, Activité antibactérienne, milieu de culture, activité antifongique



Abstract

In this work, we are interested in seeking antibacterial and antifungal molecules from actinomycetes using the agar cylinder technique on six different backgrounds.

The 04 strains of Actinomycetales KHANCHELA wilaya of forest soils showed significant antibacterial activity against at least one bacterium - test used on tous environments, the best environment for this activity is the middle Bennett.

Indeed these isolates possess anti filamentous fungus significant activities except F10 isolate.

Key words: Key words: actinomycetes; Antibacterial activity, antifungal activity,



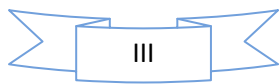
ملخص:

الاكتينومييسات عبارة عن كائنات حية دقيقة مسؤولة عن إنتاج معظم الجزيئات الفعالة. للكشف على المضادات الحيوية البكتيرية و الفطرية لهذه الاكتينومييسات قمنا باستخدام تقنية cylindre d'agar على ست أوساط زرع مختلفة حيث تمت الدراسة على 4 من الاكتينومييسات من ولاية خنشلة حيث أظهرت جميعا قدرة على إنتاج مضادات حيوية ضد واحدة على الأقل من الكائنات الحية الدقيقة المستعملة سواء كانت من البكتيريا او من الفطريات .

اذن كل هذا يدل عن وجود وسط زرع مميز لإنتاج المضادات الحيوية (Bennett) .

كل العزل المدروسة تمتلك نشاط حيوي باستثناء العزلة F10.

الكلمات المفتاحية : الفطريات الشعاعية، النشاط الحيوي، أوساط زرع.



Liste d'abréviation

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Aw : activité d'eau.

C° : degré Celsius.

g : Gramme

G+C: Coefficient de Chargaff.

G- : Gram négatif

G+ : Gram positif

ml: millilitre.

mm: millimètre

SCA: Starch Casein Agar Medium

SM : melieu synthétique

UFC: Unité Formatrice de Colonies

Liste de tableaux

Tableau n 1: Différentes valeurs de GC % rencontrées dans le groupe des Actinomycètes (Williams et al, 1989).	07
Tableau n 2: Fréquence des divers genres d'Actinomycètes dans le sol (Waksman, 1967).	11
Tableau n 3 : Répartition de quelques genres d'actinomycètes par type d'habitat (Goodfollow et Williams, 1983).	12
Tableau n 4: Importance relative des groupes microbiens producteurs d'antibiotiques (Okami, 1988).	15
Tableau n 5: Classification des antifongiques selon la cible (Geursen et al., 2008).	22
Tableau n 6 : les bactéries tests	24
Tableau n 7 : les diamètres des zones d'inhibitions des quatre isolats contre les bactéries tests a Gram + en fonctions des différents milieux utilisés.	27
Tableau n 8 : les diamètres des zones d'inhibitions des quatre isolats contre les bactéries tests a Gram - en fonctions des différents milieux utilisés	28
Tableau n 09 : pourcentage des diamètres des zones d'inhibition des quatre isolats contre <i>Fusarium oxysporum</i> .	32
Tableau n 10 : pourcentage des diamètres des zones d'inhibition des quatre isolats contre <i>Aspergillus Niger</i>	32

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide	05
Figure 2 : Une colonie du genre Streptomyces sur milieu solide	09
Figure 3: Principaux groupes d'actinomycètes	09
Figure 4: Cycle de développement des actinomycètes	10
Figure 5: Secteur angulaire montrant la répartition de production des antibiotiques entre les actinomycètes, les champignons, et d'autres bactéries non filamenteuses	14
Figure 6 : Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques	17
Figure 7: chronologie de la découverte des différents agents antifongiques	19
Figure 8: structure chimique des trois antifongiques polygéniques majeurs	21
Figure 09 : photo prise d'activités antimicrobiennes	25
Figure 10 : photo prise d'activités antifongiques	33

Introduction

Depuis des milliers d'années, les hommes utilisent des microorganismes (bactéries, levures et moisissures) pour fabriquer des produits comme le pain, la bière, le fromage, etc. Ces microorganismes, omniprésents dans notre environnement (le sol, l'air et les eaux) et dans quelques aliments que nous consommons, ne cessent d'occuper une place de plus en plus importante dans notre vie et sont actuellement à l'origine de l'essor du domaine de la biotechnologie (**Smaoui, 2010**).

Les actinomycètes, présente malgré la lenteur de leur croissance une aptitude formidable à produire de nombreuses substances antibiotiques (**Goodfellow et Williams, 1983**). Ils sont surtout connus pour leur grande faculté à produire plus de 70 % des substances actives d'origine microbienne (**Omura, 1992**) et en particulier le genre *Streptomyces* qui produit à lui seul la majorité de ces antibiotiques.

Ces dernières années, Les infections fongiques invasives, aspergillose et candidose, présentent une émergence importante, et sont généralement associées au contexte opportuniste de patients immunodéprimés, que ce soit de manière acquise (VIH), thérapeutique (immunosuppresseurs en transplantation d'organe solide et greffe de moelle (**Billaud, 2007**). *Candida albicans* et certaines espèces d'*Aspergillus* telles que *A. fumigatus*, *A. flavus* ainsi que *A. niger*, *A. nidulans* et , *A. terreus* sont notamment responsables de la majorité des mycoses invasives (**Badjjet al, 2006**).

En dépit de la longue liste des antibiotiques actuellement disponibles sur le marché et malgré l'élargissement de l'arsenal thérapeutique antifongique plus de 35 % pour les aspergilloses et les candidoses (**Gellen-Dautremeret al, 2010**). les antibiotiques antifongiques représentent un faible pourcentage (**Vicente et al, 2003**). Cependant, nombre de composés, les polyènes en particulier, ne peuvent pas être utilisés à cause de leur toxicité, à l'exemple de la néphrotoxicité non négligeable de L'amphotéricine B (**Georgopapadakou et al, 1994**). Les molécules antifongiques disponibles ne réunissent pas les critères définissant l'antibiotique idéal : toxicité spécifique vis-à-vis du champignon pathogène, bonne diffusion dans l'organisme, large spectre d'activité in vivo, absence de problèmes liés à l'apparition de souches résistantes et absence d'effets secondaires (**Lacroix et al, 2003**). C'est pour cela que les recherches actuelles de nouvelles molécules sont orientées vers l'isolement de nouvelles souches et espèces de différents écosystèmes particuliers, souvent ignorés par le passé, avec une variété de nouvelles cibles (**Cragget al., 1997**). notamment les

sols des palmeraies, des sebkha (**Zitouni *et al.*,2005**). des sources thermales ainsi que les sols salins en vue de l'obtention de nouvelles biomolécules d'attraits.

Dans la même optique, nous avons cherché à étudier des souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibiotiques et antifongiques provenant de la région de Khenchla. Cette étude se divise en quatre parties : la première partie résumera les données bibliographiques, la deuxième partie décrira les matériels et méthodes utilisés, la troisième partie exposera les résultats obtenus et la dernière partie présentera la discussion des résultats et conclusion.

*Généralité sur les
actinomycètes*

I. LES ACTINOMYCETES

Les Actinomycètes ont été isolés pour la première fois par Cohn en 1875 à partir de sources humaines (**Williams et al, 1984**). Et c'est en 1943 que S. Waksman a pu isoler un genre Actinomycète à partir du sol.

I.1. Définition des Actinomycètes

Etymologiquement, le mot Actinomycète a été dérivé des mots grecs « Aktis » qui veut dire rayon et « mykes » qui veut dire champignon. Les Actinomycètes ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactérie et champignons. Ces microorganismes présentent des similitudes avec les bactéries et avec les champignons.

I.1.1. Similitude entre Actinomycètes et champignons (Alexander)

Il existe trois points qui rapprochent les Actinomycètes des champignons : Structure mycélienne présentant des ramifications chez les Actinomycètes typiques dont les filaments ont un diamètre deux fois plus faible que ceux des champignons, d'où le terme de pseudo mycélium parfois employé pour désigner cette structure ; Formation fréquente d'un mycélium aérien et de conidies ; En culture, absence de la turbidité caractéristique des bactéries unicellulaires et apparition des amas de cellules.

I.1.2. Similitude entre Actinomycètes et bactéries

D'autres caractères rapprochent les Actinomycètes des bactéries : Ils sont procaryote, La morphologie typiquement bactérienne chez les formes simple (Mycobacteriacées), La sensibilité aux attaques virales.

I.2. Caractéristiques générales

Les Actinomycètes sont des bactéries, à coloration de Gram positive (**Nanjwad et al., 2010**). Taux élevés de (G+C) de leur ADN compris entre 60-70 % (**Larpen, 1989**), formant des filaments minces et ramifiés, lorsqu'ils évoluent sur un substrat solide, comme la gélose, ils se développent à la fois sur la surface et à l'intérieur de celui-ci (**Prescott, 2010**) et développer dans des endroits où l'activité de l'eau (aw) est très basse (**Davies et Williams, 1970, Goodfellow et Williams, 1983**). Mais leur croissance est plus lente (7 à 28 jours) que celle des autres bactéries (24 heures). La plupart des Actinomycètes aérobies sont saprophytes à développement mycélien, il existe des formes anaérobies ou sans mycélium évident, généralement pathogènes (**Goodfellow et al, 1983**). La reproduction des Actinomycètes peut s'opérer suivant trois modes : fragmentation pseudo bactérienne, production de conidies, production de sporanges.

Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin, ils sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérants des températures avoisinant les 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C (**Omura, 1992**).

I.3. Morphologie

Morphologiquement on peut rencontrer, en plus des filaments ramifiés, des bacilles et aussi des coccobacilles comme *Rhodococcus* et *Mycobactérium* (**Avril & al, 1992**). Dans certains cas, seul le mycélium de substrat est formé, tandis que dans le cas le plus extrême il y a formation uniquement de mycélium¹ aérien, comme chez les *Sporichthya* (**Falkow, 2006**). Les filaments mycéliens peuvent produire des spores, soit uniques (exp : *Micromonospora*), soit en chaînes (exp : *Streptomyces*), soit groupées dans des sporanges (exp : *Actinoplan*).

L'analyse par image des actinomycètes révèle la présence de deux catégories d'hyphes : Les hyphes dispersés et les hyphes en pellets. Dans les hyphes dispersés, la forme "Freely dispersed" et les "mycelial clumps" sont rencontrées. La première forme c'est des hyphes indépendants dispersés, la seconde est une masse ou agrégats de mycélium. Les actinomycètes donnant des hyphes en pellets, posent en fermentation des problèmes de limitation de diffusion de l'oxygène et des nutriments à travers l'hyphe. Ceci engendre une diminution de la croissance et peut conduire à une autolyse. Ce point doit être pris en considération, pour éviter ce genre de problème lors des fermentations industrielles. Heureusement, pour plusieurs souches productrices de métabolites secondaire, la forme "Clups" ou masse est la prédominante dans les fermenteurs (90% des cas) (**Perry et al., 2004**).

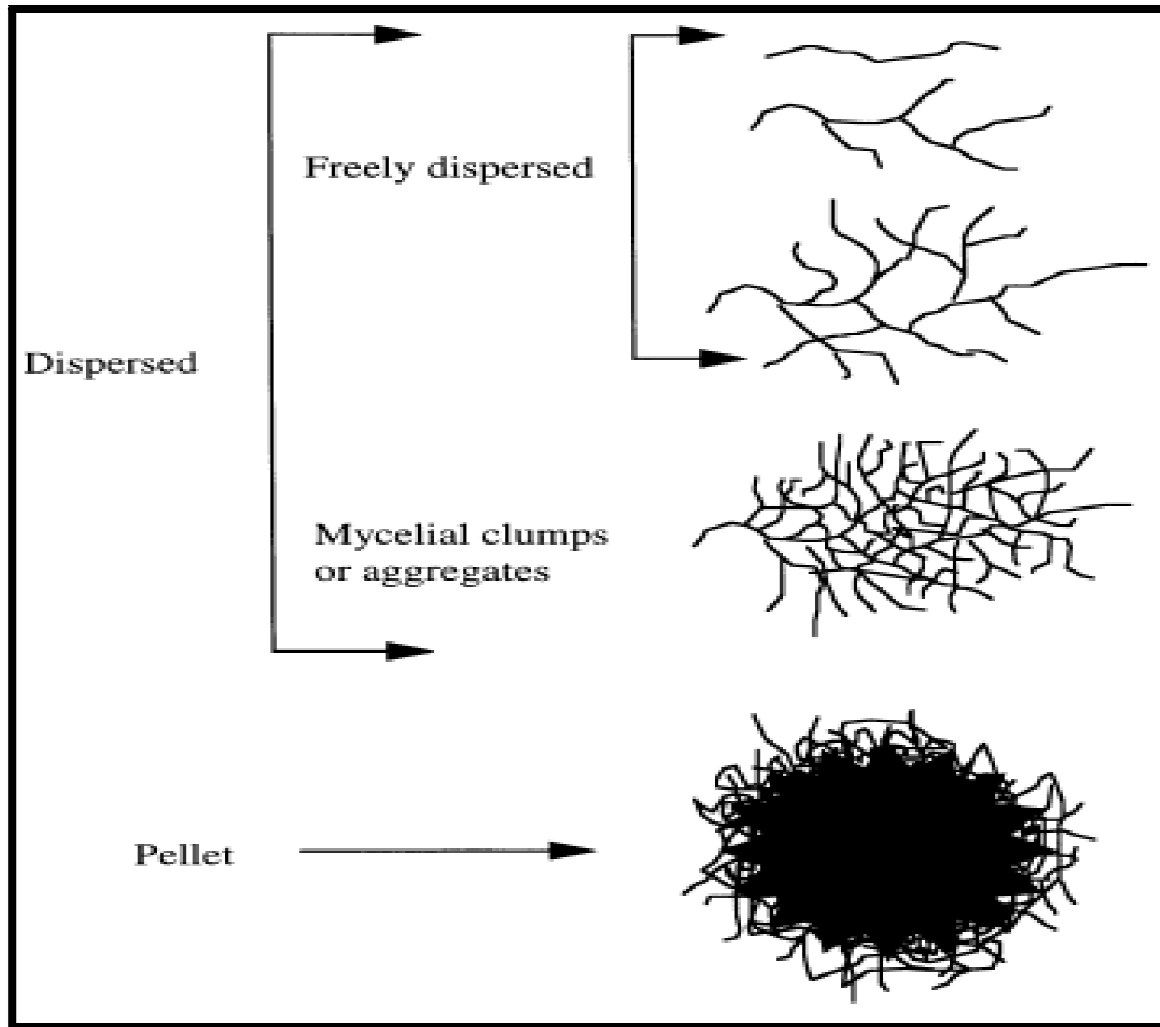


Figure1 : Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide (Almaris, 2007).

I.4. Physiologie et métabolisme des actinomycètes

Les Actinomycètes sont aérobies plus rarement anaérobies, les premiers à métabolisme oxydatif représentent les espèces telluriques, les seconds à métabolisme fermentatif correspondant aux espèces parasites saprophytes de la cavité buccale des organismes hétérotrophes, qui ont des exigences réduites et tirent leur énergie à partir d'une source très variée de substrats azotés et carbonés. En conséquence, ils sont très largement distribués dans la nature. De nombreuses espèces sont fortement protéolytiques et agarolytiques (Hsu et Lockwood, 1975).

Les Actinomycètes sont fréquemment bactériolytiques grâce à des enzymes hydrolytiques capables de fragmenter les peptides de la paroi, leurs propriétés antimicrobiennes sont aussi bien connues et un bon nombre d'antibiotique sont produits lors de leur croissance. L'équipement enzymatique des actinomycètes est très diversifiés, il est à l'origine du rôle écologique majeur de ces organismes. Leurs variétés et leur importance

quantitative, dépendent de nombreux facteurs comme le pH, la matière organique, les saisons, traitement agricole, etc.

I.5 .Thermo résistance des spores

En générale, la plus part des spores d'actinomycètes comme par exemple les *Streptomyces* ne résistent pas à des températures supérieures à 50°C en chaleur humide et à 70°C en température sèche (**Larpent et al,1989**). Il existe cependant plusieurs autres espèces qui résistent à des températures plus élevées (**El-Nakeeb et Lechevalier, 1963**). C'est le cas de l'espèce *Actinomyces invulnerabilis*, que les spores ne se détruisent qu'à une température de 130°C, le traitement à 120°C inhibe seulement leur germination. Les spores des genres thermophiles tel que *Thermoactinomyces*, *Saccharomonospora*, ou thermotolérants tel que *Pseudonocardia*, *Microbispora*, etc., sont également résistantes à des températures élevées.

I.6. Génétique et structure de l'ADN

La taille de l'ADN des actinomycètes est de 3.7 Méga Daltons c'est à dire deux fois celui de *Escherichia coli*, la durée de répllication de l'ADN est de 50 à 65 minutes. Les bactéries *actinomycétales* possèdent un remarquable degré de variabilité génétique due à des réarrangements du génome à cause de plusieurs types de mutations essentiellement chromosomiques, les plasmides peuvent aussi être sujets à des réarrangements. A la suite de croisements des actinomycètes, des parties du chromosome de la souche donneuse peuvent Devenir plasmides dans la souche receveuse. Ces derniers jouent un rôle de régulation dans la synthèse des antibiotiques. Il est rare de trouver des gènes codant pour la biosynthèse d'antibiotiques localisés sur le plasmide. Ils sont normalement chromosomiques, regroupés en plusieurs unités de transcription, ils ont pour voisinage des gènes de régulation spécifiques (**Larpent et al., 1989**).

Les genres d'actinomycètes peuvent être définis par l'étude du coefficient de Chargaff ou GC % (**Tab. 1**), qui représente le nombre de paires de base Guanine Cytosine pour 100 paires de base dans l'ADN, les espèces ne sont pas identifiées par cette technique.

Tableau 1 : Différentes valeurs de GC % rencontrées dans le groupe des actinomycètes (Williams et al, 1989).

Genre	G+C %
<i>Actinomadura</i>	64 à 69
<i>Nocardia</i>	64 à 72
<i>Streptomyces</i>	69 à 78
<i>Micromonospora</i>	71 à 73
<i>Actinoplanes</i>	72 à 73
<i>Actinopolyspora</i>	64
<i>Agromyces</i>	71 à 77
<i>Frankia</i>	66 à 71
<i>Glycomyces</i>	71 à 73
<i>Nocardiopsis</i>	64 à 69
<i>Rodococcus</i>	63 à 72
<i>Streptosporagium</i>	69 à 71
<i>Streptoverticilium</i>	69 à 73
<i>Thermoactinomyces</i>	53 à 55

I.7 Structure pariétale

Les parois cellulaires des actinomycètes sont extraordinairement variées, cependant parmi les groupes, les parois ont souvent une composition constante conférant un rôle majeur dans la taxonomie de ces bactéries. L'étude de la paroi cellulaire des actinomycètes, montre qu'elle ne renferme ni chitine ni cellulose elle est composée soit de :

- Glycoprotéine contenant de la lysine (ce type de paroi est rencontré chez la forme fermentative).
- Glycoprotéine contenant le plus souvent l'acide diaminopimélique (DAP), ce type de paroi se rencontre chez les formes oxydatives.

I.8 Classification des Actinomycètes

Il est basée sur plusieurs critères : morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires. La taxonomie des actinomycètes fut marquée par quatre périodes essentielles dont chacune a apporté de nouveaux critères de classification (Berdy, 2005).

I.8.1. Mycobacteriacées

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

I.8.2. Actinomycétacées (ou Pro-Actinomycètes)

Cette famille est représentée par les genres *Nocardia* et *Actinomyces*. Le genre *Nocardia* comprend de nombreuses espèces très répandues dans le sol. Les colonies, difficiles à distinguer des colonies bactériennes. Le genre *Actinomyces* ne présente aucun intérêt en microbiologie du sol (**Alexander, 1961**).

I.8.3. Streptomycétacées

Il existe deux genres dans cette famille : *Streptomyces* et *Micromonospora*. Le genre *Streptomyces* renferme plusieurs espèces très répandues dans le sol. Il se reproduit par des conidies en chaîne. L'examen des colonies de *Streptomyces* permet de discerner :

- Le mycélium végétatif très serré, implanté dans le milieu auquel il adhère.
- Le mycélium aérien, lâche, d'aspect poudreux, formé d'hyphes portant à leur extrémité des conidies (**Williams, 1978**).

Le genre *Micromonospora* renferme plusieurs espèces dont la plupart sont thermophiles, et se développent surtout dans les fumiers.

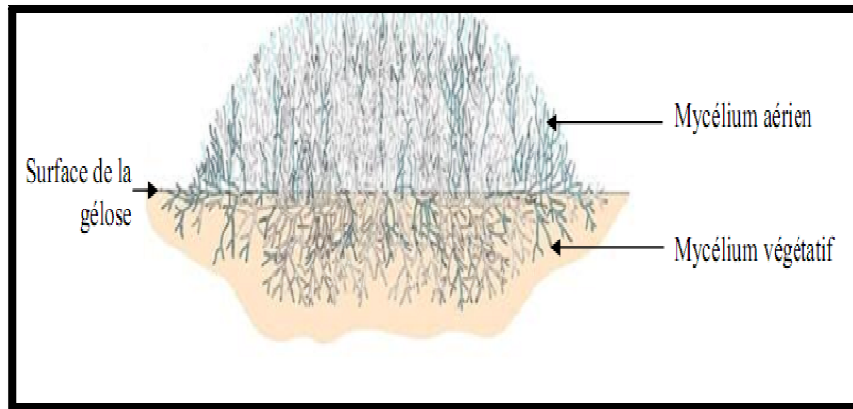


Figure 02 : Une colonie du genre *Streptomyces* solide (Dvorak, 1999).

I.8.4 .Actinoplanacées

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

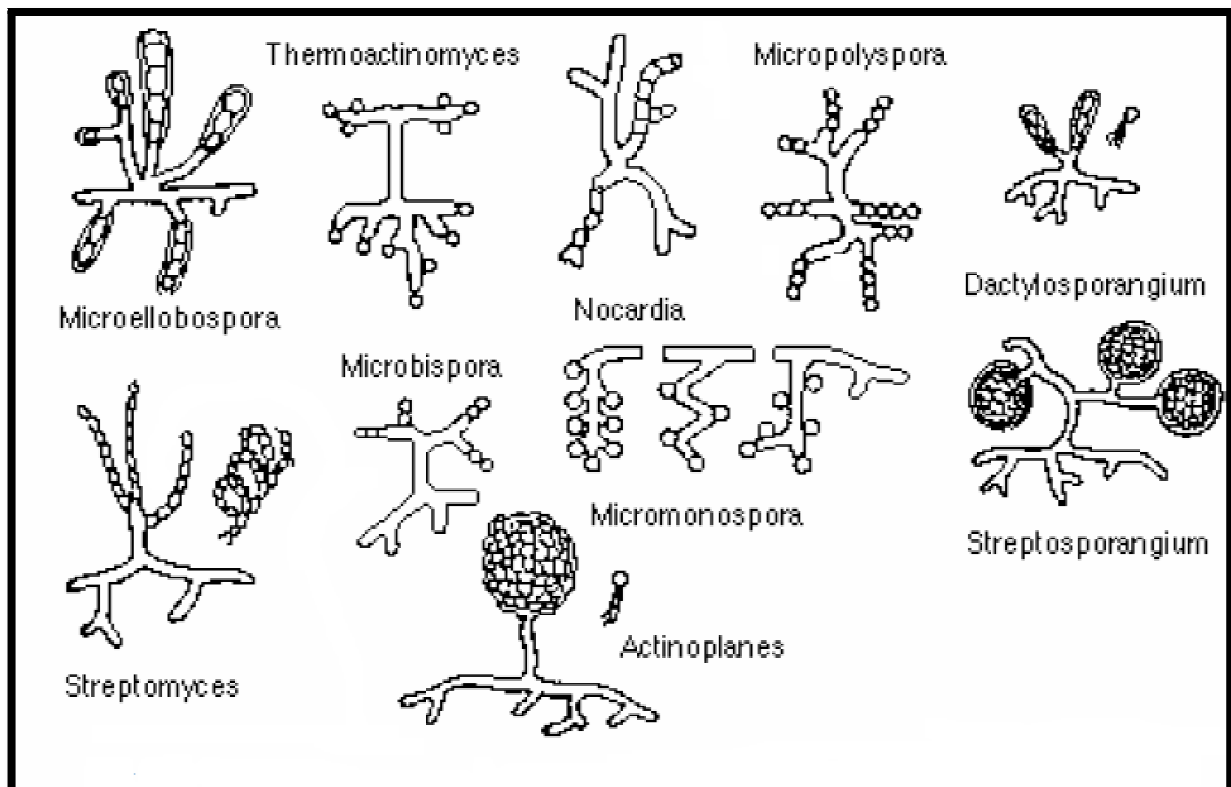


Figure03: Principaux groupes d'actinomycètes (Stanier, 1966).

I.9.Ecologie des actinomycètes et distribution dans la nature

I.9.1. Ecologie des actinomycètes

Les actinomycètes sont très largement distribués dans la nature et principalement dans les sols de différentes natures (Tab .1). Ils ont été trouvés dans les eaux douces ou salées, dans les compostes, dans l'atmosphère et dans les substrats les plus divers.

Les actinomycètes sont généralement plus nombreux que les champignons, mais moins abondants que les autres bactéries. Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin, ils sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérants des températures avoisinant 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C (**Goodfellow et Williams 1983**)

I.9.2 Cycle de vie

Le cycle de vie de nombreux actinomycètes commence par la germination des spores (**Figure 04**), processus qui nécessite la présence des ions de calcium. Cette germination donne naissance à un mycélium primaire ramifié (**O'Gara & al, 2008**). Un mycélium aérien vient 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-là que les composés médicalement utiles sont synthétisés, et on les appelle métabolites secondaires (**Smaoui, 2010**) l'extrémité du mycélium aérien se forme des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores, ces spores naissent par séptation du mycélium primaire habituellement en réponse à un stress de l'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 & al, 2010**).

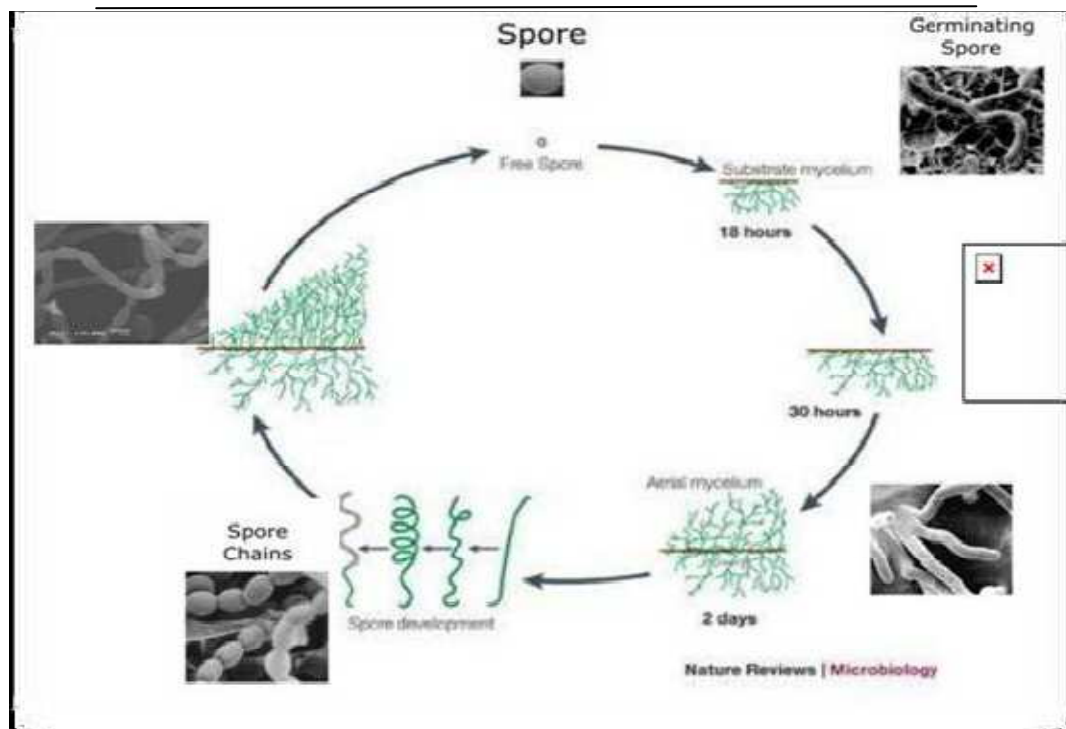


Figure 04: Cycle de développement des actinomycètes (**Breton & al, 1989**).

I.9.3. Distribution dans la nature

Les actinomycètes sont largement répandus dans le monde. Leur nombre dépend de nombreux facteurs, dont la nature et l'abondance de la matière organique, la profondeur, le pH, l'aération et l'humidité (**Theilleux, 1993**).

I.9.3-1 Les sols

Dans le sol, ils sont présents depuis la surface jusqu'à plus de 2 mètres de profondeur. Le nombre de ces microorganismes atteint d'après (**Goodfellow et Williams, 1983**) généralement les 106 germes par gramme de sol séché. Le rapport Microorganisme totaux / Actinomycètes, diminue au fur et à mesure que la profondeur augmente. Selon ce même auteur, alors que la couche superficielle contient au moins 80 % de bactéries actinomycétales, par rapport au nombre total de microorganismes, la couche située à une profondeur de 80 centimètre ne contient que (40%) ou beaucoup moins jusqu'à seulement 16 % D'après (**Waksman, 1967**).

Tableau 2 : Fréquence des divers genres d'Actinomycètes dans le sol (**Waksman, 1967**).

Genre	Pourcentages
<i>Streptomyces</i>	95,34
<i>Nocardia</i>	1,98
<i>Micromonospora</i>	1,4
<i>Thermomonospora</i>	0,22
<i>Actinoplanes</i>	0,2
<i>Microbispora</i>	0,18
<i>Mycobacterium</i>	0,14
<i>Streptosporagium</i>	0,10
<i>Actinomadura</i>	0,10
<i>Microspolyspora</i>	0,10
<i>Pseudonocardia</i>	0,06
<i>Microellobosporia</i>	0,04

I.9.3.2 .Le milieu marin

Certaines souches d'actinomycètes ont été retrouvées dans des environnements marins (**Imada et al, 2007**). Dans des sédiments situés à plus de 4000 m de profondeur (**Khatabi et al., 2002**). Ils sont présents dans les fonds fluviaux ou lacustres, température optimale faible ; (**Larpent et Sanglier, 1989**). Les actinomycètes sont également présents dans les lacs

extrêmement alcalins, les lacs salés, en revanche il semblerait qu'ils sont absents dans les eaux minières très acides, et les sources thermales très chaudes d'origine volcaniques (**Lechevalier, 1981**).

I.9.3.3 Air

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

Tableau 3 : Répartition de quelques genres d'actinomycètes par type d'habitat (**Goodfellow et Williams, 1983**).

Genre	Habitat
<i>Actinomadura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, Eau, Litière
<i>Frankia</i>	Nodules des racines
<i>Microbiospora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, Eau
<i>Rhodococcus</i>	SOL, Eau, Fumier, Litière, Matière en décomposition
<i>Saccharomonospora</i>	Sol, Eau, Litière
<i>Streptomyces</i>	Sol, Eau
<i>Streptosporangium</i>	Matière En Décomposition Et en Fermentation

I.10. Importance des actinomycètes

I.10.1 Importance en agronomie

Les actinomycètes représentent un pourcentage élevé de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété d'hydrolases extracellulaires, qui leur confèrent un rôle dans la décomposition de la matière organique dans le sol, les actinomycètes apparaissent avoir de l'importance parmi la microflore de la rhizosphère comme Le genre *Frankia* est très connu en foresterie pour son rôle dans la fixation d'azote atmosphérique en symbiose dans les nodules racinaires de certains arbres dicotylédones (autres que les légumineuses) comme le casuarina, l'orme, l'aulne, etc. (**Becking, 1974**).

Leur pouvoir antagoniste prononcé leur confère un rôle dans la distribution écologique des microorganismes et dans la lutte biologique contre certains agents phytopathogènes du sol (**Goodfellow et Williams, 1983**). Les actinomycètes ont un rôle important dans les processus de recyclage et de biodégradation de la matière organique et des éléments minéraux et

contribuent ainsi à la fertilisation des sols (**Goodfellow et al., 1984**). Ils ont un grand pouvoir de transformation des substances organiques complexes difficilement ou non dégradables par les autres microorganismes, tels que les polymères complexes, les polysaccharides, les lignocelluloses, la chitine, etc (**Lechevalier, 1981; Goodfellow et Williams, 1983**). Ils sont aussi capables de dégrader certaines toxines produites par des champignons toxigènes et réduire aussi leur teneur dans les produits finaux en agro-alimentaire (**Holzappel et al., 2002**).

I.10.2 Importance en biotechnologie

L'hétérogénéité biochimique des actinomycètes, leur diversité écologique et leur exceptionnelle capacité à produire des métabolites secondaires font d'eux des producteurs potentiels de nombreux composés intéressants en industrie pharmaceutique et alimentaire (**Abbas, 2006**). Les actinomycètes gagnent en importance, car c'est la plus importante source de production d'antibiotiques et autres métabolites secondaires bioactifs (**Valanarasu et al., 2009**), ce qui fait d'eux des producteurs intéressants en industrie pharmaceutique. Ainsi de nombreux métabolites sont synthétisés qui peuvent être des : antibiotiques, enzymes telles que les enzymes alcalines (**Li et al. ,2005**), les transglutaminases, les xylanases et cellulases utilisées dans le traitement des sous-produits (**Rawashdeh et al. ,2005**), des inhibiteurs d'enzymes, des vitamines, des immunomodulateurs (**Badji, 2006**), des herbicides, des pesticides ou des antiparasitaires (**Oskay et al ., 2004**).

Parmi les molécules élaborées par les Actinomycètes, seulement 20% représentent des antifongiques (**Sanglier et al ., 1993**). structure polyénique et non-polyénique (**Bushnell 1983**),

I.11. Actinomycètes pathogènes

Certaines espèces d'Actinomycètes sont pathogènes pour les végétaux, les animaux et L'Homme (**Mc Neil, 1994 ; Boiron, 1995**). Parmi les exemples les plus connus, on peut citer

-*Streptomyces scabies*, responsable de la gale de la pomme de terre.

-*Actinomyces bovis*, responsable d'une actinomycose chez le bétail.

-*Mycobacterium tuberculosis* agent de la tuberculose et *Mycobacterium leprae*, agent de la lèpre .

-*Nocardia asteroides*, responsable de la nocardiose humaine .

-*Micropolyspora faeni*, responsable d'une pneumonie allergique chez l'Homme.

II.Substances bioactives produites par les actinomycètes

Les actinomycètes représentent une grande proportion de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété de molécules bioactives entre autres des antibiotiques et d'enzymes extracellulaires.

1. Les antibiotiques

Depuis 1940, la fabrication des antibiotiques a pris une part dominante dans l'industrie pharmaceutique, représentant près de 25% de son chiffre d'affaire.

En ce qui concerne l'activité antifongique des actinomycètes, elle ne se limite pas seulement aux champignons filamenteux mais s'étend aux levures et aux dermatophytes. A titre d'exemple, la souche *Streptomyces mutabilis* présente une activité anticandidale envers *Candida albicans* (Sanasam et Ningthoujam, 2010), et la souche *Streptomyces rochei* présente une activité antidermatophytique vis-à-vis le dermatophyte *Trichophytum rubrum* (Lakshmipathy et Krishnan, 2009).

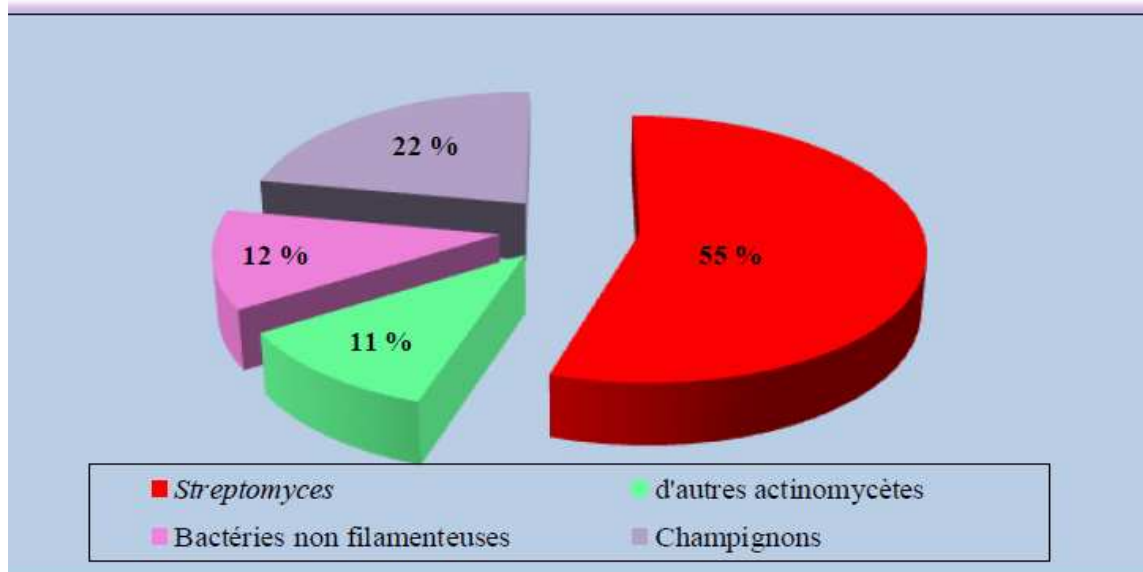


Figure 05: Secteur angulaire montrant la répartition de production des antibiotiques (Berdy, 2005)

2. Les extremozymes

Après les antibiotiques, les enzymes sont les plus importants produits des actinomycètes. Ces enzymes peuvent avoir des applications médicales, en Biologie moléculaire, en industrie Alimentaire ou celle des détergents, ...etc.

Les enzymes isolées à partir des actinomycètes des environnements extrêmes, dites Actinomycètes extrophies, sont commercialement très importantes.

*Principales
caractéristiques
des antibiotiques*

1. Définition et origine des antibiotiques

Un antibiotique (du Grec anti : « contre », et bios : « la vie ») est défini comme une substance naturelle produite par les microorganismes dont l'action est d'inhiber la croissance de bactéries (action bactériostatique) ou de les tuer (action bactéricide) (**Decre et Courvalin, 1995**). Il peut être antibactérien, antifongique, anticancéreux, antiviral ou antiparasitaire. La synthèse des antibiotiques est largement répandue chez les Actinomycètes, 50 à 75% des souches isolées en sont productrices et sont à l'origine de 70% des antibiotiques naturels connus dans le monde (**Tableau 4**). C'est en 1944 que le microbiologiste américain S. Waksman a décrit pour la première fois la streptomycine qui est un antibiotique produit par un Actinomycète tellurique, *Streptomyces griseus*. Ce fut le premier médicament qui se révéla efficace contre la tuberculose.

Tableau 04 : Importance relative des groupes microbiens producteurs des antibiotiques (**Okami, 1988**).

Microorganismes producteurs d'antibiotiques	% du total des antibiotiques décrits
Champignons	
<i>Penicillium</i>	4,1
<i>Aspergillus</i>	3
<i>Fusarium</i>	1,2
<i>Cephalosporium</i>	0,8
<i>Basidiomycètes et Ascomycètes</i>	05
Bactéries	
<i>Pseudomonadaceae</i>	1,3
<i>Bacillaceae</i>	07
<i>Autres Eubactérieries</i>	1,7
Actinomycètes	69,7
Liens et algues	0,8

L'histoire des antibiotiques a débute avec la découverte de la pénicilline par Fleming dans les années 40, depuis, les activités antimicrobiennes des antibiotiques produits par les microorganismes ont été considérablement étudiées, les recherches entreprises ont permis de compléter l'arsenal antibactérien mis a la disposition des médecins et du grand public. Des

microorganismes producteurs de chloramphénicol, de néomycine, de tétracycline et de terramycine furent isolés dès 1953. La découverte des agents chimio thérapeutiques et le développement de nouveaux médicaments plus puissants ont révolutionné la médecine moderne et ont fortement diminué la souffrance humaine (**Prescott et al., 2007**).

Les antibiotiques selon leur formule chimique la manière dont ils agissent sur les microorganismes et leur effet clinique les antibiotiques sont groupés en deux familles les bêta lactamines les aminosides (ou oligosaccharides) les phénicolés les tetracyclines les polypeptides les macrolides les antituberculeux les antifongiques les antimétabolites et les antibiominimétiques (**Ibewuiké et al., 1997**).

2. Le mode d'action

Il est, soit bactériostatique (empêche le développement microbien) essentiellement tétracyclines, phénicolés, macrolides, soit bactéricide (qui détruit les germes) les bêtalactamines, les aminosides, les polypeptides (**Garnier et al., 2004**). Chaque antibiotique possède un spectre d'action, qui est la flore microbienne sur laquelle il exerce son activité bactéricide ou bactériostatique, il est d'autant plus large, ou étendu, que le nombre des espèces microbiennes sensibles est grand. Le spectre d'action varie d'un antibiotique à l'autre (**Ibewuiké et al. 1997**).

En revanche, les bactéries avaient trouvé les moyens pour résister et par conséquent, éviter l'action des antibiotiques, et se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce. Il faut distinguer la résistance innée ou naturelle, de la résistance acquise apparaissant chez des bactéries sensibles aux antibiotiques. Celle-ci, correspond à une adaptation des bactéries aux antibiotiques, qui est due soit à des mutations, soit à la présence des nouveaux gènes portés par des plasmides ou des transposons.

La résistance par mutation chromosomique ne concerne qu'un faible pourcentage des souches isolées en clinique; par contre la résistance d'origine plasmidique est beaucoup plus fréquente, découverte à la fin des années 50, au Japon à la suite d'une épidémie de dysenterie bacillaire. Schématiquement, les mécanismes généraux qui permettent aux bactéries de résister à un antibiotique :

Par l'imperméabilité des bactéries, aux β -lactamines qui concerne uniquement les bactéries à Gram négatif (principalement les *Pseudomonas*) peut être due à une diminution quantitative des canaux de transport hydrophiles (porines) ou une modification de la structure de ces porines ou des LPS (lipopolysaccharide), ces altérations sont consécutives à

une mutation dans le génome bactérien, et elles affectent assez souvent le passage d'autres antibiotiques, chloramphénicol, quinolones, tétracyclines: c'est une résistance croisée.

Par inactivation de l'antibiotique, action enzymatique sur les β -lactamines par ouverture du Cycle β -lactame, qui est le mécanisme principal de résistance des bactéries à ces antibiotiques, ce sont des β -lactamases. Parfois leur synthèse est augmentée en présence de β -lactamines, l'enzyme alors est inductible (cas de la pénicillinase de *Staphylococcus aureus*).

Par altération de la cible cellulaire de l'antibiotique, ou modification de la cible sur laquelle se fixe l'antibiotique cas des β -lactamines se fixant sur les PLPs (protéines de liaison aux pénicillines), essentiellement observée chez les bactéries à Gram positif, ou la synthèse de molécules ayant une faible affinité pour les antibiotiques. (Rice-evans et al., 1995)

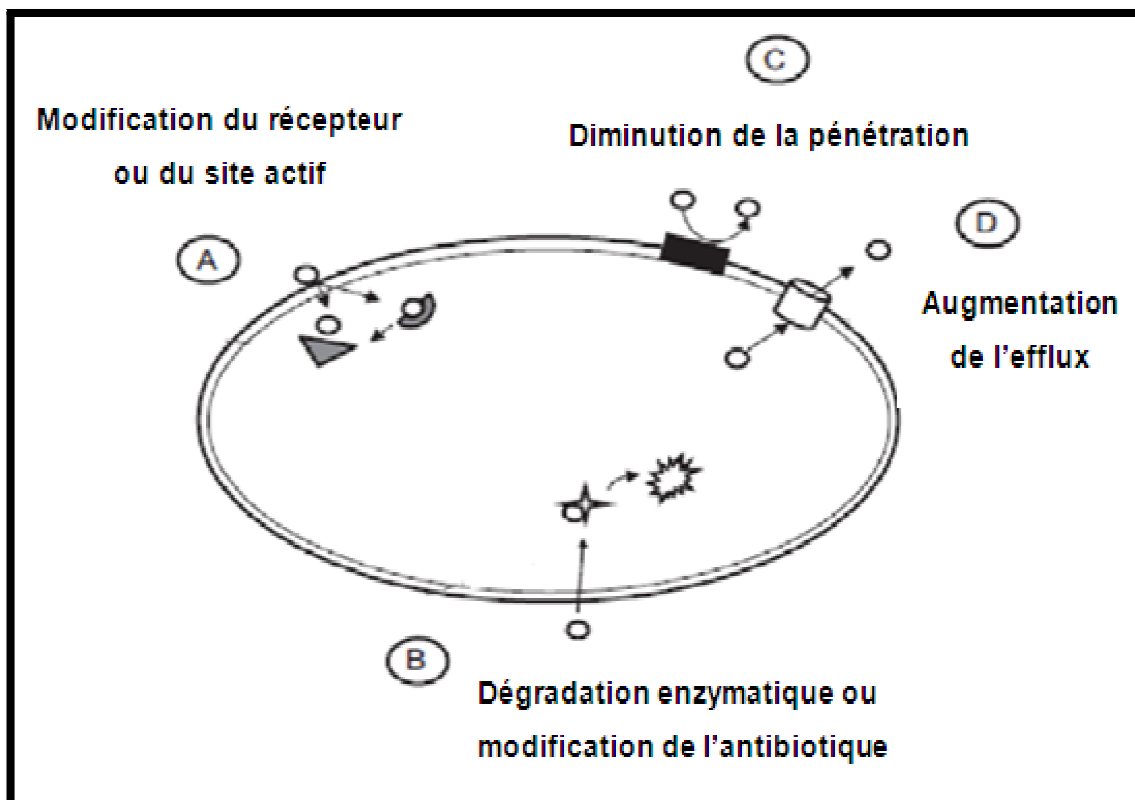


Figure N° 6 : Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

○ la substance antibiotique, : ◐ récepteur, : ▽ récepteur modifié, : 🗑 pompe d'efflux, : ✨ enzyme, : ☄ dégradation de l'antibiotique (Hemaiswarya et al., 2008).

3. Application des antibiotiques issus des Actinomycètes

Si les antibiotiques issus des Actinomycètes sont connus d'abord pour leurs applications médicales, ils présentent un intérêt significatif dans les domaines de la santé animale, de l'élevage et de l'agriculture (**Berdy, 2005**).

3.1. En santé humaine

Parmi les nombreux antibactériens issus d'Actinomycètes, on peut citer comme exemple :

- Les gentamicines produites par *Micromonospora*. Pour traiter des infections sévères des germes à Gram-négatif.

- La rifampicine, un dérivé de la rifamicine produite par *Nocardia mediterranei*, utilisée dans le traitement de la tuberculose.

Outre les antibactériens, l'activité de ces molécules peut s'exercer vis-à-vis des champignons. L'antifongique le plus exploité en thérapeutique est la nystamine, un tétraène extrait de culture de *S. noursei* (**Ouhdouch, 2001**). L'antiparasitaire bien connu est la spiramycine, un macrolide antibactérien de *S. ambofaciens*, efficace dans le traitement de la toxoplasmose (**Ninet, 1960**).

L'antivirus qu'on peut mentionner est la 9-Z-arabinofuranosyladine de *S. antibioticus*, synthétisé par voie chimique et actif sur le virus de l'herpès (**Ninet, 1960**).

Plusieurs anthracyclines et quinones dont la daunorubicine de *S. coeruleorubidus* sont utilisés dans le traitement de plusieurs types de cancer, dont les leucémies en particulier.

3.2. En santé animale et élevage

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

Les antibiotiques sont aussi largement utilisés en médecine vétérinaire, comme l'ivermectine produite par *Streptomyces avermitilis*, qui est un anthelminthique (contre les nématodes chez les animaux) (**Stapley et Woodruff, 1982**).

3.3. En agriculture

Les activités des antibiotiques destinés à l'agriculture s'étendent à différents domaines comme le contrôle des maladies des végétaux (insecticides, herbicides et régulateurs du métabolisme végétal). La blasticidine est un puissant fongicide, connue pour son activité sur *Piricularia oryzae*, pathogène chez le riz (**Demain, 1995**).

*Principales
caractéristiques
des antifongiques*

1. Définition

Les substances antifongiques sont actuellement utilisées dans trois domaines principaux: en thérapeutique humaine et vétérinaire (antifongiques systémiques ou topiques), dans l'industrie alimentaire (conservateurs) et en alimentation animale, pour la prévention et le traitement des atteintes fongiques des plantes, du bois de construction ou d'autres matériaux.

Ces substances antifongiques ont deux origines: ce sont soit des produits du métabolisme secondaire de divers microorganismes, soit des produits chimiques de synthèse.

Les antifongiques d'origine microbiologique utilisés actuellement en clinique sont essentiellement de structure polyénique, notamment l'amphotéricine B et la nystatine (**Bastide et al., 1986**).

2. Historique

La découverte de la nystatine en 1950 par Hazen et Brown, qui est un polymère à activité antifongique synthétisé par *Streptomyces*, a ouvert l'ère de l'antibiothérapie antifongique (**Drouhet et al., 1978**). Depuis, plus de 200 molécules antibiotiques polyéniques furent découvertes. Mais des problèmes de solubilité, d'absorption et de toxicité n'ont permis l'utilisation que d'un nombre restreint de ces composés en thérapeutique (**Belkherroubi, 2009**).

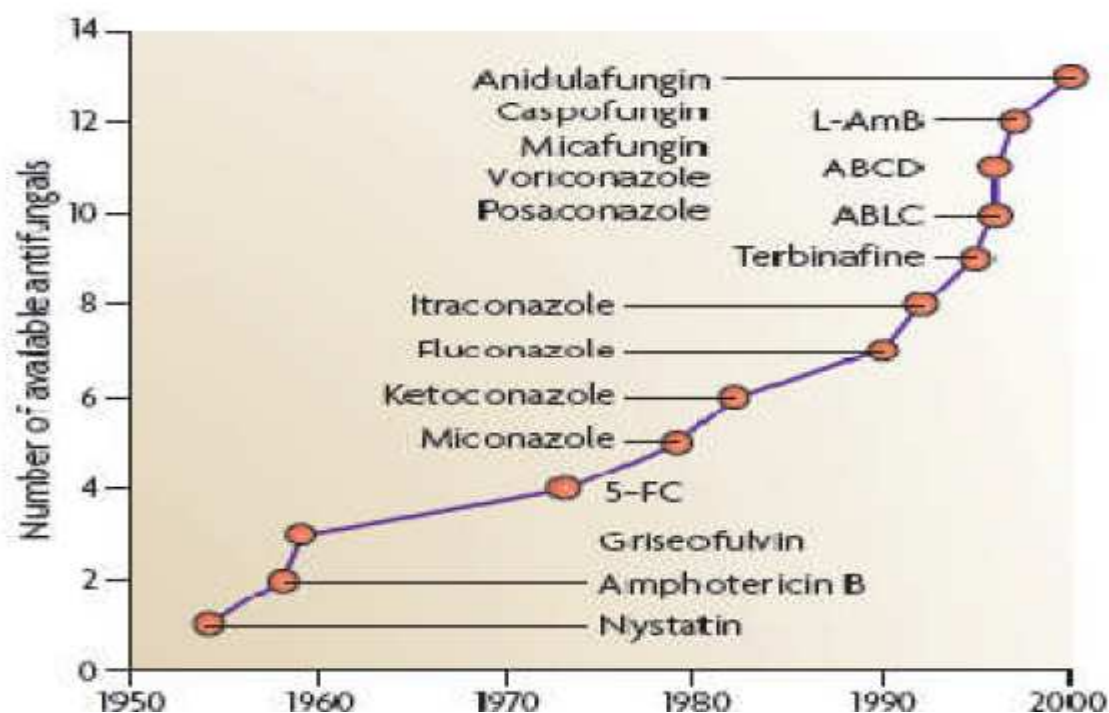


Figure 07 : Chronologie de la découverte des différents agents antifongiques.

(**Ostroskyzeichner et al., 2010**).

3. Classification des antifongiques selon l'origine et la structure

Malgré la recherche permanente de nouvelles cibles cellulaires, l'arsenal thérapeutique disponible pour lutter contre les infections fongiques est relativement limité puisque seules quatre classes de molécules, ciblant trois voies métaboliques distinctes, sont utilisées aujourd'hui en clinique : les fluoropyrimidines, les polyènes, les dérivés azolés et les échinocandines (**Vandeputte, 2008**).

3.1. Antifongiques de synthèse chimique

A. Les azolés

Les dérivés azolés sont les antifongiques les plus utilisés en clinique. Pour cette raison, ils sont les plus étudiés par la communauté scientifique, aussi bien au niveau de leurs propriétés pharmacologiques et de leur mode d'action, que des stratégies de défense adoptées par les micro-organismes.

Les dérivés azolés sont des molécules cycliques organiques, qui peuvent être divisées en deux groupes, les imidazoles, contenant deux atomes d'azote dans le cycle azolé, et les triazolés, contenant trois atomes d'azote (**Vandeputte, 2008**).

B. Les fluoropyrimidines

Les fluoropyrimidines, dont les seuls représentants actuellement utilisés chez l'homme sont la 5 fluorocytosine (5-FC) et le 5-fluorouracile (5-FU). Ce sont des molécules de synthèse, analogues structuraux d'un nucléotide entrant dans la composition des acides nucléiques, la cytosine (**Vandeputte, 2008**).

3.2. Antifongiques naturels

A. Les polyènes

Les polyènes sont des macrolides, molécules organiques cycliques amphotères. La plupart sont constitués d'un cycle macrolactone de 20 à 40 atomes de carbone sur lequel est branché un groupement D-mycosamine. Leur caractère amphotère est lié au regroupement de plusieurs doubles liaisons conjuguées (d'où leur nom de "polyène") sur une face du cycle macrolactone, qui est donc hydrophobe, et de groupements hydroxyles sur l'autre face, qui est hydrophile (**Vandeputte, 2008**).

Plus de 200 molécules appartenant à la classe chimique des polyènes, pour la plupart isolées chez des bactéries du genre *Streptomyces*, ont une activité antifongique. Cependant, seules trois molécules ont une toxicité suffisamment limitée pour permettre leur utilisation en clinique : l'amphotéricine B, la nystatine et la natamycine (**figure 08**) (**Vandeputte, 2008**).

Les antifongiques de structure polyénique, actifs essentiellement contre les

champignons, et par opposition, les antifongiques de structure non polyénique pouvant être souvent antibactériens (**Berdy et al., 1987**).

Bien que les polyènes puissent être synthétisés chimiquement, ils sont encore produits aujourd'hui, pour des raisons économiques, à partir de culture de *Streptomyces*. (**Vandeputte, 2008**).

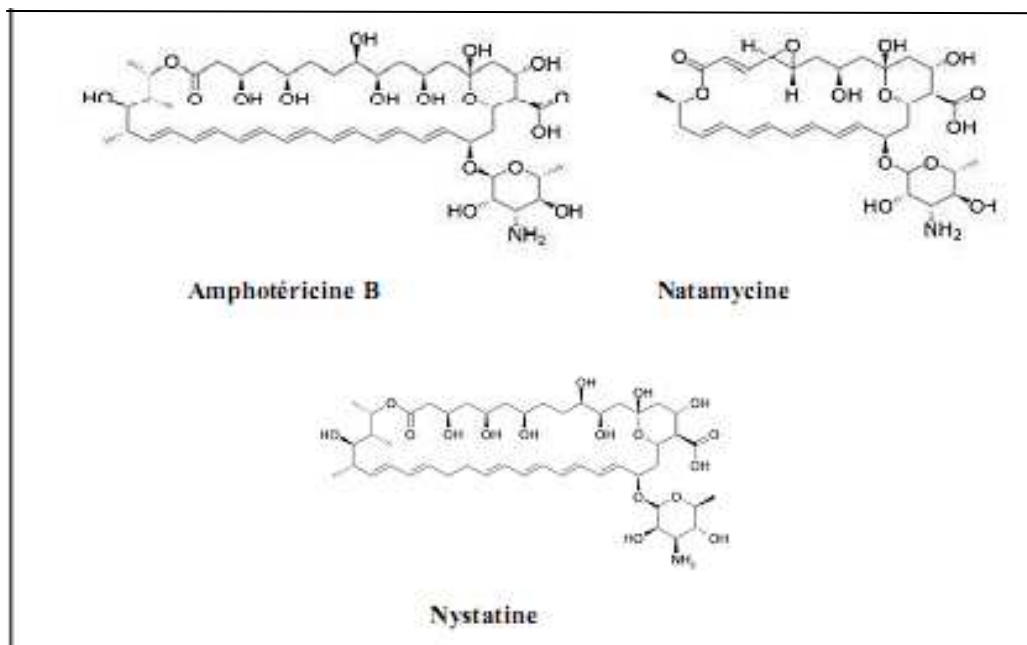


Figure08 : structure chimique des trois antifongiques polyéniques majeurs
(**Vandeputte,2008**)

B. Les échinocandines

Parmi les échinocandines, on peut citer la caspofungine. Cette substance est issue d'un produit de fermentation de *Glarealozoyensis*. Cette molécule est le premier d'une nouvelle classe d'antifongiques : les inhibiteurs de la synthèse du β -(1,3) D-glucan, composant essentiel à la paroi cellulaire de plusieurs champignons pathogènes (**Carle et al.; 2003**).

Trois molécules sont actuellement disponibles ou en cours de développement : la caspofungine, anidulafungine et micafungine (**Rautemaa et al., 2008**).

C. Les antifongiques non polyéniques

Les réactions secondaires et une certaine toxicité liée à la structure polyénique des antifongiques ont conduit à la recherche de nouveaux antibiotiques avec en priorité la production de dérivés de structure non polyénique (**Benallaoua et al., 1990**).

Les antifongiques non polyéniques ont des structures assez variées. Ils sont moins importants en thérapie que les polyènes sauf pour quelques uns comme les aminoglycosides

(kasugamycine), les quinones (anthracyclines), les hétérocycles azolés (blasticidine), aromatiques (griséofulvine), les composés alicycliques (cycloheximide). Leur utilisation dans l'industrie alimentaire et dans l'agriculture est parfois courante (**Zitouni, 2005**).

Leur spectre UV- visible est très variable mais en aucun cas ils ne présentent les trois pics caractéristiques des polyènes (**Badji, 2006**).

Les antifongiques de structure non-polyénique sont surtout représentés par la griséofulvine, active sur les dermatophytes. D'autres substances non-polyéniques, telles que le cycloheximide, l'azalomycine F ou la saramycétine n'ont que des applications limitées (**Bastide et al., 1986**).

4. Mode d'action des antifongiques

Les différents modes d'action sont résumés dans le tableau ci-après.

Tableau 05 : Classification des antifongiques selon la cible (**Geursen et al., 2008**)

structure	Mode d'action	Exemple
Polyènes	Rupture de la membrane	
Azolés	Inhibition de la synthèse de l'ergostérol	Imidazoles, ketonazole, Triazoles, fluconazoles, Itraconazole
Allylamines	Inhibition de la synthèse de l'ergostérol	Terbinafine, butenafine
Pyradone	Rupture de la membrane et de la paroi	Ciclipirox olamine
Morpholine	Inhibition de la synthèse de l'ergostérol	Amorolfine
Pyrimidine fluorée	Inhibition de la synthèse de thymidylate	Flucytosine
Echinocandine	Inhibition de la synthèse du glucane	Caspofungine, Anidulafungine
autres	Anti-mitotique, rupture du fuseau cellulaire	Griséofulvine

5. Effets post-antifongiques

L'utilisation des antifongiques entraîne des conséquences plus au moins considérables. Les azolés ont des effets secondaires qui peuvent être non négligeables comme une diminution de la synthèse de testostérone ou des glucocorticoïdes et des atteintes hépatiques ou gastro-intestinales sévères (**Pont et al., 1982**). Enfin, de nombreuses interactions médicamenteuses ont été rapportées. C'est pour ces raisons que les triazolés ont fait leur apparition.

Les fluoropyrimidines ont des effets secondaires qui sont le plus souvent négligeables, bien que des effets plus graves, se traduisant par une hépatotoxicité et une atteinte de la moelle osseuse puissent survenir. De façon surprenante, ces effets secondaires sont identiques à ceux observés lors d'une administration de 5-FU, bien que l'homme ne possède pas de cytosine désaminase, l'enzyme responsable de la conversion de la 5-FC en 5-FU au sein de la cellule fongique (**Williams et al, 1981**). Des travaux suggèrent que la flore intestinale serait responsable de cette conversion et à l'origine des effets secondaires graves de la 5-Fluorocytosine (**Vandeputte, 2008**).

*Matériels et
méthodes*

I –matériel biologique

1. Origines des isolats d'actinomycètes

Quatre souches actinomycètes fournissent par notre encadreur Mme LEULMI N. Ont fait l'objet d'études durant ce présent travail. Il s'agit de trois isolat (4, 10 et 47) ont été isolé a partir d'un sol forestier rhizosphérique et isolat 10 a été isolé a partir d'un sol montagneux (KHENCHELA).

2. Les bactéries tests

Elles sont constituées de bactéries à coloration de Gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) et contre des bactéries à coloration de Gram négative (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* et *Pseudomonas aeruginosa*) (**tableau 10**)

Tableau 06. Les bactéries tests (hôpital de Khenchela)

Bactéries tests	Code	GRAM
<i>Escherichia. coli</i>	ATCC :25922	Negative
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC :27853	Negative
<i>Proteus sp</i>	Souche Clinique	Negative
<i>Bacillus cereus</i>	Souche Clinique	Positive
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	Negative
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC : 43300	Positive
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC : 25923	Positive
<i>Enterobacter sp</i>	Souche Clinique	Negative

3. Les champignons tests

Les activités antifongiques ont été déterminées contre deux champignons filamenteux *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger* (laboratoire de mycologie, Constantine 1)

II-Test d'activité antibactérienne

Pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne de notre souches d'actinomycètes, six milieux de cultures différents (Bennett, SM, SMK, YMEA, Czapek, SCA) ont été utilisés. La composition de tous ces milieux ainsi que celle des milieux de culture exploités dans le test d'activité antibactérienne est donnée en annexe. Le test d'activité antibactérienne est réalisé par la méthode des cylindres d'Agar.

II.1. Technique de Cylindre d'agar

Les différentes souches d'actinomycètes isolés sont ensemencées par stries serrées à la surface de milieu YMEA (**annexe**) coulé dans les boites pétri. Après 14 jours d'incubation à 28°C, des cylindres de 6 mm de diamètre sont prélevés à partir de ces boites par un emporte-pièce stérile et sont déposés à la surface des boites Pétri contenant le milieu Mueller Hinton (**annexe**) et ensemencés préalablement par les bactéries-tests. Puis ces boites sont placées deux heures dans le réfrigérateur à 4°C pour permettre la diffusion des substances actives, ensuite, ces boites sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les zones d'inhibition sont mesurées après l'incubation.

III- Activité antifongique

L'antagonisme des actinomycètes vis-à-vis *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger* manifeste par l'inhibition de la croissance mycélienne de ces champignons lorsqu'ils sont cultivés ensembles avec ces bactéries dans une même boite de Pétri. L'activité antifongique des actinomycètes testés vis-à-vis deux champignons concernés, (*Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*) a été effectué sur le milieu (PDA) par la techniques des cylindres d'agar. Un cylindre de chaque souche d'actinomycète est prélevé à l'aide d'une pince stérile et mise en culture sur milieu PDA, puis on ensemence chaque champignon par touche au centre de la boite. Les boites portant les cylindres sont maintenues à 4°C pendant 24h avant d'être incubées pour permettre la diffusion des substances actives tout en empêchant momentanément la croissance des microorganismes cibles. Les zones d'inhibition sont mesurées après 14 jours selon la relation

$$I\% = (C-T)/C \times 100.$$

I % : pourcentage d'inhibition.

C : Diamètre de croissance de champignons dans la boite contrôle (*Aspergillus niger* (45mm), *Fusarium oxysporum* (37 mm)).

T : Diamètre de croissance de champignons dans la boite teste

Conclusion

I. Tests d'activité antibactérienne

Pour mettre en évidence le pouvoir inhibiteur de quatre isolats (04 , 47 , F10 , M10) contre les bactéries- test ont utiliser la technique de cylindre d'Agar sur différents milieux (Bennett , SM , SMK , YMEA, SCA et Kzapac) .Dont une forte concentration de molécules bioactives libérées diffuse plus rapidement que la croissance de la souche-test ce qui conduit à une zone d'inhibition importante (**Koch, 1999**).

I.1.Résultats

Après 24 heures d'incubation, la présence de zone d'inhibition est observée et le diamètre d'inhibition est mesuré à l'aide d'une règle graduée millimétrée.

Les résultats obtenus dans les tableaux suivants .

Tableau n07 : les diamètres des zones d'inhibitions (mm) des quatre isolats contre les bactéries à Gram+ en fonctions des différents milieux utilisés.

Milieux	Isolats	Activité contre bactéries tests a Gram+		
		<i>Staphylococcus aureus</i> 25	<i>Staphylococcus aureus</i> 43	<i>Bacillus cereus</i>
Bennett	47	25	22	15
	4	32	33	20
	F10	11	17	14
	M10	28	30	28
SM	47	27	21	18
	4	12	15	-
	F10	18	-	12
	M10	22	19	15
SMK	47	11	10	12
	4	15	10	-
	F10	12	-	-
	M10	27	30	30
YMEA	47	20	24	12
	04	16	15	10
	F10	-	30	-
	M10	18	30	-
SCA	47	25	-	12
	4	-	-	-
	F10	26	-	15
	M10	15	10	10
Czapec	47	-	9	17
	4	-	-	-
	F10	14	-	-
	M10	14	10	-

Tableau n 8 : les diamètres des zones d'inhibitions (mm) des quatre isolats contre les bactéries a Gram- en fonctions des différents milieux utilisés

Milieux	isolats	Activité contre bactéries a Gram-				
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aurugenosa</i>	<i>Proteus</i>	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	<i>Entérobacter</i>
Bennett	47	17	-	-	-	27
	4	30	-	15	22	-
	F10	-	-	-	-	-
	M10	-	-	-	-	-
SM	47	9	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
	F10	-	-	-	-	-
	M10	-	-	-	-	-
SMK	47	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
	F10	-	-	-	-	-
	M10	-	-	-	-	-
YMEA	47	-	-	-	-	30
	4	15	-	-	14	-
	F10	-	-	-	-	-
	M10	-	-	-	-	-
SCA	47	-	-	-	-	12
	4	-	-	-	-	-
	F10	15	-	-	-	-
	M10	-	-	-	-	-
Czapec	47	-	-	-	-	12
	4	-	-	-	-	-
	F10	-	-	-	-	-
	M10	-	-	-	-	-

I.1.1. Test d'activité antibactérienne pour isolât 4

la plus grande zone d'inhibition a été obtenue contre *staphylococcus aureus* 43 de diamètre à 33mm et *Staphylococcus aureus* 25 (32mm) , *Escherichia .coli* (30mm), *Bacillus .cereus* (20mm) par les cylindres d'Agar prélevés à partir du milieu Bennett . Hormis ce résultat, les diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les cylindres d'Agar prélevés à partir des milieux de Bennett, YMEA et SM sont les plus importants. Ils dépassent les 15 mm pour les zones d'inhibitions contre *Staphylococcus aureus* 43 et 25.

A l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* et *Entérobacter sp.*

Tandis que les cylindres d'agar ont montré une activité contre *Klebsiella pneumoniae* (22mm) et seulement (15mm) des cylindres d'agar ont inhibé la bactérie *Proteus sp.* Dans

l'ensemble les milieux qui favorisent la production d'antibactériens par l'isolât 4 sont les milieux Bennett et YMEA, les milieux SM et SMK donnent une production moindre et enfin le milieu SCA et Czapec dans lequel cette production est faible.

I.1.2. Test d'activité antibactérienne pour isolât 47

En ce qui concerne l'isolât 47, Les cylindres d'Agar prélevés des six milieux de production testés ont inhibés les bactéries-tests utilisées à l'exception de *Proteus sp* et *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumonie* et le plus grand diamètre d'inhibition est obtenu avec les cylindres d'Agar prélevés à partir du milieu de SM contre *Staphylococcus aureus* 25 (27mm). Les résultats obtenus, nous permettent de diviser les milieux de production en 3 groupes, le premier formé du milieu de SM avec lequel nous avons obtenu un diamètre d'inhibition supérieur à 27 mm, les milieux Bennett et YMEA forment le deuxième groupe dont les cylindres d'Agar provoquent des zones d'inhibition de diamètres compris entre 12mm et 25 mm En fin le troisième groupe, dont les cylindres d'Agar entraînent des zones d'inhibition de diamètre inférieur 9mm à, est constitué des milieux SMK , SCA et CZAPEC .

I.1.3. Test d'activité antibactérienne pour isolât M10

Pour l'isolât M10, le plus grand diamètre d'inhibition a été obtenu avec les cylindres d'Agar prélevés à partir du milieu de SMK, il est de 30 mm contre *S. aureus* 43 de 30 mm contre *B. cereus* et de 22mm contre *staphylococcus aureus* 25. Ils dépassent les 30 mm pour les zones d'inhibitions contre *Staphylococcus aureus* 43 et *Bacillus cereus* et *staphylococcus aureus* 25 de 28mm. A l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*, *Entérobacter*, *Escherichia. Coli*, *Proteus sp* et *Klebsiella pneumonie*.

Les milieux de Bennett, SMK, sont des milieux de production avec lesquels nous avons obtenu les plus grandes zones d'inhibition mais le milieu de SMK reste le milieu le plus favorable pour la production d'antibactériens, le milieu le moins favorable pour la production d'antibactériens par l'isolât M10 est le milieu SM, SCA, YMEA et Czapec.

I.1.4. Test d'activité antibactérienne pour isolât F10

Pour l'isolât F10, la plus grande zone d'inhibition a été obtenue contre *Staphylococcus aureus* (17mm) *Bacillus.cereus* (14mm), *Staphylococcus aureus* 25 (11mm) par les cylindres d'Agar prélevés à partir du milieu Bennett. Hormis ce résultat, les diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les cylindres d'Agar prélevés à partir des milieux de Bennett et SM sont les plus importants. Ils dépassent les 18 mm pour les zones d'inhibitions contre *Staphylococcus aureus* 25 et *Bacillus.cereus* (12mm). A l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* et *Entérobacter sp*, *klebsiella pneumoniae* et *Proteus sp* .

Dans l'ensemble des milieux qui favorisent la production d'antibactériens par l'isolât F10 sont les milieux Bennett et SM, les milieux SCA et YMEA donnent une production moindre et enfin le milieu SMK et Czapek dans lequel cette production est faible.

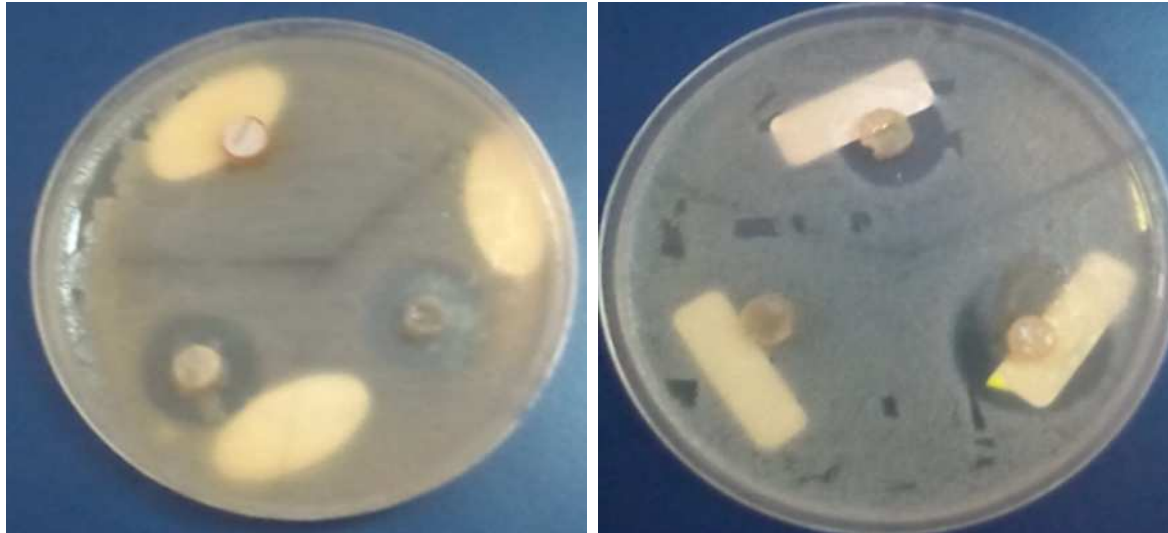


Figure 09: photo prise de l'activité antibactérienne

I.2.Discussion

D'après mesuré des diamètres des zones d'inhibition des quatre isolats confondus sont supérieures à 33 mm ce qui nous permet de dire que les six milieux testés favorisent la production d'antibactériens par les quatre isolats étudiés (M10, F10, isolat 4, isolat 47) c'est ce qui explique leur utilisation pour la production des antibactériens par différents chercheurs (Shomura et al. 1979 ; Ouhdouch et al. 2001 ; Lemriss et al. 2003). On remarque à partir des tableaux le milieu de Bennett est le meilleur milieu de production de ces substances bioactives.

Pour quatre isolats, le milieu Czapek est le milieu le moins favorable pour la production d'antibactériens. Le meilleur rendement du milieu de Bennett par rapport aux autres milieux peut être expliqué par la richesse de la composition chimique de ce dernier, notamment la présence de l'extrait de viande et des acides aminés de l'hydrolyse acide de la caséine. Au contraire le milieu Czapek est pauvre, de ces compositions. Les autres milieux testés sont riches en nutriments pour les microorganismes,

En ce qui concerne les germes tests ; les bactéries à Gram positif apparaissent plus sensibles aux molécules bioactives des isolats d'actinomycètes en comparaison avec les

bactéries à Gram négatif. **Selon Taker al.** L'or de la manipulation des nouveaux métabolites secondaires, les actinomycètes sont souvent rencontrés et ils montrent une activité antimicrobienne plus active contre les bactéries Gram positives que des bactéries Gram négatif. Cette différence de sensibilité des deux types bactériens peut être expliquée par la différence morphologique, les Gram négatif possèdent une membrane de nature lipopolysaccharidique qui rend la paroi imperméable aux substances hydrosolubles (polaires). Tandis que les Gram positif plus susceptibles disposent d'une couche externe de peptidoglycane qui n'est gère une barrière imperméable efficace contre ce genre de molécules.

II. Tests d'activité antifongique

La production de métabolites antifongiques par les isolats actinomycètes est mise en évidence par la technique des cylindres d'Agar en utilisant le milieu PDA pour les souches testés. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures pour les levures et à 28°C pendant 3 jours pour les champignons filamenteux.

L'activité antifongique des isolats d'actinomycètes isolées et purifiées a été mise en évidence par la technique des cylindres d'agar. Cette technique a permis de détecter l'effet inhibiteur des souches testées vis-à-vis des champignons-tests utilisés.

II .1.Résultats

Après 24 heures d'incubation, la présence de zone d'inhibition est observée et le diamètre d'inhibition est mesuré à l'aide d'une règle graduée millimétrée. Les résultats sont

Permettant de calculé la zone d'inhibition pour les champignons :

$$\text{On a : } \% I = \frac{C-T}{C} \times 100$$

C : diamètre de croissance des champignons dans les boites contrôle

T : diamètre de croissance des champignons dans les boites testé contrôlé

Aspergillus niger : 45mm (contrôlé)

Fusarium oxysporum : 37 mm (contrôlé)

II.1.1. *Fusarium oxysporum*

Donc : On mesurera le pourcentage de diamètre des zones d’inhibition pour les champignons *Fusarium oxysporum* : à état des boites contrôlé égale 37mm dans les tableaux suivant :

Tableau n 09 : pourcentage des diamètres des zones d’inhibition (mm) des quatre isolats contre *Fusarium oxysporum*

Milieux	Isolat 4	Isolat 47	Isolat M 10	Isolat F 10
Bennett	49	57	73	-
SM	-	51	68	-
SMK	-	57	57	-
SCA	-	49	68	-
YMEA	35	-	-	-
CZAPEC	-	51	46	-

II.1. 2. *Aspergillus niger*

On mesurera le pourcentage des diamètres des zones d’inhibition pour les champignons *Aspergillus*

Tableau n 10: pourcentage des diamètres des zones d’inhibition (mm) des quatre isolats contre *Aspergillus Niger*

Milieux	Isolat 4	Isolat 47	Isolat M 10	Isolat F 10
Bennett	38	58	69	-
SM	-	60	67	-
SMK	-	67	-	-
SCA	-	71	-	-
YMEA	-	-	-	-
Czapec	-	51	-	-

Les isolats 47 et M10 est active contre *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* : alors qu’aucune activité n’est détectée contre *Fusarium oxysporum* : sur l’ensemble des milieux testés pour isolat 4 et F10, ces résultats corroborent ceux d'Augustine et al. (2005)

montrant que les souches tests filamenteuses appartenant au genre *Aspergillus* sont les plus sensibles aux molécules bioactives d'actinomycètes.



Figure n 10 : photo prise de l'activité antifongique

II.2.Discussion

Les milieux Bennett et SCA et SM semblent favoriser l'activité antifongique de la souche actinomycètes contre l'isolat 47 et M10 alors que le milieu YMEA et Czapec donnant une très bonne activité antibactérienne s'est montré moins efficace dans ce cas. L'efficacité du milieu Bennett dans la production d'antifongiques par rapport au milieu YMEA et Czapec peut être attribuée à l'absence du carbonate de calcium dans ces milieux. Ainsi, l'acidification du milieu de culture au cours de la fermentation affecte la stabilité des antibactériens mais pas celle des antifongiques, sachant que la plupart des antifongiques connus sont stables à pH acide ou faiblement acide (**Holmberg, 1978**). Par ailleurs, la production d'antibactériens est

plutôt favorisée par un pH alcalin du milieu de culture (**Pandey et al., 2005**). Le milieu SCA est riche en sels minéraux et oligoéléments qui sont de bons ingrédients pour la synthèse d'antibiotiques par les actinomycètes (**Dumenilet Sanglier, 1989 ; Shikha et al., 2005 ; Hulya et Tarhan, 2006**), en plus de composés à consommation lente.

L'isolat 4 et F10 ne présente qu'une faible activité antifongique qui apparaît seulement contre *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum*:

Seul le test des cylindres d'Agar est employé pour la mise en évidence des activités Antifongiques, cette technique permet un ensemencement en surcouche des microorganismes-test, ce qui donne une distribution uniforme des spores fongiques sur toute la gélose, ceci est difficile à obtenir dans le cas d'un ensemencement dans la masse de moisissures.

*Conclusion
générale et
perspective*

Conclusion générale et perspectives

Les Actinomycètes sont des sources prometteuses pour la production des métabolites secondaires bioactives. Environ 75% de molécules sont produites par des bactéries filamenteuses notamment le genre *Streptomyces*.

Le but principal de ce travail est de tester l'effet de différents milieux de culture sur la production des biomolécules.

L'activité antimicrobienne a été testée en utilisant la technique de cylindre d'Agar contre deux types de bactéries à coloration Gram positif et à coloration Gram négatif.

Egalement, l'activité antifongique a été testé contre deux champignons filamenteux (*Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*).

Les résultats obtenus dans la présente étude montrent que :

D'une part, l'activité antimicrobienne diffère d'un isolat actinomycétales dans différents milieux de culture à une autre et d'autre part, pour le même isolat, l'activité antimicrobienne diffère d'une souche teste à l'autre,

Ces variations de résultats s'expliquent par le fait qu'une bactérie actinomycétales peut produire plusieurs types de molécules antibactériennes et antifongiques en même temps.

La production des biomolécules par les quatre isolats d'actinomycètes montre que ces souches ont la capacité de produire les substances bioactives.

Au bilan, les résultats indiquent que les actinomycètes ont une activité antibactérienne plus important contre les bactéries à Gram positif. En raison, de leur structure morphologique. En ce qui concerne l'activité antifongique, la plupart isolats d'actinomycètes sont très actifs contre ces champignons filamenteux.

Nous projetons de compléter à rechercher de identification moléculaire des souches productrice (ARN16), extraction des antibiotiques, caractérisation structurales des molécules bioactives.

*Références
bibliographiques*

A

Alexander. (1961). Introduction to microbiology. John Wiley, New York.

Almaris N. Alonso. 2007. Cellulose Dégradations and Biofilm Formation in the Développemental Life Cycle of the cellulolytique actinomycètes *Thermobifidafusca*. UMI. Pp: 134.

Andriantsoa, M. Laget & G. Du ménil., (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polygénique *mircen J. 2* : 453-466.

Augustine S. K., Bhavsar S. P. et Kapadnis B. P. (2005). A non-polyene antifungal antibiotic from *Streptomyces albido flavus* PU 23. *J Biosci.* 30(2): 201-211.

Avril, J, L., & al. 1992. Bactériologie clinique. 2 éd. Paris : ellipses. Pp. 511.

B

Badji B., (2006). Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura* et *Nonomurea*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou p226.

Badji. B., Zitouni .A., Mathieu. F., Lebrihi.A., and Sabaou. N. (2006) Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura* sp. AC104 isolated from an Algerian Saharan soil

Belkherroubi.L. (2009). Biologie cellulaire et Moléculaire : Effet de l'état physique des antifongiques polygéniques sur leur activité cellulaire : exemple de l'amphotéricine B. Thèse de doctorat. Université Boubaker Belait tlemcen. pp132.

Benallaoua S., Nguyen Van P., DeMeo M P., Coulon J., Dumenil G et Bonaly R. (1990). Recherches sur le mode d'action d'un antifongique non polyénique (desertomycine) produit par une souche de *Streptomyces spectabilis*. *Can. J. Microbiol.* 36: 609-616.

Berche P., Gaillard J-L and Simon M. (1989). Bactériologie bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences Flammarion, p109.

Berdy J. 2005. Bioactive microbiol metabolites. *Journal of antibiotics.* 58: 1-26.

Boudjella H., Bouti K., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N., (2006). Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of

Strepto sporangium Sg10 isolated from a Saharan soil. *Microbiol. Res.* 161: 288-298.

Bredy J., Avalos A. and Mc Nit K.L., (1987). CRC Handbook of antibiotic compounds. Vol. XIII. Microbial metabolites. Part 1, 2, 3. Florida, USA. CRC Press, Boca Raton. R

Billaud E.M. (2007). Interactions métaboliques des antifongiques azolés. *J de Mycol Méd.* 17 : 168-176.

Breton A., Theilleux J., Sanglier J.J., Viobis G. 1989.

C

Carle S. (2003). Les antifongiques dans le traitement des infections invasives.

Pharmactuel, 36 (1), 25-41.

Cragg G.M., Newman D.J. and Snader K.M. (1997). - Natural products in drug discovery and development. *J. Nat. Prod.*, 60, 52-60.

D

Decre D. et Courvalin P. (1995). L'intérêt d'antibiotiques nouveaux. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*

12(2), 160-175.

Demain A.L. (1995). Emerging concepts of secondary metabolism in Actinomycetes.

Drouhet E. (1978). Antifungal agents. *Anti Biot. Chemother.*, 25: 253

Dumenil G. et Sanglier J.J. (1989) .Physiologie de la production des antibiotiques, dans : Larpent J.P. et Sanglier J.J. des antibiotiques. Masson Edition Paris : 195-217.

Dvorak A., Johnston A. (1999). Actinomycètes and Streptomycètes. New York. 23p

E

EL-NAKEEB M.A., LECHEVALIER HA., (1963). Selective isolation of aerobic actinomycetes. *Appl Microbiol.* 75-7.

F

Falkow. S, Rosenberg. E, Schleifer. K. H, Stackebrandt. E. 2006. The Prokaryotes: Vol. 3: Archaea. Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes. Springer. Pp: 1146.

G

Garnier D. (2004). Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris, p 1012

Gellen-Dautremer. J ; Lanternier. F. ; Dannaoui. E ; Lortholary. O. (2010).

Associations antifongiques dans les infections fongiques invasives. La Revue de médecine interne 31 :72–81.

Georgopapadakou NH, Walsh TJ. (1994). Human mycoses: drugs and targets for emerging pathogens. Science; 264:371—3.

GeursenR.,Heer P.,Kirkness B.,Loewenstein P .,Mees S.,Muschart JM.,Pickaert (2008). Mycoses .Des médicaments au service de l’humanité :1-3

Goodfellow M., Williams S.T., (1983). Ecology of Actinomycetes. Annu. Rev. Microbiol.

H

Holmberc K. (1978). Laboratory tests of antifungal drugs in treatment of systemic mycoses. Scand J Infect Dis. 16: 65-73.

HSU S.C., LOCKWOOD J.L., (1975). Powder chitin agar as selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. Appl. Microbiol. Technol. 66: 559-565.

I

Ibewuike J-C., Ogungbamila F-O., Ogundaini A-O., Okeke I-N and Bohlin L.

(1997). Anti-inflammatory and antibacterial activities of C- methyl flavonoids from *Piliostigmathonningii*, Phytother. Res, 11 (4), p 281.

J

JM.,Pickaert M. (2008). Mycoses. Des médicaments au service de l’humanité :1-3

K

- Khamna S., Yokota A., Peberdy J. et Lumyong S. (2009)** Antifungal activity of *Streptomyces* spp. Isolated from rhizosphere of Thai medicinal plants. *Intern J Integr Biol.* (6) 3: 143-147.
- Koch A. (1999)** Diffusion through agar blocks of finite dimensions: A theoretical analysis of three systems of practical significance in microbiology. *Microbiol.* 145: 643-654.

L

- Lakshmipathy D.T., Krishnan K. 2009.** A report on the antidermatophytic activity of Actinomycetes. *International Journal of Integrative Biology.* 6: 132-136.
- LARPENT J.P. et SANGLIER J.J., (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Ed. Masson, Paris 481 p.

M

- Martin J.E. (1992).** Clusters of genes for biosynthesis of antibiotics: regulatory genes and over production of pharmaceuticals. *J. Indus. Microbiol.* 9: 73-90.
- McNeil M.M., Brown J.M. (1994).** The medically important aerobic Actinomycetes: epidemiology and microbiology. *Clin Microbiol. Rev;* 7: 357-417.

N

- Neyra, M.** Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote: légumineuse/rhizobium. 1992. Food & Agriculture Org. Pp: 200.

O

- O'Gara.F.Dowling.D.N,Boesten.B.2008.** Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs. John Wiley & Sons: Weinheim. Pp: 192.
- Okami Y. and Hotta K. (1988).** "Search and discovery of new antibiotics" in «Actinomycetes in biotechnology». Academic Press, Orlando (Ed.), pp.33-67.

Omura S. (1992). Trends in the search for bioactive microbial metabolites. *J. ind. Microbiol.*, **10**, 135-156.

Ostrosky-zeichner Luis, Arturocasadevall, John N. Galgiani, Frank C. Odds and John Rex. (2010). An insight into the antifungal pipeline: selectes new molécules and beyond. nature Reviens Druge Discovery.

Ouhdouch Y, Barakate M, Finanse C. (2001). Actinomycetes of Moroccan habitats:

Isolation and screening for antifungal activities. *Eur. J. Soil Biol.* 37: 69-74. Ninet L., Verrier

J. (1960) Production of spiramycin. United States Patent (N°2, 943,023)

P

Pandey A., Shukla A. et Majumdar S.K. (2005). Utilization of carbon and nitrogen sources by *Streptomyces kanamyceticus* M 27 for the production of an Antibacterial antibiotic. *Afr J Biotechnol.* 4 (9): 909-910.

Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A. 2007. Microbiologie. De Boeck&Larcier, Bruxelles : 805-825.

R

Rautemaa R., Richardson M., Michael A., faller P., Perheentupa J., saxen H. (2008). Activity of Amphotericin B, Anidulafungine, Caspofungin ,Micafungin, Posaconazole and Voriconazole against *Candida albicans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 62 :182-185.

S

-Sanasam S., Ningthoujam D.S. 2010. Screening of local actinomycete isolated in manipur for anti candida activity .*Asian Journal of Biotechnology.* 2: 139-145.

Smaoui. S. 2010. Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifié Thèse doc : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). Pp : 207.

Shomura T., Yoshida J., Amano S., Kojima M. et Nida T. (1979). Studies on Actinomycetales producing antibiotics only in agar culture. 1. Screening, taxonomy and morphology productivity relation ship of *Streptomyces halstedii*, strain SF-1993. J Antibiot. 32 : 427-435.

Stanier R.Y., Doudoroff M. et Adelberg E.A. (1966). Microbiologie generale, Masson Paris

Stapley E.O., Woodruff H.B, (1982). Avermectins, antiparasitic lactones produced by

Streptomyces avermitilis isolate from a soil Japan. In: Trends in antibiotic Research. Japan. : 154-170.

V

Vandeputte. V. (2008). Mécanismes moléculaires de la résistance antifongiques chez *Candida glabrata*. Thèse de Doctorat. Université d'Angers,

W

WAKSMAN S.A., (1967). Distribution, isolation and methods of study. In : The actinomycetes- a summary of current knowledge. The Ronald Press Company. New York. p9 21

Williams S.T. (1978). Streptomyces in soil ecosystem. In Mordarski M, Kurylowicz W,

Jeljaszewicz J, (eds) *Nocardia and Streptomyces*. Warsaw. October 1976. Gustav

fischer Verlag, Stuttgart; 137-142.

Williams S.T. and Fleming I., (1989). Spectroscopic methods in organic chemistry. 4th Ed. : McGraw Hill book company, London, p 264.

Williams S.T., Wellington E.M.H. (1984). Ecology of Actinomycetes. In: M. Goodfellow.

The biology of the Actinomycetes. London: 481-528.

Z

Zitouni. A. (2005). Taxonomie et antibiotiques des *Saccharothrix* et des *Nocardioopsis* des sols sahariens et nouvelles molécules bioactives sécrétées par *Saccharothrix* sp SA 103.

Annexe

Les compositions des milieux de culture**Milieu Muller-Hinton**

Extrait de viande.....	300 g
Tryptone.....	02g
Amidon.....	1,5 g
Agar.....	17 g
Eau distillée.....	1 L
pH.....	7,2

Milieu de Bennett

D-Glucose anhydre.....	10g
Casaminoacides.....	2g
Extrait de levure.....	1g
Extrait de viande.....	1g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1L
pH.....	7,5

Milieu YMEA+CaCO₃

Agar	20g
Extrait de levure	4g
Extrait de malte	10g
Glucose	4g
CaCO ₃	1g
Eau distillée	1000ml
PH :	7,3

Milieu PDA

Agar	20g
Pomme de terre	200g
Glucose	20g
Eau distillée	1000 ml

PH :7,2

Gélose nutritive

Extrait de viande..... 3 g

Peptone5 g

Agar15 g

Eau distillée.....1000 ml

pH..... 7,4

Milieu SM

Starch.....10g

Yeast extract.....4g

Peptone.....2g

Agar.....20g

Eau distillée1L

pH:.....7.5

Milieu SCA

Starch10g

Casein.....0.3g

KNO₃2g

NaCl.....2g

MgSO₄ 7H₂O.....0.05g

CaCO₃.....0.02g

FeSO₄7H₂O.....0.01g

Agar.....20g

Eau distillée..... 1l

Milieu Czapek

Sacchrose.....30g

NaNO₃.....3g

K₂HPO₄.....3g

MgSO₄ ,7H₂O.....0, 5g

KCl.....0,5g

FeSO.....4, 7g

FeSO₄ 7H₂O.....0,01g

Agar.....15g

Ph7, 3-7.5

Résumé

Les actinomycètes sont des bactéries responsables de la production de la plupart des molécules bioactives.

Dans ce travail, nous sommes intéressés à la recherche de molécules antibactérienne et antifongiques à partir des actinomycètes par utilisation la technique de cylindre d'Agar sur six milieux de culture différents.

Les quatre isolats d'actinomycétales isolés de la wilaya de KHANCHELA ont présenté une activité antibactérienne importante contre au moins une bactérie teste.

Ce travail a prouvé l'effet de la composition de milieu de culture sur la production des biomolécules, dont le meilleur milieu est le milieu Bennett.

En effet ces isolats possèdent activités significatif anti champignon filamenteux sauf L'isolat F10.

Mots clés: Actinomycètes, Activité antibactérienne, milieu de culture, activité antifongique

Abstract

In this work, we are interested in seeking antibacterial and antifungal molecules from actinomycetes using the agar cylinder technique on six different backgrounds.

The 04 strains of Actinomycetales KHANCHELA wilaya of forest soils showed significant antibacterial activity against at least one bacterium - test used on tous environments, the best environment for this activity is the middle Bennett.

Indeed these isolates possess anti filamentous fungus significant activities except F10 isolate

Key words: actinomycetes; Antibacterial activity, antifungal activity,

ملخص:

الاكتينومييسات عبارة عن كائنات حية دقيقة مسؤولة عن إنتاج معظم الجزيئات الفعالة. للكشف على المضادات الحيوية البكتيرية و الفطرية لهذه الاكتينومييسات قمنا باستخدام تقنية cylindre d'agar على ست أوساط زرع مختلفة حيث تمت الدراسة على 4 من الاكتينومييسات من ولاية خنشلة حيث أظهرت جميعا قدرة على إنتاج مضادات حيوية ضد واحدة على الأقل من الكائنات الحية الدقيقة المستعملة سواء كانت من البكتيريا او من الفطريات .

اذن كل هذا يدل عن وجود وسط زرع مميز لإنتاج المضادات الحيوية (Bennett) .

كل العزل المدروسة تمتلك نشاط حيوي باستثناء العزلة F10.

. الفطريات الشعاعية، النشاط الحيوي، أوساط زرع:الكلمات المفتاحية