



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abbès Laghrou Khenchela

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de **MASTER ACADEMIQUE.**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Sciences biologiques.

Option : Microbiologie appliquée.

Thème

***Etude de quelques activités biologiques des
isolats d'actinobactéries provenant de
différents écosystèmes de la région de
Khenchela***

Présenté par

Hafsaoui Nada Yasmine

Belaabed Farida

Devant

Jury de soutenance

Président : Dr. BOUTARFA Soumia MCB. Univ. Abbès Laghrou - Khenchela-

Encadrant : Dr. LEULMI Nassima MCA. Univ. Abbès Laghrou - Khenchela-

Examineur : Dr. MERABTI Ryma MCA. Univ. Abbès Laghrou -Khenchela-

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions tout d'abord, "ALLAH" le tout puissant, le Généreux et le miséricordieux, qui nous a donné la santé, la volonté et le courage pour réaliser ce travail.

*Nous adressons nos chaleureux remerciements et toute nos gratitude à notre encadrante **Mme Leulmi Nassima** maitre de conférences à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Khenchela pour son encadrement, pour ses compétences, ses merveilleux conseils scientifiques, sa patience, pour ses qualités humaines et son amitié sincère. Merci également pour tous les encouragements, les orientations et les critiques constructives qui nous ont permis d'élargir notre champ de vision du travail de recherche.*

Nous présentons également nos remerciements les plus Sincères et tous le respect pour les membres de jury qui ont acceptés avec beaucoup d'amabilité d'évaluer et de juger ce mémoire :

***Mme Merabti Ryma** d'avoir accepté volontairement d'examiner ce travail, ainsi qu'à **Mme Boutarfa Soumia** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider ce jury.*

Votre présence est vraiment un grand honneur pour nous.

*Nous voudrions aussi exprimer nos plus vifs remerciements pour toute l'équipe du Campus des Laboratoires Pédagogiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, qui ont mis à notre disposition tout le matériel nécessaire pour la réalisation de ce travail. En particulier **Mme MIZANE Sarah** pour son aide, ses conseils et surtout pour sa gentillesse.*

*Sans oublier l'ensemble de nos chers enseignants qui nous ont fait former pendant notre parcours universitaire, ce soit en Licence ou en Master. Spécifiquement **Mr. Badis Zakaria** et **Mme Naili Oumaima**. Merci pour votre gentillesse.*

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide à réaliser notre mémoire.

Merci !.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*À mes adorables **parents**, les personnes que j'aime le plus au monde, mes sources de joie et du bonheur dans ma vie, mes yeux et mes flammes de mon cœur, je ne peux pas trouver les mots pour vous exprimer mon amour, mon respect et mon estime que je vous porte, vraiment aucune dédicace, ne pourrait exprimer réellement votre valeur, je voudrais juste vous dire :*

Merci pour votre tendresse, pour votre soutien infaillible et votre encouragement.

Merci pour vos sacrifices pour que vos enfants grandissent.

Merci pour votre présence à mes côtés.

Merci pour vos prières tout au long de mes études.

Merci pour me permettre d'être fière de vous avoir comme parents.

*Merci pour tous les beaux moments de ma vie, qu'**Allah** vous protège et vous garde en très bonne santé.*

*À mes grandes sœurs: **Zina, Khawla et Soumia.***

*À la lumière de la maison, ma petite sœur : **djoumana**« joujou », Plus qu'une sœur, tu es mon amie, ma confidente, ma complice, mon âme, je t'aime ma plus belle.*

*À mon seul frère : **Miloud.***

*À ma deuxième mère, la plus douce et la plus élégante de toutes les femmes : **Tata Saïda.***

*À mes formidables neveux, les plus beaux cadeaux de la famille : **Iyade et Yazen.***

*À mes deux princesses, les plus belles jumelles, mes nièces: **Alaa et Assil.***

*À la mémoire de mes grands-mères : **chouikha et wahima**, que dieu garde leurs âmes dans son vaste paradis.*

*À mes copines : **Oumaima, Zohra, Khadidja .***

À tous ceux qui m'aiment et que j'aime.

Nada Yasmine.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

*À mes très chers parents pour leur encouragements, leur soutien et leur
patience.*

À ma chère tante.

À mes frères et toute ma famille.

À toute mes amis surtout Maissa et Hind .

À toute mes enseignants soit de licence oumaster.

À toute la promotion de Microbiologie master2023.

BE. FARIDA

TABLES DES MATIERES

Liste des Abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

INTRODUCTION..... 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les Actinobactérie	6
1.1.Historique	6
1.2.Caractères principaux	7
1.3.Caractères morphologiques des actinobactéries	7
1.3.1. Mycélium.....	10
1.4.Caractères physiologiques	11
1.5.Les caractères biochimiques des actinobactéries.....	12
1.5.1.Les acides aminés	12
1.5.2Les sucres	13
1.5.3.Les lipides	14
1.6.Cycle de croissance des actinobactéries sur milieu solide et en milieu liquide	14
1.6.1.Croissance sur milieu solide	14
1.6.2.Croissance en milieu liquide	15
1.7.Génétique.....	16
1.8.Ecologie des actinobactéries.....	17
1.9.Importance des actinobactéries	19
1.9.1.Domaine biotechnologique	19
1.9.2.Domaine agronomique.....	23

<i>Chapitre II</i>	25
<i>Les substances bioactives produites par les actinobactéries</i>	25
1. Les Antibiotiques	26
1.1. Définition.....	26
1.2. Classification	27
1 Les antibiotiques peuvent être classés selon nombreuse critères notamment :.....	27
1.2.1. Classification selon le mécanisme d'action	27
1.2.2. Classification selon le spectre d'activité.....	31
1.2.3 La résistance aux antibiotiques	32
1.3. Les actinobactéries et la production des antibiotiques	32
2. Les antifongiques	34
2.1. Généralité sur les infections fongiques.....	34
2.2. Définition.....	35
3. Les pigments	36
4. Les Antioxydants.....	38
4. 1. Les antioxydants endogènes (naturels).....	38
4.2. Les antioxydants exogènes	39
ETUDE EXPERIMENTALE	21
<i>Matériel et méthodes</i>	43
1. Prélèvement des échantillons	44
1.1. L'eau chaude.....	44
1.2.Les margines.....	45
1.3.Echantillon de l'eau polluée	46
2. Isolement, purification et conservation des actinobactéries.....	47
2.1.Préparation du milieu d'isolement.....	47
2.2.Préparation des dilutions et isolement	47
2.3.Purification des actinobactéries	47

2.4. Conservation des actinobactéries.....	48
3. Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries	48
3.1. Etude de l'activité antibactérienne.....	48
3.1.1. Préparation des souches- tests.....	48
3.1.2. La technique des cylindres d'agar.....	48
3.2. Etude de l'activité antifongique.....	49
4. Etude de l'activité d'hydrolyse.....	50
4.1. L'activité protéolytique	50
4.1.1. Recherche de la gélatinase	50
4.2. L'activité amylolytique.....	50
4.2.1. Recherche de l'amylase	50
5. Extraction des molécules bioactives	50
5.1. Culture de souches d'actinobactéries sur milieu solide.....	50
5.2. Récupération et extraction des molécules bioactives à partir de filtrats des cultures....	50
6. Etude de l'activité antibactérienne des extraits	52
7. Etude de l'activité antioxydante des extraits.....	53
7.1. Principe.....	53
7.2. Mode opératoire.....	53
Résultats et discussion	55
1. Isolement et purification des actinobactéries.....	56
1.1. Etude de l'aspect macroscopique des colonies des actinobactéries	58
2. Activité antimicrobienne	60
2.1. L'activité antibactérienne	60
2.2. L'activité antifongique	62
3. L'activité d'hydrolyse	64
4. Evaluation des activités antibactériennes et antioxydants des extraits	66
4.1. L'activité antibactérienne des extraits	66

4.2. Activité antioxydante des extraits..... 69

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique.

SOD : le superoxyde dismutase.

CAT : la catalase.

ERO : les espèces réactives d'oxygène.

O₂⁻ : l'anion superoxyde.

C°: Degré Celsius.

G+C: Contenu en guanine et cytosine.

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

PDA : Potato Dextrose Agar.

YMEA : Yeast Malt Extract Agar.

ISP9 : International Streptomyces Project 9.

ISP2 : International Streptomyces Project 2.

HgCl₂ : Solution de Chlorure de Mercure.

UFC: unité formant colonie.

MA : Mycélium Aérien.

MS : Mycélium du substrat.

H : Heur.

min : minute.

L : litre.

g : Gramme.

m : Mètre.

mm : Millimètre.

ml : Millilitre.

g/L: Gramme par liter.

mg/ml: Milligramme/ millilitre.

µl: Micro litre.

EP : échantillon de l'eau polluée.

Ech : échantillon de l'eau chaude.

Emk1 : échantillon des margines.

DPPH : 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

ATB : Antibiotiques.

ATF : antifongique.

AIA : Acide indole acétique.

DAP : Acide diaminopimélique.

PH : Potentiel Hydrogène .

V /V :Volume par volume.

% : pour cent

rpm:rotation per minute

UV:Le rayonnement ultraviolet

nm:nano metre

CH₃-OH : methanol

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Photographies Au Microscope Electronique De Micromorphologie De Certaines Espece D'actinobacteries Halophiles (Saker ,2015).	8
Figure 2: Photographies Au Microscope Electronique Des Types Fragmentaires Et Permanent Du Mycelium Des Actinobacteries (A) Le Genre Nocardia En Fragmentation, (Le Genre Streptomyces En Sporulation (Belyagoubi, 2014).	9
Figure 3: Micrographie Electronique A Balayage Du Mycelium Aerien De La Souche Sg3 Montrant La Morphologie Des Sporangies Et Des Spores (Boudjella Et Al.,2007).	9
Figure 4: Cycle De Developpement Du Genre Streptomyces Sur Milieu Solide (Harir, 2018).	15
Figure 5: Analyse Par Un Microscope Confocal A Balayage Laser (Clsm) Du Cycle De Developpement De S. Coelicolor A3(2) Dans Un Milieu Submerge D'apres (Angel Et Al., 2008).	16
Figure 6: Des Application Biotechnologiques Des Actinobacteries(Randjani Et Al.,2016).	19
Figure 7: Certaines Applications De Amylase (Arora , 2003).	22
Figure 8: Presentation Generale Des Deux Mecanismes Directs Et Indirects Des Pgpr (Basu Et Al., 2021).	24
Figure 9: Les Cibles D'antibiotiques (Rosenthal Et Pfaller, 2016).	27
Figure 10: Production De Pigments Par Des Colonies De Streptomyces (Selim Et Al, 2021).	36
Figure 11: Production De Pigments Par Streptomyces Torulosus En Utilisant Differents Milieux De Cultures : A; Milieu A Extrait De Malt, B; Milieu De Glycerol Asparagine, C; Milieu A Tyrosine (Kheiralla Et Al., 2016).	37
Figure 12: Localisation Des Endroits De Prelevement Des Echantillons De La Wilaya De Khenchenla (Google Maps).	44
Figure 13: Site De Prelevement De L'echantillon D'eau Chaude De Hammam Essalihine-Khenchela.	45
Figure 14: Site De Prelevement De L'echantillon Des Margines.	46
Figure 15: Site De Prelevement De L'echantillon De L'eau Pollue (Photo Prise Le :18 /03/2023).	47
Figure 16: Mise En Evidence De L'activite D'antibacterien Des Souches D'actinobacterie Sur Milieu Muller-Hinton Par La Methode Des Cylindre D'agar (Bastide Et Al., 1994).	49
Figure 17: La Maceration Des Fragments Du Milieu De Culture.....	51

Figure 18: La Filtration Et Evaporation Des Extraits Bruts De Trois Actinobacteries Etudiees (A Et B).	52
Figure 19: Colonies D'actinobacteries Sur Milieu Olson(L'eau Polluee).	57
Figure 20: Aspect Macroscopique Sur Milieu Solide Ymea +Caco3 Des Isolats Purs D'actinobacteries.....	59
Figure 21: Activite Antibacterienne Sur Milieu Muller Hinton Des Isolats Purs D'actinobacteries, Evaluee Par La Technique Des Cylindres D'agar.	61
Figure 22: Activite Antifongique Sur Milieu Pda Des Isolats Pure D'actinobacteries Contre <i>Aspergillus Niger</i> Par La Technique De Cylindre D'agar.	63
Figure 23 : Activite Antifongique Sur Milieu Pda Des Isolats Pure D'actinobacteries Contre <i>Penicillium Sp</i> Par La Technique De Cylindre D'agar.	64
Figure 24 : Photographies Des Activites De Degradation De L'amidon.	66
Figure 25 : Photographies Des Activites De Degradation De Gelatine.	66
Figure 26 : Photographies Montre Les Extraits Colorés Des Isolats (Ep et Emk1).....	67
Figure 27 : Photographies Des Activites Antibacterienne De Trois Extraits Bruts.	69
Figure 28: Courbe Representatnt Le % D'inhibition Du Dpph Des Extraits (Ep, Ech9) Et Le Standard Acide Ascorbique En Fonction De La Concentration	70
Figure 29: Photographie De La Mise En Evidence De l'activite Antioxydante.De l'isolat Ep	71

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Types Des Constituants Majeurs Des Parois Cellulaires (Lechevalier Et Lechevalier, 1970).....	13
Tableau 2: Les Composants De La Paroi Cellulaire De Certaines Actinobacteries Selon Les Sucres (Aouar, 2012).....	13
Tableau 3: Pourcentage De Gc De Certaines Genres d'actinobacteries (Larpent Et Sanglier, 1983).....	17
Tableau 4: Habitats De Quelque Actinobacteries Dans La Nature.....	18
Tableau 5: Nouveaux Metabolites Produits Par Les Actinobacteries (Kalpana Et Rajamanickam,2018).....	20
Tableau 6: Certaines Types d'enzyme Et Leurs Applications Industriels (Ranjani Et Al., 2016).	21
Tableau 7: Exemples Des Antibiotiques Bactericides Et Bacteriostatique.....	26
Tableau 8: Antibiotiques Agissant Sur La Membrane Cytoplasmique (Van Bambeke, 2008; Inesss, 2017).....	28
Tableau 9: Famille Antibiotiques Agissent Sur La Paroi Bacterienne.	29
Tableau 10: Mecanismes d'action De Quelque Famille d'antibiotiques Agissants Sur La Synthese Des Proteines.	30
Tableau 11: Familles d'antibiotiques Agissant Sur La Synthese Des Acides Nucleiques.	31
Tableau 12: Exemples Des Antibiotiques Produites Par Les Actibobacteries (Risidian Et Al., 2022).....	33
Tableau 13: Exemples d'antifongiques Produits Par Les Actinobacteries.	35
Tableau 14: Liste De De Differents Pigments Produits Actinobacteries (Andnane., 2016)...	38
Tableau 15: Quelque Exemples De Molecules Antioxydante Produites Par Quelque Especies D'.....	40
Tableau 16: Le Nombre Des Isolats d'actinobacteries Purifies De Differents Echantillons...	56
Tableau 17: Les Caracteristiques Macroscopiques Des Isolats Purs Selectionnes	58
Tableau 18: Activite Antibacterienne Des Isolats Purs d'actinobacteries	61
Tableau 19: Activite Antifongique Des Isolats Purs d'actinobacteries.	62
Tableau 20: Activite Hydrolytique Des Isolats Purs d'actinobacteries	64
Tableau 21: Activites Antibacterienne Des Extraits Sec Brut	68

RESUMES

Résumé

Les actinobactéries sont des bactéries filamenteuses, unicellulaires et aérobies. Sont parmi les microorganismes qui peuvent coloniser différents écosystèmes naturels, essentiellement le sol. Aujourd'hui, les actinobactéries sont considérés comme une source naturelle fascinante de molécules antimicrobiennes telles que les antibiotiques, les antifongiques et de molécules antioxydante. Cette grande diversité de production des biomolécules permettent d'assurer une défense efficace contre les maladies et particulièrement les maladies infectieuses.

Pour cela notre étude s'intéresse à l'isolement des actinobactéries à partir de trois échantillons provenant de différentes régions de Khenchela (l'eau chaude de la station thermale Hammam Elsalihine, l'eau polluée d'Oued El Merdja et les margine d'huilerie Hadja Yamina). Un totale de 15 isolats d'actinobactéries a été isolés et purifiés. L'étude de l'activité antimicrobienne de ces isolats testés contre des bactéries pathogènes Gram positives, Gram négative, et contre deux moisissures par les techniques des cylindres d'agar. Les activités d'hydrolyse (amylase et gélatinase) ont été également réalisées. L'extraction de molécules bioactives produites par les trois isolats sélectionnés a été effectuée par l'acétate d'éthyle. Toutefois, l'activité antioxydante a été réalisée par une méthode colorimétrique selon la capacité de molécules à piéger le radical libre stable (DPPH).

Les résultats ont montré que parmi les 15 isolats d'actinobactéries testés seulement trois isolats (Ech9, Ep et Emk1) ont une activité antibactérienne vis à vis deux bactéries test et 09 isolats ont une activité antifongique. Tandis que les activités d'hydrolyse indiquent que tous les isolats testées ont la capacité à dégrader l'amidon alors qu'uniquement deux isolats possédant la gélatinase.

Deux extraits bruts (Ep et Emk1) ont donné une activité contre seulement une bactérie test. D'autre part, l'activité antioxydante a été observée pour les deux extraits de Ech9 et Ep, avec une bonne pourcentage d'inhibition pour l'extrait Ep de 68.3% à concentration de 0.5 mg/ml, et pour l'extrait Ech9 à la même concentration montre un pourcentage d'inhibition de 61.6%.

Dans l'ensemble, les résultats montrent clairement que les actinobactéries isolés à partir d'un écosystème semi-aride, peu exploité, représente une source prometteuse de biomolécules.

Les mots clé : actinobactéries, antibiotiques, antifongiques, molécules antioxydants.

Abstract

Actinobacteria are a group of filamentous bacteria, unicellular and aerobic. They are among the microorganisms that can colonize different natural ecosystems, mainly the soil. Today, actinobacteria are considered a fascinating natural source of antimicrobial molecules such as antibiotics, antifungals and antioxidant molecules. This great diversity of production of biomolecules makes it possible to ensure an effective defense against diseases, particularly infectious diseases.

For this, our study investigates the isolation of actinobacteria from different regions of Khenchela (hot water from the Hammam Essalihine spa, polluted water from Oued El Merdja and margarine from Hadja Yamina oil mill). A total of 15 strains of actinobacteria were isolated and purified. The study of the antimicrobial activity of these isolates against Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria, and against two molds by agar cylinders technique. Hydrolysis activities (amylase and gelatinase) were also performed. The extraction of bioactive molecules produced by the three selected isolates was performed by ethyl acetate. However, the antioxidant activity was performed by a colorimetric method according to the ability of molecules to scavenge the stable free radical (DPPH).

The results showed that among the 15 isolates of actinobacteria tested only three isolates (Ech9, Ep et Emk1) have antibacterial activity against two test bacteria and 09 isolates have antifungal activity. While the hydrolysis activities indicate that all the isolates tested have the ability to degrade starch while only two isolates possess gelatinase.

Two crude extracts gave activity against only one test bacterium. On the other hand, the antioxidant activity was observed for the two extracts of Ech9 and Ep, with a good percentage of inhibition for the Ep extract of 68.3% at a concentration of 0.5mg/ml, and for the Ech9 extract at the same concentration shows a percentage inhibition of 61.6%.

Overall, the results clearly show that actinobacteria isolated from a semi-arid, underexploited ecosystem represent a promising source of biomolecules.

Key words: actinobacteria, antibiotics, antifungals, antioxidant molecules

المخلص

الأكثينوبكتيريا هي بكتيريا خيطية، وحيدة الخلية و هوائية، تعتبر من بين الكائنات المجهرية التي لها القدرة على إستعمار مختلف الأنظمة الإيكولوجية الطبيعية ، بشكل أساسي التربة. تعتبر الأكثينوبكتيريا اليوم مصدرا طبيعيا مبهرا للعديد من الجزيئات المضادة للميكروبات و المتمثلة في : المضادات الحيوية، المضادات الفطريات باضافة الي الجزيئات المضادة للأكسدة. يسمح هذا التنوع الهائل في إنتاج الجزيئات النشطة بيولوجيا إلى ضمان دفاع فعال ضد مختلف الأمراض و خاصة الأمراض المعدية .

لهذا تهتم دراستنا بعزل الأكثينوبكتيريا إنطلاقا من ثلاث عينات مأخوذة من مناطق مختلفة من خنشلة (الماء الساخن من حمام الصالحين ، الماء الملوث من واد المرجة و المارجين من معصرة زيت الزيتون الحاجة يمينة).

تم عزل و تنقية مجموعة 15 سلالة من الأكثينوبكتيريا ، تم إختبار دراسة النشاط المضاد للميكروبات ضد البكتيريا الممرضة سالبة و موجبة الغرام و ضد نوعين من الميسيليوم بواسطة تقنية أسطوانات الأغار . كذلك تم إجراء أ أنشطة التحلل المائي (الأميلاز و الجيلاتيناز) . تم إجراء إستخلاص الجزيئات النشطة بيولوجيا من ثلاث عينات محددة بواسطة أسيتات الإيثيل. مع ذلك، تم اختبار نشاط مضادات الأكسدة بطريقة القياس اللوني بناءً على قدرة الجزيئات على تنظيف الجذور الحرة المستقرة.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أنه من بين 15 سلالة التي تم إختبارها ، كانت على الأقل 03 سلالات فعالة ضد إثنين من البكتيريا المختبرة و 09 سلالات فعالة ضد الفطريات الممرضة. بينما، أظهرت أنشطة التحلل المائي أن جميع العزلات النقية التي تم إختبارها لها القدرة على تحليل النشاء في حين تمتلك عزلتان فقط إنزيم الجيلاتيناز .

أعطت إثنان من المستخلصات الخام **Ep** و **Emk1** فعالية ضد بكتيريا اختبار واحدة فقط . من ناحية أخرى، لوحظ النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصي **Ech9** و **Ep**، بنسبة تثبيط جيدة 68.3% لمستخلص **Ep** بتركيز 0.5 مجم / مل و 61.6% لمستخلص **Ech9** بنفس التركيز .

بشكل عام ، تظهر النتائج بوضوح أن الأكثينوبكتيريا المعزولة من نظام بيئي شبه قاحل وغير مستغل بشكل كاف، تمثل مصدراً واعدًا للجزيئات الحيوية.

الكلمات المفتاحية :

الأكثينوبكتيريا، المضادات الحيوية، المضادات الفطريات، الجزيئات المضادة للأكسدة.

INTRODUCTION

Introduction

La propagation et l'émergence rapide de la résistance aux antimicrobiens sont parmi les plus gros problèmes pesant sur la santé publique qui préoccupent les gens du monde entier, mettant en danger l'efficacité des antibiotiques qui ont révolutionné la médecine, sauvé des millions de vies et permis de faire considérablement reculer la mortalité associée aux maladies infectieuses. Bien que, ces maladies sont les plus fréquentes à l'échelle mondiale comme la tuberculose et les maladies hépatiques, causées par la transmission d'un agent pathogène tel que les bactéries, les champignons et les virus (**Kiouba ,2003**).

La résistance aux antibiotiques, est la capacité d'une souche bactérienne de croître et survivre malgré l'exposition à une concentration d'antibiotique supérieure. Elle est d'origine génétique, peut être due à des changements comme les mutations ou l'acquisition de gènes de résistance par transfert horizontal, qui se produit dans des organismes de taxonomie différente. Cette résistance entraîne une augmentation des dépenses médicales, des difficultés à combattre les infections bactériennes et une hausse de la mortalité. En effet, La crise de la résistance aux antibiotiques a été attribuée à l'usage abusif des antibiotiques et leur utilisation inappropriée et inadéquate, ainsi qu'au manque de développement de nouveaux médicaments par l'industrie pharmaceutique en raison de la réduction des incitations économiques. Toutefois, La réduction de la pression sélective des antibiotiques est importante pour prévenir l'émergence d'une résistance microbienne (**Carle,2009 ; Aminov ,2009 ; Golkar et al.,2014**).

En raison de la nécessité de trouver des nouvelles souches, les chercheurs orientent plusieurs études par la mise en œuvre de stratégies de recherche de nouvelles molécules bioactives utilisables dotées par des d'effets biologiques diverses tels que les activités antibactérienne, antifongique et antiparasitaire. A l'origine de ces molécules bioactives, les actinobactéries sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que fournisseurs d'antibiotiques dont 75 % par des espèces de *Streptomyces* isolés jusqu'à maintenant (**Revel et al., 2000**).

L'objectifs de notre mémoire consiste à :

- Isoler des souches d'actinobactéries à partir de divers écosystèmes de la wilaya de Khenchela: l'eau chaude d'une source thermale Hammam Essalihine, l'eau polluée d'Oued el Merdja et les margines d'une l'huilerie d'Hadja Yamina.
- La mise en évidence de l'activité antimicrobienne vis-à-vis des souches tests pathogènes pour l'homme et même contre quelques moisissures phytopathogènes.

Introduction

- La mise en évidence de deux activités d'hydrolyses.
- L'extraction des molécules bioactives de quelques isolats sélectionnés.
- L'étude du pouvoir antioxydants.

Pour cela notre mémoire est divisée en 02 parties :

Une étude bibliographique qui comprends une synthèse des informations nécessaire des actinobactéries ,leurs productions des métabolites bioactifs et aussi leur écologie et distribution dans la nature.

Une étude expérimentale qui englobe la partie matériel et méthode, partie résultats obtenus et leur discussion qui ont été effectuée au sein de laboratoire Pédagogiques Elhamma Université de Khenchela.

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
GENERALITE SUR
LES
ACTINOBACTERIES

1. Les Actinobactéries

1.1. Historique

D'après Waksman (1961), Ferdinand Cohn fut le premier à décrire un actinobactérie en 1875 et 1878, Harz, nomma *Actinomyces bovis*, un organisme parasite rencontré dans une infection de la mâchoire d'un bovin, (**Garrity et al., 2007**). Waksman classe l'histoire des actinobactéries en quatre catégories de base :

La première période qui va de 1877 à 1890 environ, a été nommée (Période médicale) du fait que l'intérêt porté à ces microorganismes était dû presque exclusivement aux propriétés pathogènes qu'on leur attribuait (**Baldacci, 1962**).

La seconde période (1900-1940) (**Mariat et Sebald, 1990**).se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des *actinobactéries* du sol, avec les travaux de Rossi-Doria (1890- 91), Gasparini (1891-94), Krainsky (1914), Waksman (1919), Lieske (1921), Orskov (1925), Jensen (1931-33) et Krassinikov (1938). Elle couvre la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des *actinobactéries* et les premières tentatives pour distinguer deux groupes : les pathogènes et les saprophytes.

L'époque suivante est celle de la découverte des antibiotiques produits par les actinobactéries. Elle commence en 1940 et le nom de Waksman lui est indiscutablement lié avec la découverte, en 1944, de la streptomycine produite par *Streptomyces griseus* (**Trujillo et al., 1997**). Cette période a résulté en un accroissement brusque du nombre d'espèces décrites (**Baldacci, 1962**). Ainsi, la quatrième période (1940-1970) est caractérisée par le développement de critères morphologiques et biochimiques pour la classification des *actinobactéries*, en parallèle avec la meilleure compréhension de la physiologie de ces bactéries et de leur intérêt pour la production de métabolites secondaires et leur potentialité de biodégradation de composés organiques.

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

1.2. Caractères principaux

Les Actinobactéries, anciennement connus sous le nom actinomycètes, sont des bactéries filamenteuses, aérobies à coloration de Gram positif, ayant un coefficient de chargaff (G+C%) compris entre 57% – 75% (**Anandan et al., 2016**). La plupart des actinobactéries sont hétérotrophes, saprophytes, immobiles et certains types produisant des spores flagellées qui permettent leur dispersion dans les écosystèmes aquatiques. Ils peuvent former des spores asexuées (**Prescott, 2013**). De plus, sont des bactéries formant des filaments ramifiés, mince et septées (**Dgigal, 2003**), ya des bacilles et également des coccobacilles tels que *Mycobacterium* et *Rhodococcus* (**Prescott, 2003**).

Les actinobactéries ont anciennement été considères comme un groupe de microorganismes intermédiaire entre les bactéries et les champignons, récemment ils sont bien connus comme des organismes procaryotes (**Andriambololona T, 2010**). Ils développent un mycélium végétatif et/ou un mycélium aérien, ces mycéliums sont fins et courts, contrairement à ceux des moisissures, cela permet facilement d'être différenciables des moisissures, par une simple observation microscopique des colonies ou des cellules (**Lechevalier, 2016**).

1.3. Caractères morphologiques des actinobactéries

Les caractéristiques morphologiques jouent un rôle fondamental et important dans la classification des actinobactéries tels que la structure de surface des spores, la position et le nombre de spores, la forme des sporanges ou des conidies (**Li et al., 2016**). De plus, les actinobactéries représentent une grande diversité de la structure et de la morphologie cellulaire, on rencontre des formes bâtonnet-coccoïde (*Arthrobacter*), bâtonnet (*Mycobacterium*), coccoïde (*Micrococcus*) et des spores porteuses d'hyphes ramifiés (*Micromonospora*) et des formes d'hyphes fragmentées (*Nocardia sp*) et des formes de mycéliums hautement différenciés avec des ramifications permanentes (*Streptomyces spp*, *Frankia*) (figure 02), et aussi les *Rhodocoques* (qui ne produisent pas un vrai mycélium mais forment des filaments allongés sur le substrat) et les *Corynébactéries* (qui ne produisent pas le mycélium).

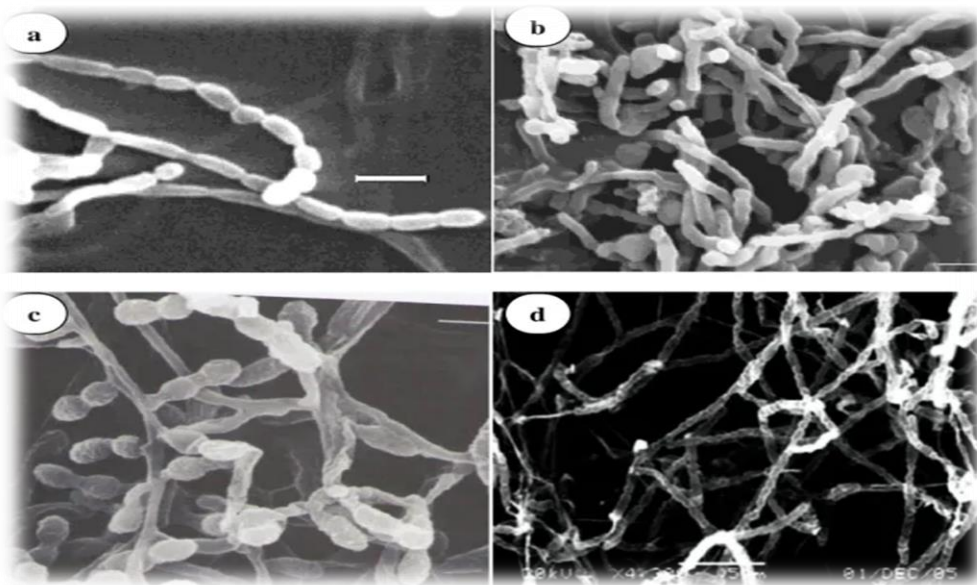
Toutefois, les actinobactéries se différencient entre eux par la présence ou l'absence d'un mycélium de substrat et un mycélium aérien, la couleur du mycélium, production de pigments mélanoides diffusibles, la structure et l'apparence de leurs spores (**Barka et al., 2016**). Ainsi que, la détermination des caractères micromorphologiques repose sur l'observation directe au microscope optique ou électronique des cultures poussant sur des milieux gélosés (**Tresner et al., 1961; Holt et al., 1994**)

La détermination des caractères macromorphologiques des actinobactéries se fait par l'observation à l'œil nu sur différents milieux de plusieurs caractères à savoir :

- ✓ La couleur et la production ou non de deux types de mycélium (mycélium du substrat et aérien) et d'un autre côté la couleur et la production des pigments diffusibles qui sont obtenus grâce à une charte de couleur (Kelly et Judd, 1976).

Principalement l'observation micromorphologie des actinobactéries portent quelque commentaire comme suit :

- ✓ La présence ou non des structures spécifiques comme les sporanges, les sclérotés ou les synnemata sur le mycélium, la présence des spores mobiles ou immobiles (Bouaziz ,2018).
- ✓ La formation des spores exogènes sur le mycélium du substrat (MS) et/ou le mycélium aérien(MS), la forme de chaînes de spores et l'ornementation de la surface des spores. La surface des spores (épineuse ou chevelue, lisse, rugueuse), la présence ou non de sporophores et La fragmentation ou non du MS (Saker ,2015).



a: *Nocardiosis sinuspersici* HM6T (Hamedi et al., 2010), b: *Saccharopolyspora indica* VRC122T (Vaddavalli et al., 2014), c: *Saccharomonospora halophila* 8T (Al Zarban et al., 2002c), d: *Actinopolyspora alba* YIM 90480T (Tang et al., 2011b).

Figure 1: Photographies au microscope électronique de micromorphologie de certaines espèce d'actinobactéries halophiles (Saker ,2015).

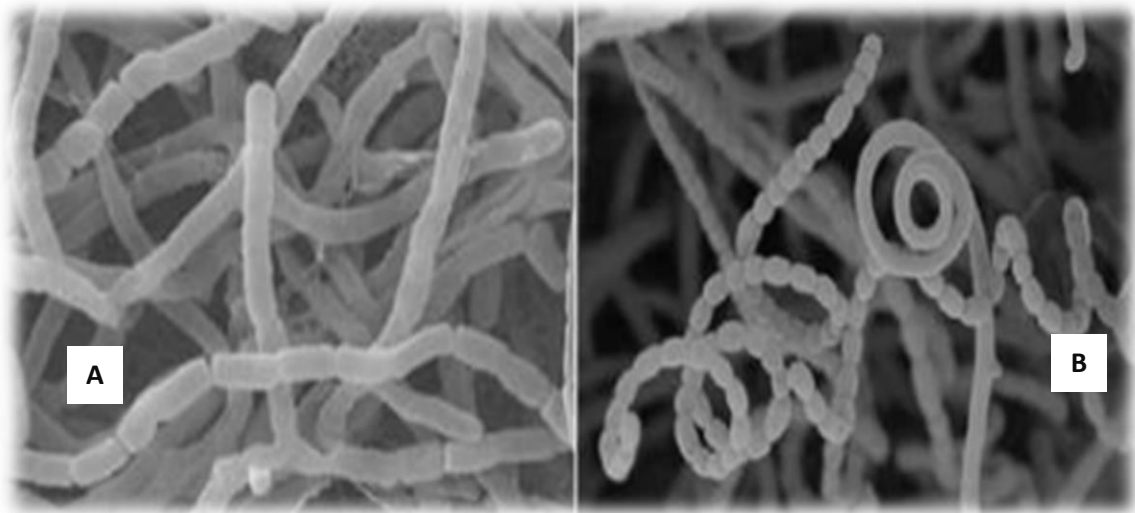


Figure 2: Photographies au microscope électronique des types fragmentaires et permanent du mycélium des actinobactéries (a) le genre *Nocardia* en fragmentation, (le genre *Streptomyces* en sporulation (Belyagoubi, 2014).

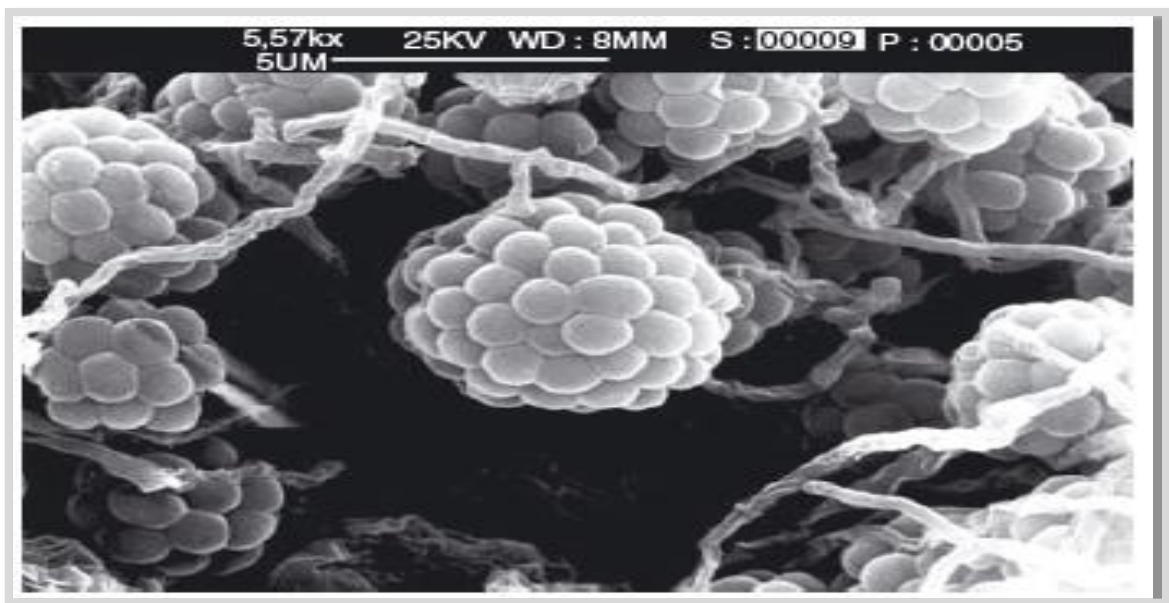


Figure 3: Micrographie électronique à balayage du mycélium aérien de la souche d'actinobactérie Sg3 montrant la morphologie des sporanges et des spores (Boudjella et al.,2007).

En effet, les actinobactéries présentent une variété de structure mycélienne, on peut citer :

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

1.3.1. Mycélium

➤ Le mycélium primaire ou mycélium du substrat

Le mycélium primaire (mycélium du substrat ou mycélium végétative), capable de croître et de se développer dans des cultures submergées et solides. Il se développe inévitablement dans les spores en germination mais il ne produit jamais de spores. La formation des hyphes aériens sur des surfaces solides basée sur de nombreuses différenciations. Le mycélium du substrat des actinobactéries se caractérise par une taille, une forme, une couleur et aussi une épaisseur bien déterminée (**Li et al., 2016**). Ainsi, le mycélium issu de branches est monopodial mais il y a des cas rares où il forme ce dernier une ramification dichotomique. En effet, ce mycélium joue un rôle important dans l'absorption des nutriments. Certains mycéliums primaires produisent des pigments solubles responsables de leur couleur, cette pigmentation peut jouer un rôle important dans l'identification de nouvelles espèces.

En effet, les pigments synthétisés peuvent être liposolubles ou hydrosolubles. Leurs couleurs sont variables à savoir blanc, incolore, noir, brun, rose, orange, rouge, vert, jaune, violet (**Conn, 1941**). En plus, le mycélium primaire semble être transparent, mince, et plus ramifié que les hyphes aériens (**Li et al., 2016**).

➤ Le mycélium secondaire ou mycélium aérien

Un réseau d'hyphes aériens formé lorsque le mycélium du substrat se développe jusqu'à un certain stade. Le réseau développe dans l'air et donne un aspect poudreux aux colonies en

croissance, les mycéliums aériens évolués des spores qui donnent des hyphes reproducteurs. Les conditions nutritionnelles et les facteurs environnementaux contrôlent la formation des hyphes aériens. Il y a une ressemblance entre les hyphes aériens et le mycélium primaire mais généralement le mycélium secondaire plus épais et moins ramifié et plus hydrophobe que le mycélium primaire. La différenciation des mycéliums aériens se produit sur les surfaces solides. Le mycélium aérien présente une différenciation suffisante comprenant la structure qui peut être poudreuse ou cotonneuse, la formation de zones ou d'anneaux concentriques et la pigmentation que divers isolats, ayant des caractéristiques morphologiques similaires, peuvent être séparés en un certain nombre de groupes sous un régime fixe (Li *et al.*, 2016).

1.4. Caractères physiologiques

Nombreux paramètres physiologiques peuvent influencer la croissance des actinobactéries et leurs développements : l'oxygène, la température, le pH...etc. (Messoudi, 2014).

❖ L'oxygène

Les actinobactéries sont généralement aérobies mais il y a certains genres d'actinobactéries ayant d'autres types respiratoires comme des genres anaérobies strictes et des genres anaérobies facultatifs (Djaballah, 2010).

❖ La température

La température optimale de croissance des actinobactéries est comprise entre 25°C et 30°C indiquant que la majorité des actinobactéries sont mésophiles, et pour la minorité des espèces sont thermophiles, leurs températures de croissance varient entre 55°C et 65°C (Rangaswami *et al.*, 2004).

❖ Le pH

La majorité des actinobactéries sont neutrophiles croissent dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8. Cependant une croissance visible à pH inférieure à 4 (Mc Kinney, 2004) signifie ici les souches acidophiles (Wang *et al.*, 2006).

❖ Tolérance en NaCl

Les microorganismes peuvent se diviser en deux groupes selon l'exigence en NaCl.

➤ **Les microorganismes halophiles**

La présence de NaCl est nécessaire pour leur croissance, la concentration de NaCl est variable : 1% à 6% pour les bactéries halophiles et 5% jusqu'à 30% pour les bactéries halophiles extrêmes (**Messoudi ,2012**).

➤ **Les microorganismes halotolérants**

La présence de NaCl est tolérable mais n'est pas obligatoire pour leurs croissances. Les microorganismes halotolérants se divisent en 3 catégories (**Nanjani ,2011**).

- Les microorganismes légèrement tolérants (tolère 6 à 8 % de NaCl).
- Les microorganismes modérément tolérants (tolère de 18 à 20 % de NaCl).
- Les microorganismes extrêmement tolérants (croître de 0% jusqu'à saturation Na Cl).

❖ **L'activité de l'eau**

La germination des spores de la majorité des actinobactéries a été observée à des valeurs d'activité d'eau approximative à 0,67. La valeur de 0,98 est optimale pour la croissance et le développement des actinobactéries (**Zvyagintsev et al.,2005**).

1.5. Les caractères biochimiques des actinobactéries

La composition chimique de la paroi cellulaire des actinobactéries est très variées, qui leur confèrent un rôle important dans la classification et la taxonomie. En effet, elle est composée en acides aminés, en glucides et en lipides (**Lechevalier et Mos, 1977**).

1.5.1. Les acides aminés

Le peptidoglycane, est un composant majeur de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif, dont les actinobactéries. L'étude de la paroi cellulaire de ces bactéries se montre qu'elle est composée soit d'une :

- Glycoprotéine contenant le plus souvent l'acide diaminopimélique (DAP). Ce type de paroi se rencontre chez les formes oxydatives rencontré majoritairement dans le sol, comme le genre *Streptomyces*.
- Glycoprotéine contenant de la lysine, ce type de paroi est retrouvées chez les formes fermentatives, habitants naturels des cavités de l'homme et des animaux (**Becker et al., 1965**).

Les constituants pariétaux majeurs qui permettent de différencier les types de la paroi cellulaire des actinobactéries sont définis dans le tableau 01.

Tableau 1: Types des constituants majeurs des parois cellulaires (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

Type de paroi	Composants pariétaux	Genre
I	L-DAP + glycine	<i>Arachnia, Pimelobacter, Nocardioides, Streptomyces</i>
II	Méso- DAP + glycine	<i>Actinoplanes, Actinomyces</i>
III	Méso- DAP	<i>Actinoplanes, Actinomyces</i>
IV	Méso- DAP + arabinose	<i>Micropolyspora, Nocardioformes</i>
V	Lysine + ornithine	<i>Actinomyces</i>
VI	Présence variable de l'acide aspartique et du galactose	<i>Microbacterium, Oerskovia, Actinomyces, Arcanobacterium</i>
VII	Acide diamino butyrique + glycine	<i>Agromyces, Clavibacter</i>
VIII	Ornithine	<i>Curtobacterium, Cellulomonas</i>

1.5.2. Les sucres

Les sucres caractéristiques de la paroi cellulaire des actinobactéries sont classés en quatre groupes majeurs (tableau 02) (Aouar, 2012).

Tableau 2: les composants de la paroi cellulaire de certaines actinobactéries selon les sucres (Aouar, 2012).

Groupe de la paroi	Sucre	Genre
A	arabinose + galactose	<i>Nocardia, Saccharopolyspora</i>
B	Madurose	<i>Actinomadura, Streptosporangium</i>
C	Ne synthétisent aucun glucide	Les <i>Streptomyces</i>
D	xylose et arabinose	des <i>Actinoplanes</i> et du genre <i>Micromonospora</i>

1.5.3. Les lipides

La composition de la paroi cellulaire des actinobactéries en lipides est nécessaire en taxonomie. Y a compris les phospholipides, la ménadione, les acides gras et l'acide mycolique. Ces derniers sont des lipides complexes insaturés (**Lechevalier et Mos, 1977**).

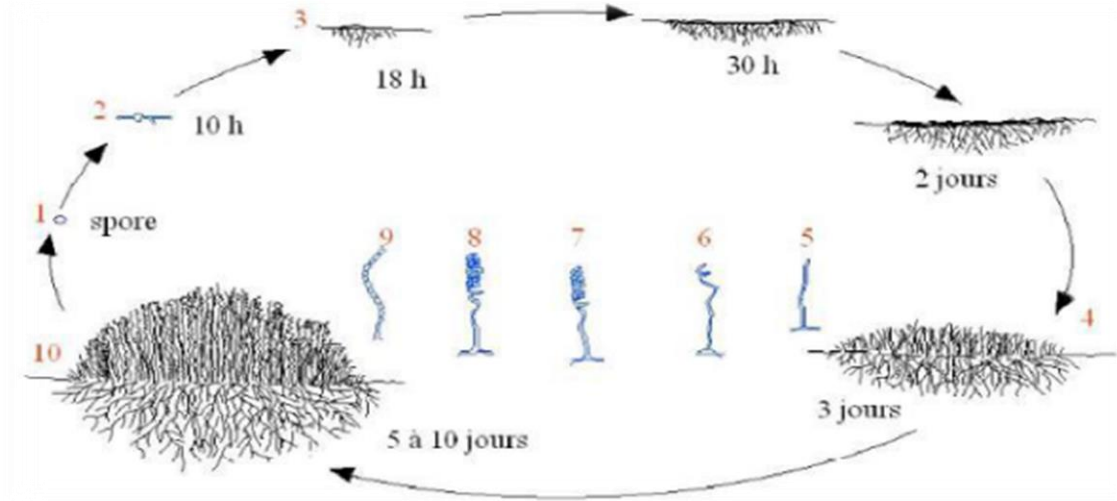
1.6. Cycle de croissance des actinobactéries sur milieu solide et en milieu liquide

Tout comme les eucaryotes multicellulaires, les actinobactéries ont un cycle de vie qui est le fruit de trois processus physiologiques fondamentaux : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire puis la mort (**Ait Barka et al., 2016**).

Les actinobactéries ont un cycle de vie similaire à celui de certains champignons, mais leur structure procaryotique sans noyau distinct, les a classés parmi les bactéries (**Ait Barka et al., 2016**). Le cycle de croissance le plus étudié est celui du genre *Streptomyces* car il est parmi les principaux genres d'*actinobactéries* qui possède un pouvoir important de production des métabolites secondaires notamment les antibiotiques (**Hamedi et al., 2017**).

1.6.1. Croissance sur milieu solide

La croissance du genre *Streptomyces* se commence par la germination d'une spore qui s'effectue en 4 phases: L'activation, l'initiation, l'émergence du tube germinatif et la croissance. Le résultat de cette germination est l'obtention d'un mycélium primaire formé d'hyphes polynuclés, non divisés et ramifiés (**Harir, 2018**). Ce mycélium est incrusté dans le milieu solide (**Juan et al., 2011**). Un mycélium aérien se développe sur ce mycélium primaire. En effet ce dernier s'autolyse, et les produits de la lyse sont cannibalisés par le mycélium aérien. Les extrémités des hyphes aérien se spiralisent puis se cloisonnent et se différencient pour donner des chaînes de spores uni-nuclées (**Flardh et al., 2009**) (figure 04).



1: spore, 2: tube germinal, 3: mycélium végétatif, 4: colonie jeune, 5: mycélium aérien, 6: sporophore, 7: sporulation, 8 et 9: maturation des spores, 10: colonie mature.)

Figure 4: cycle de développement du genre *Streptomyces* sur milieu solide (Harir, 2018).

1.6.2. Croissance en milieu liquide

Les *Streptomyces* généralement ne sporulent pas dans ces conditions (Rueda et al., 2001). Quatre types morphologiques de la croissance du mycélium se distinguent dans les cultures submergées : pellets (masses compactes de 950 μm de diamètre), des touffes (masses moins compactes de 600 μm de diamètre) et hyphes ramifiées et non ramifiées (Denser et al., 2002). Certaines de ces structures se développent sous forme d'un biofilm constitué de polymères extracellulaires collants et des substrats insolubles (Kim et al., 2004).

D'autre part, (Angel et al., 2008), ont montré une nouvelle fonctionnalité de développement de *Streptomyces coelicolor* A3 cultivé en milieu liquide. Cette souche développe un modèle de croissance analogue à celui décrit pour les cultures en surface. Les spores germent en un mycélium compartimenté (mycélium primaire). Ces jeunes hyphes cloisonnés commencent à former des pastilles qui se développent selon un motif radial (figure 05).

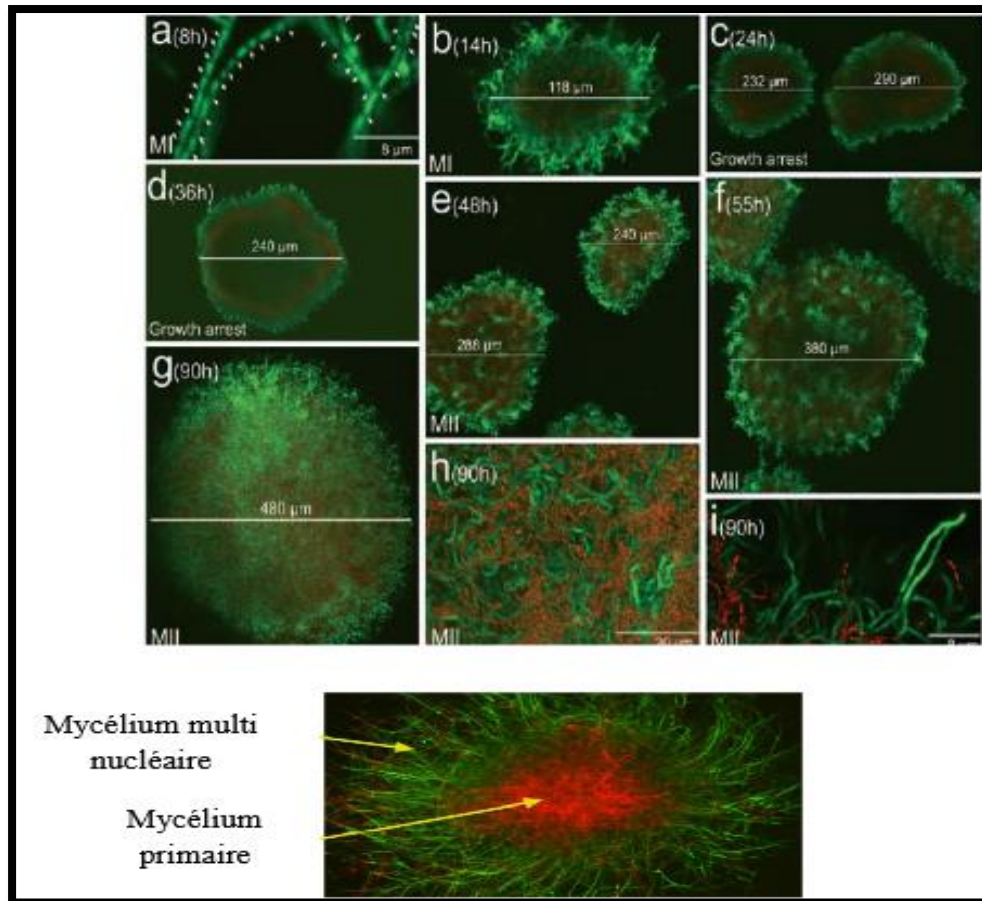


Figure 5: analyse par un microscope confocal à balayage laser (CLSM) du cycle de développement de *S. coelicolor* A3(2) dans un milieu submergé d'après (Angel et al., 2008).

1.7. Génétique

La taille de l'AND des actinobactéries peut atteindre 3,7 méga daltons, c'est-à-dire deux fois celui de *E. coli*, la durée de répliation de l'ADN est de 50 à 60 minutes. Les actinobactéries sont caractérisés par un degré remarquable de variabilité génétique due à des réarrangements du génome à cause de nombreux types de mutations essentiellement chromosomiques. Les plasmides peuvent également subir des réarrangements à la suite de croisements des actinobactéries. Des fragments chromosomiques 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 codants pour la biosynthèse d'ATB située sur le plasmide. Ils sont normalement chromosomiques, regroupés dans un ensemble de 39 unités de transcription, ils ont pour voisinage des gènes régulateurs spécifiques (Larpent et Sanglier, 1989).

Les genres d'actinobactéries peuvent être définies par l'étude du Coefficient de Chargaff (GC%) (tableau 03), qui représente le nombre de paires de bases guanine cytosine pour 100 paires de base dans l'ADN. Les espèces ne sont pas identifiées par cette technique historiquement, la classification des actinobactéries était basée sur la similarité des caractères phénotypiques. Bien que, cette méthode utilisée ait donné toute satisfaction, elle est coûteuse, lente et pas assez précise pour permettre la différenciation entre les plus proches organismes. L'étude des acides nucléiques peut donner des informations plus précises (**Williams et al., 1989**). Des auteurs insistent cependant, sur la nécessité de combiner les études phénotypiques et moléculaires pour arriver à une identification encore plus précise (**Goodfellow et al., 2004**).

Tableau 3: Pourcentage de GC de certains genres d'actinobactéries (Larpen et Sanglier, 1983).

Genre	G+C %
<i>Mycobactéries</i>	64-70
<i>Actinomycètes</i>	63-73
<i>Nocardia</i>	67-69.4
<i>Streptomyces</i>	69-76
<i>Micromonospora</i>	71.4-72
<i>Actinoplanes</i>	70.6-76

1.8. Ecologie des actinobactéries

Les actinobactéries sont des microorganismes ubiquitaires, on les rencontre sur tous les écosystèmes naturels (**Tableau 04**), principalement dans le sol où les genres les plus majoritaires sont *Streptomyces*, et aussi *Nocardia*, *Microbispora*, *Micromonospora*, *Actinomyces*, *Actinoplanes* et *Streptosporangium* (**Larpen et Sanglier**).

Les actinobactéries colonisent également les milieux aquatiques tels que les lacs, les océans, eau de mer, les ruisseaux, les fleuves, les rivières et les marécages comme *Microspora*, *Streptosporangium* (**Jensen et al., 2005; Ghanem et al., 2000**). La plupart de ces bactéries sont saprophytes et qui jouent un rôle important dans la décomposition et la minéralisation de la

matière organique et aussi la production de gèosmine et le 2-méthyl isobornéol contribue significativement à l'odeur qui caractérise le sol (Zaitlin et al., 2003).

Les actinobactéries préfèrent un pH neutre ou peu alcalin, ils sont généralement mésophiles se développent à une température optimale entre 25°C à 30°C tels que *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia*. D'autres sont thermophiles tolérants des températures avoisinant les 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C (Barka et al., 2016).

Tableau 4: Habitats de quelque actinobactéries dans la nature.

Souche	Habitat	Références
<i>Nocardiopsis baichengensis</i>	Sédiments salins, Province de Xinjiang (China)	Li et al.,(2006)
<i>Streptomyces Sp</i>	Le sol, Ennor Saltern, Tamil Nadu.	(Lashmipathy et al ., 2010)
<i>Streptoverticillium Album</i>	Habitat marin, Kodiakari, Vedaranyam, Nagapattinam, Tamil Nadu	(Gayathri et al ., 2011)
<i>Saccharopolyspora</i>	sédiments marins, Salt Pans, Arakkonam, Tamil Nadu , India.	(Suthindhiran et Kannabiran, 2009a)
<i>Streptomyces Viridiviolaceus</i>	Lac de Bardawil Egypt.	(Rabeh et al.,2007)
<i>Nocardiopsis rosea</i>	Sol salin, Province de Xinjiang (China)	(Li et al.,2006)

1.9. Importance des actinobactéries

Les actinobactéries sont connus parmi les microorganismes les plus producteurs des métabolites bioactifs importants tels que les antibiotiques et les enzymes (Fiedler et al., 2008 ; Passari et al., 2015). Bien que la diversité biologique des actinobactéries dans divers substrats naturels leur permette de produire une variété de métabolite biologiquement active (Bouaziz, 2018).

1.9.1. Domaine biotechnologique

La figure 06 et le tableau 05 résume quelque application des actinobactéries en domaine biotechnologique.

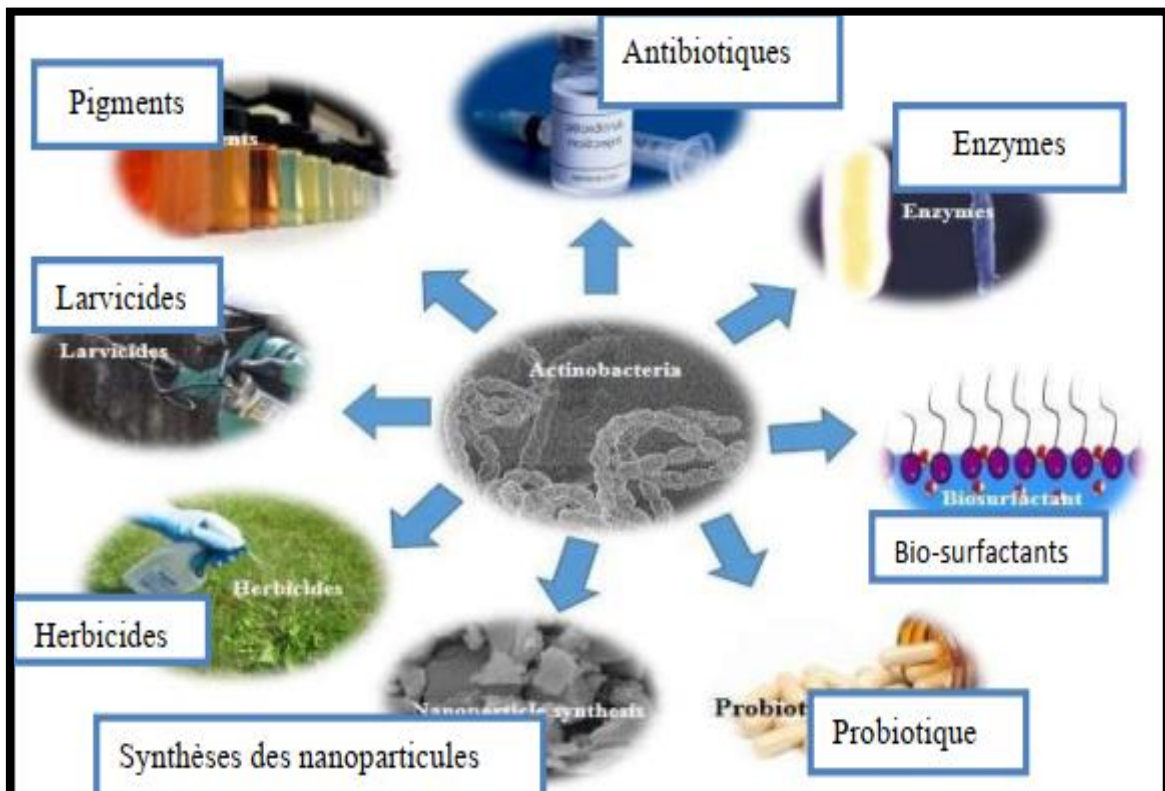


Figure 6: des application biotechnologiques des actinobactéries(Randjani et al.,2016).

Tableau 5: nouveaux métabolites produits par les actinobactéries (Kalpana Et Rajamanickam,2018).

métabolites secondaires	Sources
Antibiotiques.	<i>Salinosporatropica, streptomycètes Acta 1362.</i>
Pigments.	<i>Streptomyces virginiae</i>
Enzymes.	<i>Streptomyces olivochromogens, Streptomyces parvulus.</i>
anti-inflammatoires.	<i>Micromonospora, Streptomyces arenicola.</i>
Endophenazines.	<i>Nocardia alba.</i>

❖ Production d'antibiotique

Dans le domaine biotechnologique, les actinobactéries jouent un rôle fondamental dans la production des métabolites secondaire bioactifs. Parmi les métabolites secondaires les plus étudiés se trouvent les molécules à activité antibiotique. D'un point de vue scientifique, un antibiotique est une substance sécrétée par un microorganisme qui est capable soit d'inhiber la croissance soit de tuer des microorganismes pathogènes. Les antibiotiques sont généralement produits au cours de l'idiophase et sont très diversifiés au niveau de leur structure chimique. Cependant, certains travaux ont montré que la production des antibiotiques peut débuter durant la phase exponentielle (Zitouni et al., 2004).

❖ Production d'enzymes

Les enzymes sont des molécules habituellement de nature protéique, agit comme des biocatalyseurs, qui exercent une activité catalytique spécifique d'un très grand nombre de réactions chimiques (Navarre et Françoise, 2010). Sont les plus importants produits des actinobactéries après les antibiotiques car possédant une capacité hydrolytique extracellulaire qui a des différentes applications dans les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et en biotechnologie (Minotto et al., 2014) (tableau 06).

Tableau 6: certains types d'enzyme et leurs applications industriels (Ranjani et al., 2016).

Enzyme	Actinobactérie	Application industrielle
Phytase	<i>Streptomyces luteogriseus</i> R10	Aliments pour les animaux
Amylase	<i>Streptomyces erumpens</i>	Industrie d'amidon
Pectinase	<i>Streptomyces lydicus</i>	Textile
Xylanase	<i>Actinomadura sp</i>	Pâtes à papier
Lipase	<i>Streptomyces griseus</i>	Laities
Cellulase	<i>Thermomonospora sp.</i>	Détergents
Protéase	<i>Nocardiopsis sp</i>	Aliments

➤ Amylase

Les amylases, parmi les enzymes amylolytique les plus utilisées en biotechnologie industriel et alimentaire (Figure 07).

Les espèces *Streptomyces erumpens* et *Thermobifida fusca* sont parmi les souches d'actinobactéries qui sécrètent l'amylase à l'extérieur de la cellule. Du plus, ils sont utilisées comme conservateur dans la production des jus des fruits, des gâteaux et les sirops à base d'amidon, (Mobini-Dehkorde et Javan , 2012 ; Janaki., 2017).

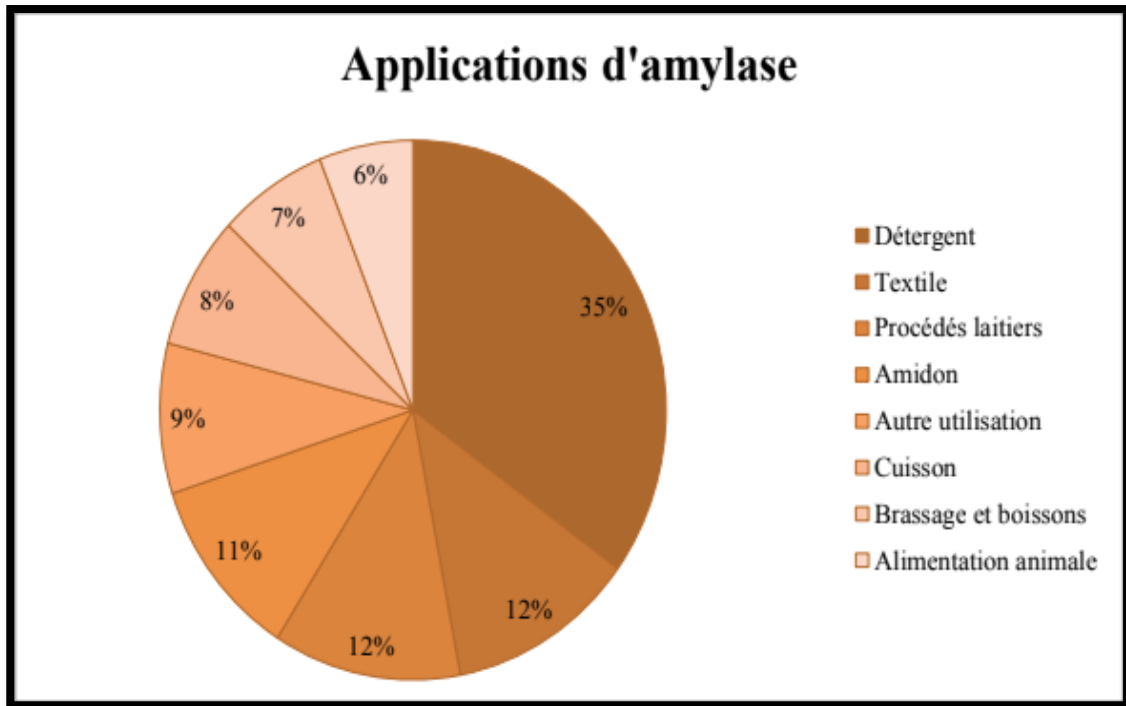


Figure 7: Certaines applications de amylase (Arora , 2003).

➤ **Protéase (gélatinasse)**

Les enzymes protéolytiques ou protéases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des protéines en favorisant l'hydrolyse des liaisons peptidiques entre deux acides aminés. Les protéases dépolymérisent les peptides et les protéines en libérant des acides aminés de plus petits peptides (Navarre, 2010; Jean-Claude et al.,2014).

Les espèces *Streptomyces griseus*, *Streptomyces spp*, *Streptomyces thermoviolaceus* et *Nocardiopsis spp*, sont parmi les souche d 'actinobactéries les plus connus comme producteurs de protéases (Ghorbel, 2014).

Il existe de nombreux domaines dans lesquels est utilisée la protéase tels l'alimentation, les brasseries, la transformation du cuir, les détergents, l'industrie l'alimentation animale, le tannage, la pharmacie, et dans l'épilage de peaux de chèvre (Singh et al., 2012).

➤ **Pectinases**

Ces enzymes sont considérées comme un groupe important d'enzymes qui hydrolysent la pectine par divers mécanismes et peuvent être classés en dépolyméras lyases, estéras, dépolyméras hydrolytiques (Nicemol et al., 2008).

Plusieurs genres d'actinobactéries produisent les pectinases comme *Streptosporangium*, *Microbispora*, *Actinoplanes*, *Micromonospora*, en particulier le genre *Streptomyces* est le plus fournisseur de ce type d'enzyme comme l'espèce *S. lydicus* (Saci, 2011). Les pectines sont utilisées pour la préparation des confitures, des gelées, des marmelades et des conserves, aussi utilisé comme cryoprotecteurs dans les surimis qui sont des mélanges protéiniques d'origine japonaise à base de poisson aromatisé, ayant le goût de crabe (Barrera et al., 2002)

1.9.2. Domaine agronomique

Dans le domaine agronomique, les actinobactéries jouent un rôle fondamental dans la fertilisation du sol et la décomposition de certaines toxines sécrétées par les champignons toxigène et diminuer leur teneur en composé agro-alimentaire (Holzapfel et al., 2002). Du plus, ils contribuent à la bioremédiation et le processus du recyclage consistant à la biodégradation de molécules organiques et des éléments minéraux (Djinni, 2009).

Le genre *Frankia* joue un rôle nécessaire dans la fixation d'azote atmosphérique en symbiose dans les nodules racinaires de certains arbres dicotylédones (autres que les légumineuses) tels que le casuarina, l'orme, l'aulne (Becking, 1974).

Les actinobactéries ont la capacité de participer à la croissance des plantes soit d'une façon direct ou indirect à l'aide d'activités PGPR (figure 08). Les mécanismes directs peuvent être par la fixation de l'azote atmosphérique, la production de diverses phytohormones qui sont parmi les régulateurs de croissance les plus importants comme l'acide indole acétique (AIA), la production des enzymes, l'amélioration de la disponibilité du fer, la solubilisation du phosphore et la réduction du stress, la mobilisation des minéraux (P, Zn et Fe), ainsi que les mécanismes indirects inclut par l'inhibition des phytopathogènes via trois types d'interactions, la compétition, l'antagonisme et l'induction de la défense de la plante (Osman et al., 2017).

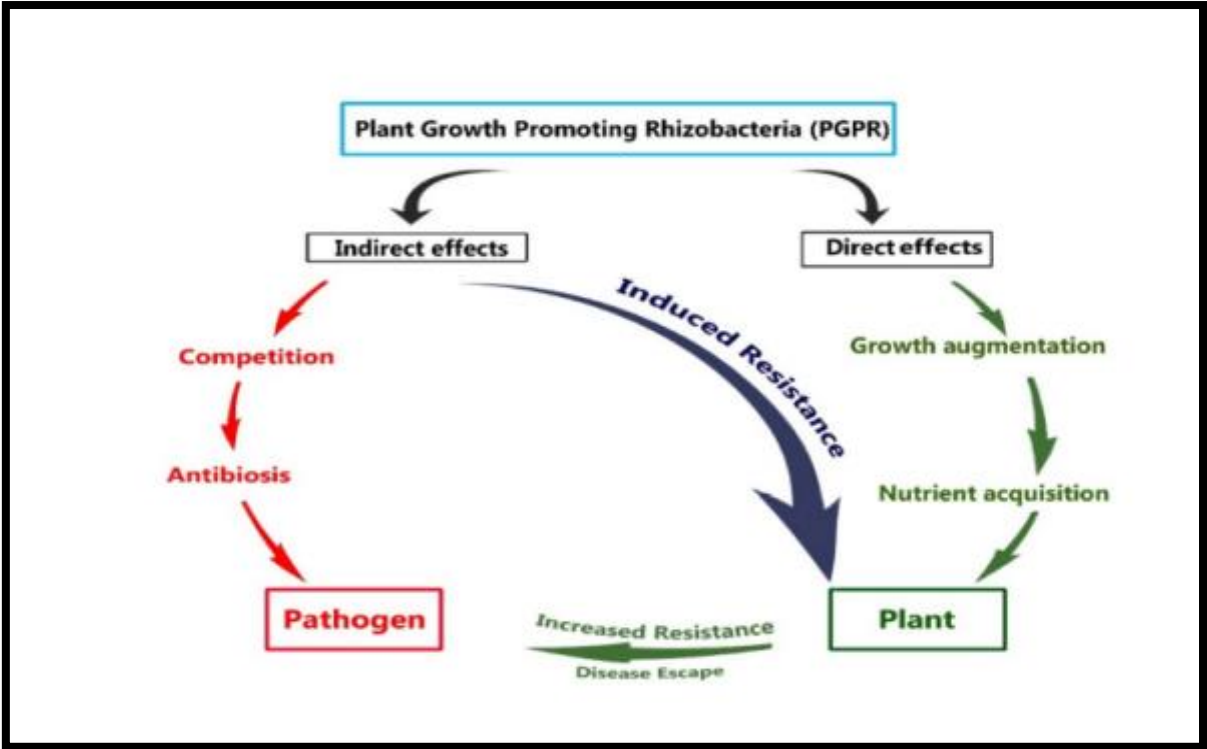


Figure 8: Présentation générale des deux mécanismes directs et indirects des PGPR (Basu et al., 2021).

CHAPITRE II
LES SUBSTANCES
BIOACTIVES
PRODUITES PAR
LES
ACTINOBACTERIES

1. Les Antibiotiques

1.1. Définition

Le terme antibiotique est une combinaison de deux mots grec: « anti » signifiant contre et « bio » signifiant la vie (**Baraka et al., 2016; Mohammadipanch et Wink ,2016**). Alors que les antibiotiques dans leurs définitions sont un groupe des agents antimicrobienne de différentes origines : naturelles, synthétiques, ou semi-synthétique, utilisés pour le but de traiter les maladies infectieuses (**Rehman et al., 2019**). Les antibiotiques se divisent selon son activité en deux types (tableau 07) :

- Les antibiotiques à effet bactériostatique, qui empêchent la croissance des bactéries en ralentissant d’abord leur croissance puis en arrêtant leur processus de multiplication et les antibiotiques bactéricide qui lysent la bactérie (**Boulahbal, 2006**).
- Les antibiotiques sont considérés comme des produits de métabolisme secondaire ils sont synthétisés à la fin de la phase exponentielle et au début de la phase stationnaire (**Bu' lock ,1965**). Ils agissent à l’intérieur de l’hôte affectant ainsi ses cellules et ses tissus. Ils sont également caractérisés par le principe de toxicité sélective, ce qui signifie que l’agent antimicrobien idéal ne tue que les microorganismes et n’affecte jamais l’hôte humain (**Tortora et al.,2019**).

Tableau 7: Exemples des antibiotiques bactéricides et bactériostatique.

Bactériostatiques	Bactéricide
Macrolides	B-lactames
Sulfamides	Fluoroquinolones
Tétracyclines	Aminoglycosides
Niryofuranes	Nitroimidazoles
Phénicoles	Glycopeptides (bactéricide lente)
Ethambutol	Polymyxines
Cyclosérines	Synergistines Ansamycines Acide Fusidique Isoniazide

1.2. Classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon nombreuse critères notamment :

- **L'origine** : L'antibiotique peut être de source naturelle, synthétique ou semi-synthétique.
- **Le mode ou le mécanisme d'action**: les antibiotiques ciblent certains éléments dont les plus important sont : la paroi, la membrane, les acides nucléiques, les protéines.
- **Le spectre d'activité** : liste des espèces sont lesquelles les antibiotiques sont actifs.
- **La nature chimique**: ce dernier permet de classer les antibiotiques en familles (El Ghachtouli et El Zhari ,2014).

1.2.1. Classification selon le mécanisme d'action

Chaque famille d'antibiotiques à un site d'action spécifique sur la bactérie (**figure 09**).

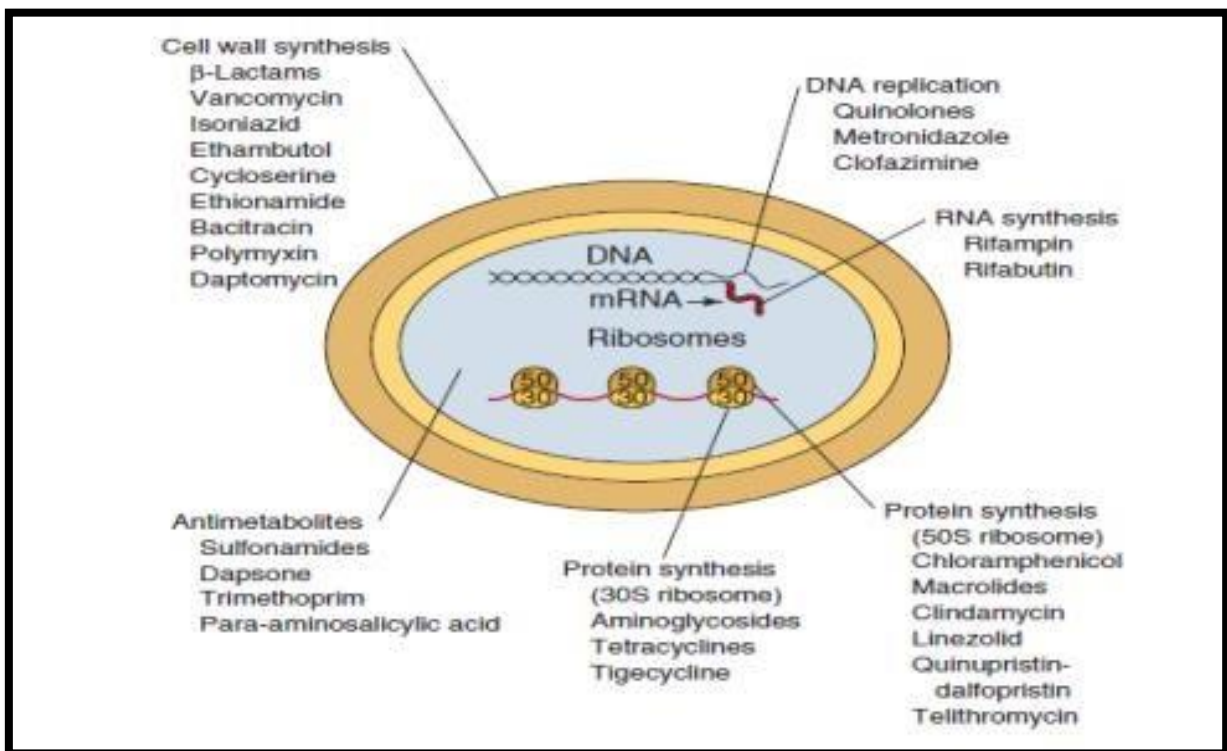


Figure 9: Les cibles d'antibiotiques (Rosenthal et Pfaller, 2016).

➤ **Antibiotiques agissent sur la membrane cellulaire**

Les membranes plasmiques des bactéries sont constituées d'acide gras de deux origines, soit auto-fabriqués (fabriqués par la cellule), soit prélevés dans la nature comme éléments constitutifs. Dans ce cas, les antibiotiques ciblent les étapes métaboliques de la synthèse des acides gras et des phospholipides membranaires comme indiqué dans le tableau ci-dessous (tableau08) (Kirmusaoglu.S et al., 2019).

Tableau 8: Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique (Van Bambeke, 2008; Inesss, 2017).

Famille d'ATB	Groupe/ Exemples d'ATB	Spectre d'activité	Mode d'action
Les polypeptides	-Polymyxines B -Clolisine -Bacitracine	Bactérie Gram négative	Ces antibiotiques ont une action bactéricide, ils interagissent avec les phospholipides et pénètrent dans les membranes cellulaires provoquant des changements dans la perméabilité aboutissant à la perturbation des membranes ce qui conduit à la mort cellulaire.

➤ **Antibiotiques agissent sur la paroi**

Les antibiotiques empêchent la formation de la paroi cellulaire et ne sont actifs que sur les germes en croissance qui s'allongent en l'absence de paroi ce qui conduit à son éclatement sous l'influence de la pression osmotique interne (Mahdi, 2008). Le tableau 09 montre une famille d'antibiotique agissant sur la paroi bactérienne.

Tableau 9: famille Antibiotiques agissent sur la paroi bactérienne.

Famille	Groupe	Exemple d'antibiotique	Mode d'action
β-lactamines	Pénème	Pénicilline G Amoxicilline/Ampicilline	Action sur la synthèse de paroi de bactéries en phase de croissance par inhibition de transpeptidases en empêchant les liaisons interpeptidiques (Epote Ewane, 2014) . Il en résulte une altération de la paroi qui possède un effet létal sur la bactérie. (Nauciel et Vildé, 2005)
	Carbapénèmes	Imipénème Ertapénème	
	Oxapénames ou clavams (acide clavulanique)	Amoxicilline+Acide clavulanique Ticarcilline+Acide clavulanique	
	Céphèmes	Céfazoline Céfoxitine Céfotaxime	
	Monobactames	Aztréonam	

➤ **Antibiotiques agissants sur les protéines**

Les antibiotiques peuvent inhiber la réplication, la transcription et la synthèse des folates de microorganismes. Il existe des inhibiteurs de la réplication tels que : les quinolones et les mitomycines et d'autres sont les inhibiteurs de la transcription comme : les rafimycines **(Kirmusaoglu, S et al.,2019)**. Le tableau 10 montre les modes d'action de quelque famille d'antibiotique agissants sur la synthèse des protéines.

Tableau 10: mécanismes d'action de quelque famille d'antibiotiques agissant sur la synthèse des protéines.

Famille	Antibiotique	Mode d'action
Aminoside	Gentamicine Amykacine	Blocage de la synthèse des protéines en se fixant sur la sous unité 30s du ribosome. (Ziai, 2014).
Tétracycline	Tétracycline Doxycycline	Fixation sur la sous unité 30s du ribosome (Nauciel et Vildé, 2013) , il en résulte une inhibition de la synthèse protéique. (Epote Ewane, 2014).
Phénicoles	Chloramphénicol	Inhibition de synthèse des protéines (en se fixant sur la sous unité 50s du ribosome bactérien. (Epote Ewane, 2014).

➤ **Antibiotiques ciblant les acides nucléiques**

Les antibiotiques ciblant la sous-unité 30S ou 50S du ribosome bactérien. Parmi les inhibiteurs de la sous-unité 30S ya les tetracyclines et les aminosides et pour la sous-unité 50S on peut citer les macrolides et les axazolidinones **(Kapoor et al., 2017).**

Le tableau 11 indique les familles d'antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques.

Tableau 11: familles d'antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques.

Famille	Antibiotique	Mode d'action
Quinolones+ Fluoroquinolone	Acide nalidixique	Inhibition de la synthèse de l'ADN bactérien par action sur la topoisomérase II ou de l'ADN gyrase (enzyme qui surenroule l'ADN bactérien et permet ainsi son élongation). (Ziai, 2014).
	Ciprofloxacine	
	Ofloxacine	
	Lévofloxacine	
Rifamycines	Rifampicine	Inhibition de l'ADN polymérase ce qui provoque l'inhibition de la transcription de l'ADN en ARNm. (Nauciel et Vildé, 2005).

1.2.2. Classification selon le spectre d'activité

Le spectre d'activité d'un antibiotique est destiné à décrire l'activité de cette molécule sur une espèce bactérienne (Cuallo et Mérens, 2008), et il existe une relation directe entre le spectre et les agents infectieux exposés aux antibiotiques, plus le spectre est large plus le nombre des agents infectieux exposés aux antibiotiques est importantes et diversifié (Lionel,2009).

Les antibiotiques peuvent être divisés en 3 classes :

❖ Antibiotique à large spectre

Il s'agit d'un antibiotique efficace sur un grand nombre de types de germes, et son efficacité est élevée contre un nombre important de bactéries pathogènes à savoir Gram positifs ou bien négatifs (Bennini et Mehdi, 2017).

❖ Antibiotique à Spectre étroite

Il s'agit d'un antibiotique efficace sur un nombre limité de germes (Bennini et Mehdi, 2017).

❖ Antibiotique à spectre Limité

Il s'agit d'un antibiotique dont l'efficacité est faible ou partielle sur un groupe de germes, à

L'origine, ce type de spectre était large puis resserré avec l'apparition de la résistance bactérienne (Bennini et Mehdi, 2017).

1.2.3 La résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques désigne la capacité des microorganismes à résister à l'action d'un antibiotique (Ziai, 2014). Le développement de la résistance bactérienne aux antibiotiques à pousser les chercheurs de trouver de nouvelles molécules plus puissantes possédant des activités intéressantes vis-à-vis des souches résistantes (Halnt et al., 2016).

Ce développement de la résistance bactérienne vis-à-vis des antibiotiques cause des infections difficiles à traiter et pose un problème sérieux de la santé publique, et la plupart des bactéries résistantes provoquent des infections nosocomiales qui entraînent une aggravation du pronostic des patients.

On distingue Deux types de la résistance bactérienne : la résistance naturelle et la résistance acquise (Mehdi, 2008).

A. La résistance naturelle

Appelée aussi résistance primaire ou innée, elle se définit comme une insensibilité générale vis-à-vis d'une molécule spécifique d'antibiotique ou une classe d'antibiotique. Cette résistance concerne tous les souches appartenant à la même espèce ou au même genre bactérien (Carle, 2009 ; Muylarert et Mainil, 2012). En effet, ce type de résistance est stable, d'origine génétique à transmission verticale.

B. La résistance acquise

La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que certaines souches d'une espèce donnée, c'est lorsqu'une bactérie naturellement sensible à un antibiotique devient résistante à l'antibiotique en question. Elle provient d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de supporter une concentration d'antibiotique supérieure à celle qui inhibe les souches sauvages de la même espèce (Nikaido, 2009; Tenover, 2006). Un exemple est la résistance acquise par *E. coli* sauvage aux pénicillines (amoxicilline ou AMX) et (ticarcilline ou TIC) (Tenover, 2006).

1.3. Les actinobactéries et la production des antibiotiques

L'évolution de la résistance bactérienne génère un grave problème de santé publique du fait de l'utilisation inconsidérée d'antibiotiques. Les produits naturels microbiens ont été

l'une des sources les plus importantes pour la découverte de nouveaux antibiotiques potentiels. Cependant, la baisse du nombre de nouveaux échafaudages chimiques découverts et le problème de redécouverte d'anciennes molécules connues sont devenus une limite pour les programmes de découverte développés par une industrie confrontée à un manque d'incitations et à un modèle économique en panne. En revanche, l'émergence de la multi résistance aux agents pathogènes clés a continué de progresser et ce problème est aggravé par le manque de nouveaux antibiotiques en développement pour traiter la plupart des infections difficiles à traiter.

En effet, les actinobactéries constituent une source importante et exceptionnelle des molécules bioactives, dont les plus importantes sont les antibiotiques. Les actinobactéries rares comme, *Actinomadura*, *Micromonospora* et *Amycolatopsis*, *Kibdelosporangium*, *Dactylosporangium*, occupent une place particulière dans la découverte de nouvelles molécules bioactives (Ding et al., 2019).

La capacité de production des antibiotiques par les actinobactéries varie énormément selon les espèces avec une diversité de structure par exemple y a certaines espèces de *Streptomyces* produisent un seul antibiotique par contre d'autres capables de produire plusieurs molécules dotées de activités biologiques intéressantes (tableau12).

Tableau 12: Exemples des antibiotiques produites par les Actinobactéries (Risidian et al., 2022)

Les actinobactéries	L'antibiotique produit	Famille de l'antibiotique	Mécanisme d'action
<i>Streptomyces griseus</i>	Streptomycine	Aminosides	Ils inhibent la synthèse protéique des bactéries en bloquant la sous-unité du ribosome 30S.
<i>Micromonospora purpurea</i>	Gentamycine	Aminosides	
<i>Streptomyces erythraeus</i>	L'érythromycine	Macrolide	Ils bloquent La sous-unité ribosomale 50S entraînant une inhibition la

			synthèse protéique de la bactérie
<i>Amycolatopsis orientalis</i>	Vancomycine	Glycopeptiques	Inhibent la biosynthèse de la paroi cellulaire bactérienne en se liant à sa structure peptidoglycane
<i>Nocardia Lurida</i>	Ristocétine	Glycopeptiques	

2. Les Antifongiques

2.1. Généralité sur les infections fongiques

Les infections fongiques ou les mycoses sont des maladies ou des infections provoquées par des champignons microscopiques potentiellement pathogènes pour l'homme. Elles peuvent être superficielles ou profondes, certains sont normalement présents sur la peau ou dans l'organisme sans leur endommager, Ils n'engendrent des mycoses profondes que chez des personnes aux défenses immunitaires affaiblies et les personnes atteintes de maladies chroniques comme (les malades du cancer, les malades du sida, immunosuppresseurs, les malades traités par chimiothérapie... etc.). Et certains sont pathogènes comme par exemple levures (*Candida sp*) et certains dermatophytes (*Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*) provoquent les mycoses cutané ou muqueuses sont moins graves et plus fréquentes.

Ces mycoses se manifestent par une atteinte de la peau ou des muqueuses au niveau des plis (intertrigos), des ongles (onychomycoses), de la bouche (muguet), du vagin (candidose vaginale), des pieds (pied d'athlète). (Séverine, 2010).

En effet les agents de mycoses peuvent avoir une origine endogène ou exogène. Les champignons exogènes vivent dans le sol, les végétaux ou les animaux et peuvent se contaminer l'homme de diverses formes soit par le contact direct, le contact cutané, inhalation et ingestion, pénétration transcutanée et la voie intraveineuse. Concernant les champignons d'origine endogène vivent à l'état saprophyte d'un organisme hôte, homme ou animal et peuvent devenir pathogènes sous l'influence de plusieurs facteurs favorisants qui affectent l'équilibre du milieu (Agbo et Guedj, 2005).

Les genres *Candida* et *Aspergillus* sont parmi les types de champignons les plus pathogène en médecine humaine (Carle, 2003, Holding et al., 2003, Kam et Lin, 2002).

Cependant, ces infections fongiques posent les plus graves problèmes de santé publique dans le monde avec 2 millions de patients annuellement tels qu'Aspergillose, pneumocystose, Candidose et méningite cryptococcique sont responsables de 800 000 morts par an (Brown et al.,2012).

Plus généralement touchant essentiellement les patients immunodéprimés comme les personnes infectées par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les personnes ayant subi une transplantation d'organe solide et les personnes ayant suivi une chimiothérapie et aussi les cancéreux que ce soit sur les plans pharmaco-économique et épidémiologique (Gangneux et al., 2016).

Pour cette raison, la recherche de nouvelles molécules indispensable est cruciale pour lutter contre ce type d'infection et est générée par l'étude de microorganismes qui ont la capacité de former un réservoir de molécules bioactives, surtout, celles qui développent une activité antifongique (Youcef ,2014) particulièrement les actinobactéries.

2.2. Définition

Les Antifongiques ou les fongicides tirent leur nom du latin fungus qui signifie champignons. Sont des molécules possédant la capacité de détruire et d'inhiber spécifiquement les différents champignons impliqués soit en mycologie médicale soit en agriculture (les phytopathogène), ou au moins, de réduire leur prolifération (Anofel, 2007).

Ainsi, les agents antifongiques maintenant sont utilisés dans plusieurs domaines en thérapeutique humaine et vétérinaire, dans l'industrie alimentaire, agriculture pour la protection des plantes et des cultures et traitement du bois.

Le tableau 13 regroupe des exemples d'antifongiques produits par les actinobactéries.

Tableau 13: Exemples d'antifongiques produits par les actinobactéries.

Microorganismes producteur	Les métabolites Antifongiques	Références
<i>Streptomyces malaysiensis</i>	Validamycine	(Rajivgandhi et al.,2022).
<i>Streptomyces lucius</i>	Antimycine	(Rajivgandhi et al.,2022).

<i>Streptomyces lomodesis</i>	Lomofugine	(Rajivgandhi et al.,2022).
<i>Amycolatopsis sp</i>	Macrotermicine	(Beemelmans et al.2017; Rislian et al.,2022).
<i>Micromonospora narashinoensis</i>	Rustmicine	(Talukdar et al., 2016).
<i>Nocardia transvalensis</i>	transvalencin A	(Hoshino et al., 2004).

3. Les pigments

Les pigments sont des composés utilisés dans de nombreuses industries à savoir l'industrie alimentaire comme additifs alimentaires, épaississants de couleur et antioxydants ...etc. Ces molécules ont plusieurs origines animales, végétales et microbiennes. Les actinobactéries représentent une source importante de production des pigments possédant des activités biologiques intéressantes (tableau14, figure 10 et figure 11). Ces pigments produits sont considérés comme une caractéristique culturelle importante qui s'ajoute aux caractéristiques qui aident à décrire à identifier les actinobactéries au niveau de l'espèce. Les mélanines par exemple, sont produits par ces dernières et elles apparaissent noires au généralement brun foncé.



Figure 10: Production de pigments par des colonies de Streptomyces (Selim et al, 2021).

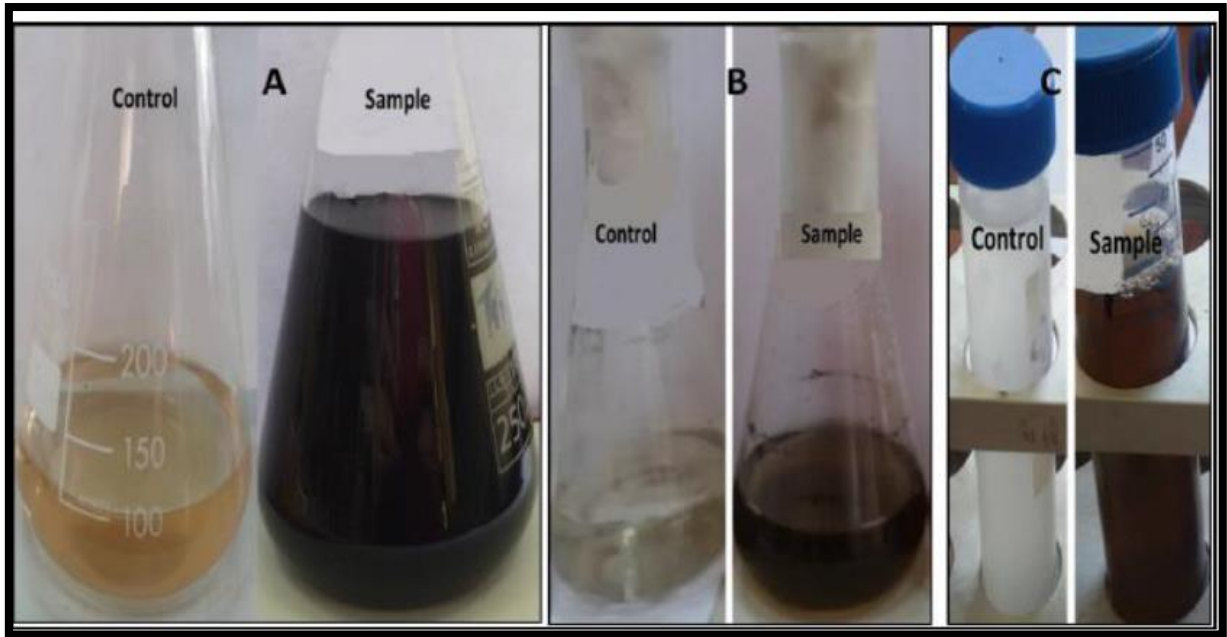


Figure 11: Production de pigments par *Streptomyces torulosus* en utilisant différents milieux de cultures : A; milieu à extrait de malt, B; milieu de glycérol asparagine, C; milieu à tyrosine (Kheiralla et al., 2016).

Tableau 14: Liste de de différents pigments produits actinobactéries (Andnane., 2016).

Pigment	Classe	Actinobactéries
Rhodomyicine	Glycoside d'anthracycline	<i>Synodontis violaceus</i> DSM 40704
Actinomycine	Phénoxazinone	<i>Streptomyces</i> sp.
III Undécylprodigiosine IV Métacycloprodigiosine	Prodigiosin	<i>Streptomyces longispororuber</i> DSM 40599
Granaticin	Naphthoquinone	<i>Streptomyces litmocidine</i> DSM 40164

4. Les Antioxydants

Les Antioxydants sont définis par (Leong et al., 2002), comme des molécules qui sont présentes en faible concentration par rapport au substrat oxydable, qui est capable de ralentir ou de prévenir son oxydation en éliminant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif. Ils jouent un rôle essentiel dans la protection contre le stress oxydatif dans la cellule ou un organisme en bloquant ou en retardant les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives d'oxygène (ERO) (Apak et al., 2016, Halliwell, 2011).

Différents types de molécules antioxydante ont été élaborés par les actinobactéries (tableau15) sont utilisés par plusieurs industries à savoir les industries alimentaires et pharmaceutiques.

D'après (Dabelstein et al., 2007), les antioxydants peuvent être des antioxydants endogènes (naturels) qui sont produits par l'organisme et des antioxydants exogènes d'origine alimentaire.

4. 1. Les antioxydants endogènes (naturels)

Les antioxydants endogènes comprennent les enzymes ou les protéines antioxydants produites par notre organisme avec une présence permanente dans l'organisme (MIKA et al., 2004). Ils Peuvent être classés en deux catégories.

➤ **Les antioxydants endogènes enzymatiques**

Les antioxydants endogènes enzymatiques comprennent les enzymes qui ayant une action antioxydante tels que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase(CAT), le superoxyde, Glutathion peroxydase (GPx) (**Kelly, 2017**).

a) Les superoxydes dismutases(SOD)

D'après (**Haleng et al., 2007**), Les superoxydes dismutases(SOD) sont des antioxydants enzymatiques. Ces métalloprotéines représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l'anion superoxyde O_2^- par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Toutefois, le rôle important du superoxyde dismutase ou SOD est de catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire.

b) La catalase (CAT)

La catalase(CAT) est une enzyme que l'on retrouve au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Elle est responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans les conditions physiologiques (**Niki et al., 2007**).

Elle est active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou lorsque la quantité de glutathion peroxydase est limitée. Son rôle majeur est d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (**Cantin,1999**).

➤ **Les antioxydants endogènes non enzymatiques**

Cette catégorie comprend plusieurs molécules comme le glutathion (on le retrouve dans des compartiments intracellulaires comme le cytosol et noyau et mitochondries.), l'acide urique et les protéines de stockage des métaux de transition (ferritine, transferrine, lactoferrine, l'acide lipoïque, L-arginine, etc.) (**Savini et al., 2013**).

4.2. Les antioxydants exogènes

Cette catégorie comprend une seconde ligne de défense (les piègeurs de radicaux libres) qui sont des composés amenés par l'alimentation apportant un soutien significatif dans la lutte antioxydante et joue un rôle majeur dans la neutralisation des effets toxiques des ERO et en limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

En plus, Les antioxydants exogènes, comprennent les vitamines C (ascorbate) et vitamine E (α tocophérol), les caroténoïdes (vitamine A et β -carotène, les flavonoïdes...) et des composés phénoliques (McCall et Frei, 1999).

a) La vitamine C (ascorbate)

La vitamine est une molécule hydrophile que l'on retrouve principalement dans de nombreux fruits comme les oranges, les citrons et les fraises, il confère un rôle de protection des lipides et des protéines et d'ADN par le piégeage des radicaux libres et la réduction des ions métalliques (Pallauf et al., 2013).

b) La vitamine E (α tocophérol)

La vitamine C on l'on retrouve en grande quantité dans les huiles végétales, elle est comme un antioxydants contre les(ERO)en empêchent la propagation de la peroxydation lipidique (Yang et McClements,2013).

Ces espèces (ERO) peuvent être des radicaux libres tels que l'anion superoxyde, des radicaux hydroxyles et des espèces non radicalaires telles que le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet (Inbathamizh et al., 2013).

Tableau 15: Quelques exemples de molécules antioxydantes produites par quelques espèces d'actinobactéries.

Molécules	Espèces	Références
Z)-I-(I-hydroxypenta-2-4-dien-1-yl) oxy anthracene9, 10-dione.	<i>Nocardioopsis alba</i>	Avilala et al., 2014
Dihydroherbimycin	<i>Streptomyces sp</i>	Cheng et al., 2016
Ageloline A	<i>Streptomyces sp</i>	Cheng et al., 2016
JBIR-94 et JBIR-125	<i>Streptomyces sp</i>	Kawahara et al., 2012
Dizepinomidine	<i>Micromonospora sp</i>	Abdelmohsen et al., 2012
5-(2,4-dimethylbenzyl)-2-one (DMBPO)	<i>Streptomyces sp</i>	Sauvar et Kannabiran et al.,2012

5-(2,4-dimethylbenzyl) pyrrolidin-2-one	<i>Streptomyces sp</i>	Sauvar et Kannabiran, 2011
2-allyoxyphenol	<i>Streptomyces sp</i>	Arumugam et al., 2010
Streptopyrrolidine	<i>Streptomyces sp</i>	Shin et al., 2008
Protocatechualdehyde	<i>Streptomyces lincolnensis</i>	Ja Kim et al., 2008

ETUDE
EXPERIMENTALE

***MATERIEL ET
METHODES***

I. Matériel Et Méthodes

1. Prélèvement des échantillons

Le prélèvement des échantillons a été prélevé durant les mois de Février et Mars 2023 à partir de trois différents endroits de la wilaya de Khenchela, située au nord-est de l'Algérie (figure12).



Figure 12: Localisation des endroits de prélèvement des échantillons de la wilaya de Khenchenla (Google maps).

Les échantillons ont été prélevés comme suit :

1.1. L'eau chaude

Les échantillons d'eaux chaude ont été prélevés à partir d'une source thermale Hamman Essalihine, situé dans la région d'El Hamma à environ 7 km de la wilaya de Khenchela. Cet

endroit est caractérisé par une température élevée entre 65 et 70°C qui favorise la croissance des microorganismes thermophile (figure13).



Figure 13: Site de prélèvement de l'échantillon d'eau chaude de Hammam Essalihine-Khenchela.

1.2. Les margines

L'échantillon de margines a été prélevé à partir d'une l'huilerie d'Hadja Yamina, situé dans la commune de Baghaili exactement dans la région « Mechta fidh a hrize » à 14 km de la wilaya de khenchela. Cette l'huilerie est une société privée créée en 2015. Les olives sont pressées dans une huilerie automatique selon un processus d'extraction à trois phases (figure14).



Figure 14: site de prélèvement de l'échantillon des margines.

1.3. Echantillon de l'eau polluée

L'échantillon de l'eau polluée a été prélevé à partir d'Oued el Merdja, situé dans la région d'El Hamma la rue de Hammam Essalihine de la wilaya de Khenchela (figure15). Ces échantillons sont prélevés d'une manière stérile et sont placés dans des flacons hermétiquement fermés et transportés immédiatement au laboratoire et conservés au réfrigérateur à 4 ° C jusqu'à l'utilisation.



Figure 15: Site de prélèvement de l'échantillon de l'eau pollué (photo prise Le :18 /03/2023).

2. Isolement, purification et conservation des actinobactéries

2.1. Préparation du milieu d'isolement

L'isolement des actinobactéries a été réalisé sur milieu gélosé Olson (annexe 01). Ce milieu est considéré le plus favorable au développement et l'isolement de ce groupe de bactéries.

2.2. Préparation des dilutions et isolement

Une série de dilution décimale de 10^{-1} jusqu'à 10^{-7} sont préparée à partir des solutions mères de trois échantillons. Par la suite, 0,1 ml de chaque dilution est étalé sur le milieu Olson précédemment stérilisé et coulés dans des boîtes de Pétri stériles. Ces derniers sont, alors incubées à 30°C et observées après deux, trois et quatre semaines d'incubation.

2.3. Purification des actinobactéries

À l'aide d'un microscope optique, les colonies d'actinobactéries sont repérées d'après leur aspect macroscopique caractéristique. Les colonies possédant un aspect typique aux actinobactéries sont purifiées sur milieu Yeast Malt Extract Agar (YMEA) + CaCO_3 (annexe 1) (LEULMI., 2019).

2.4. Conservation des actinobactéries

Les isolats purs d'actinobactéries sont conservés, d'une part, dans le milieu YMEA coulé dans des tubes inclinés puis mis à +4 °C et d'autre part dans un milieu liquide ISP2 (annexe 1) dans des tubes eppendorf additionné de glycérol à raison de 20% (v/v) puis les tubes sont conservés à -20 °C.

3. Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries

3.1. Étude de l'activité antibactérienne

La recherche de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de cylindre d'agar contre les bactéries-tests. Ces dernières ont été fournis par Monsieur Boussaa A. (enseignant-chercheur à université Abbes Laghrour-Khenchela).

Les bactéries à coloration de Gram positive (*Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Bacillus Creus* ATCC11778) et les bactéries à coloration de Gram négative (*Klebsiela pneumoniae* ATCC4352, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas* ATCC27853).

3.1.1. Préparation des souches- tests

Pour chaque bactérie test, la suspension a été préparé à partir d'une culture de 24h à 37°C sur gélose nutritive (Annex01), La densité cellulaire de chaque inoculum a été ajustée par addition d'eau physiologique stérile en comparaison avec une solution de Mac Farland (Annex02) de façon à obtenir une concentration de 10⁶ UFC/ ml (leulmi,2018). Ensuite, la recherche du pouvoir antibactérien des isolats d'actinobactéries a été effectuée vis-à-vis des bactéries tests après l'incorporation sur le milieu Mueller Hinton(Annex01). L'activité d'inhibitrice se représentant par l'apparition d'une zone d'inhibition après une période d'incubation 37°C pendant 24h.

3.1.2. La technique des cylindres d'agar

Les isolats purs d'actinobactéries sontensemencés sur milieu solide YMEA en stries très serrées, puis incubés pendant 7 jours à 30 °C. Par la suite, des cylindres de 6 mm de diamètres, de culture d'actinobactéries bien sporulées à raison de 10⁸ spores/ml sont découpés stérilement, déposés à la surface du milieu Mueller Hinton (annexe1) préalablementensemencé par le germe cible. Les boîtesensemencées sont maintenues à +4 °C pendant 2h avant d'être incubées pour permettre la diffusion des substances bioactives.

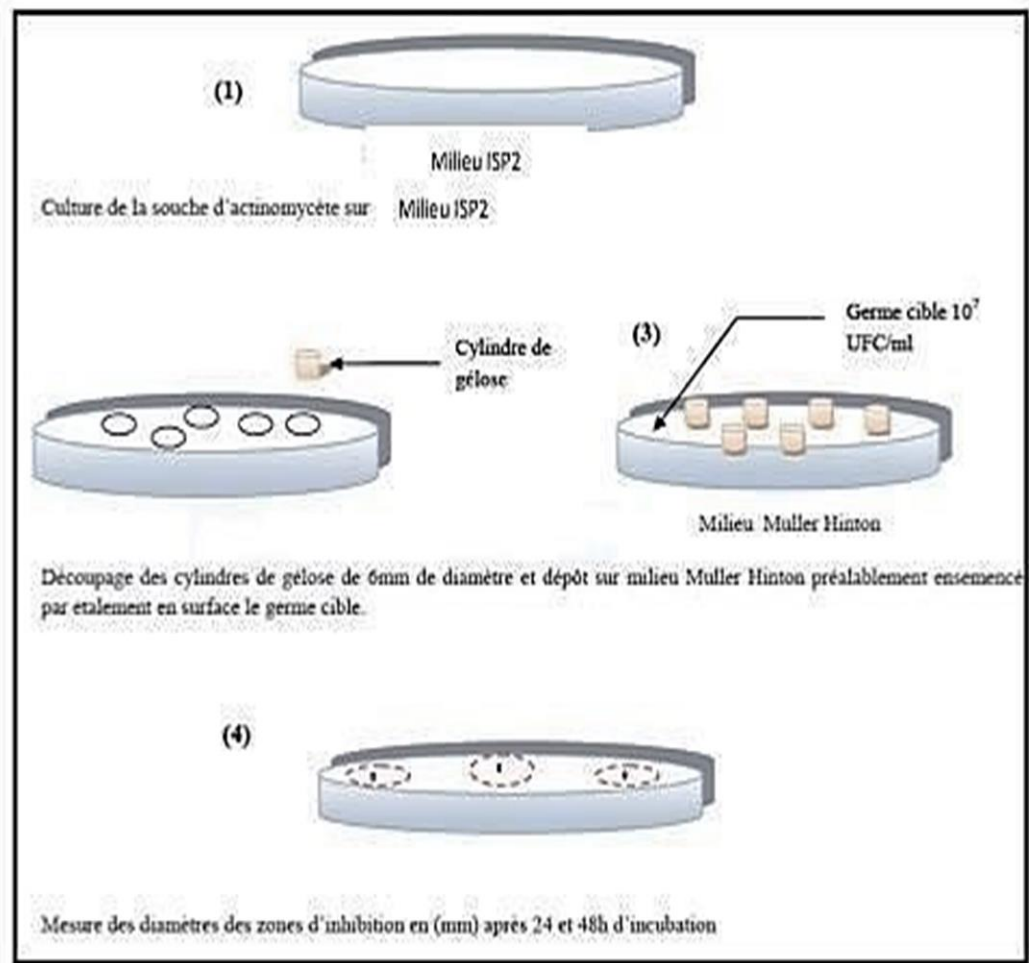


Figure 16: Mise en évidence de l'activité d'antibactérien des souches d'actinobactérie sur milieu Muller-Hinton par la méthode des cylindre d'agar (Bastide et al., 1994).

3.2. Etude de l'activité antifongique

La capacité des isolats d'actinobactéries à inhiber le développement des moisissures *Penicillium sp* et *Aspergillus niger*, est déterminée sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA: annexe 1), en utilisant la technique des cylindres d'agar. Un disque de 6 mm de diamètre issu d'une culture pure de l'agent phytopathogène est déposé au centre de la boîte. Ensuite, des disques de l'actinobactérie sont placés parallèlement et autour à une distance de 3 cm du disque de champignon. Ces boîtes sont incubées à 30 °C pendant 14 jours. Des boîtes contenant justes le disque de champignon sont incubées dans les mêmes conditions, elles servent de contrôles (Tour et al., 2004).

4. Etude de l'activité d'hydrolyse

4.1. L'activité protéolytique

4.1.1. Recherche de la gélatinase

La recherche de l'activité d'hydrolyse de la gélatine a été réalisée sur un milieu de base ISP9 + la gélatine à raison de 0,4% (Annexe 1). Les souches d'actinobactéries ont été ensemencées par touche sur le milieu (ISP9+ gélatine). Les activités de dégradation sont notées après 5 jours d'incubation à 30C°. L'activité d'hydrolyse a été détectée par l'apparition, autour des colonies, de zones claires après l'addition d'une solution du chlorure de mercure (HgCl₂) et laisser à température ambiante pendant quelque minute (**Hankin et al., 1971 ; Williams et al., 1983a ; Nicemol, 2006**). Du plus, les zones où la gélatine n'est pas dégradée s'opacifient lorsqu'une solution de chlorure mercurique est ajoutée.

4.2. L'activité amylolytique

4.2.1. Recherche de l'amylase

Dans ce test, les souches d'actinobactéries ont été ensemencées par touche sur le milieu ISP9 contenant 1% d'amidon après 5 jours d'incubation à 30C° la dégradation de l'amidon est montrée par un halo clair sur le milieu après inondation de la culture avec la solution de Lugol et laisser à température ambiante pendant quelque minute (**Hankin et al., 1971 ; Williams et al., 1983a ; Nicemol, 2006**).

5. Extraction des molécules bioactives

5.1. Culture de souches d'actinobactéries sur milieu solide

Trois souches d'actinobactéries (ECH9, ECMK1 et EP) ont été sélectionnées et ont fait l'objet d'une extraction de leurs molécules bioactives. Pour cela, les trois souches sélectionnées ont été ensemencées sur milieu YMEA+CaCO₃ en stries serrées (6 boîtes pour chacune). Les boîtes ensemencées ont été incubées à 30°C pendant 7-10 jours jusqu'à l'obtention d'une très bonne sporulation.

5.2. Récupération et extraction des molécules bioactives à partir de filtrats des cultures

Après la période d'incubation, le milieu de culture est fragmenté en petits morceaux et réparti dans des erlenmeyers, additionnée d'acétate d'éthyle). La macération est réalisée deux fois pour récupérer le maximum des molécules bioactives produites (figure 17).



Figure 17: la macération des fragments du milieu de culture.

Les extraits bruts sont filtrés sur papier watman puis évaporées sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (à 45°C/150rpm) (figure18). L'extrait sec de chaque isolat est pesé puis solubiliser dans 2 ml de méthanol.



Figure 18: la filtration et évaporation des extraits bruts de trois actinobactéries étudiées (a et b).

6. Etude de l'activité antibactérienne des extraits bruts

L'activité antibactérienne des extraits bruts des souches d'actinobactéries sélectionnées sont testées contre 04 souches pathogènes (*B. cereus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus*) sur le milieu Mueller-Hinton, par la technique de diffusion des disques en papier de 6 mm de diamètre préalablement découpés puis stérilisés par autoclave.

Ces disques sont imbibés par chaque extrait (ECH9, EP, EMK1), puis séchés totalement au courant d'air chaud. Ensuite, les disques sont déposés stérilement à la surface du milieu Mueller-Hinton. Les boîtes de Pétri sont maintenues à +4°C pendant 24h pour permettre une bonne diffusion. La période d'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h. Les résultats positifs sont mis en évidence par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques.

7. Etude de l'activité antioxydante des extraits

7.1. Principe

La méthode du DPPH consiste à déterminer et évaluer l'activité antioxydante de l'extrait. En effet, le DPPH(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable initialement violet en solution, La couleur change en jaune lorsqu'il réagit avec un antioxydant, l'électron non apparié s'apparie, un atome d'hydrogène vient se fixer sur le radical, ce qui entraîne une perte de couleur, Cette décoloration est représenté la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres (Alger, 1989 ; Koleva et al., 2002). Du plus, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, suivie par spectrophotométrie UV-visible (Sanchez-Moreno, 2002).

7.2. Mode opératoire

Une série de dilutions de (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) est réalisé pour l'extrait. Selon le protocole décrit par (Dangles et al. 1999), 2,4 mg de DPPH est dissous dans 100ml du méthanol pure (CH₃-OH) pour obtenir une solution de DPPH qui a été utilisé comme contrôle négatif.

Un volume de 975µl de solution de DPPH est ajouté à 25 µl de chaque extrait (à différentes concentrations) avec une agitation. Après une période de 30 min, l'absorbance des solutions est mesurée, à 517 nm par spectrophotomètre.

Une solution d'acide ascorbique (vitamine C) de différentes concentrations ont été réalisées dans les mêmes conditions sert comme contrôle positif.

La décoloration de DPPH est déterminée en mesurant l'absorbance à 517 nm et le piégeage de radical de DPPH. L'activité anti radicalaire est exprimée en terme de pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon l'équation suivant (Molyneux, 2004) :

$$\% \text{ de taux de piégeage DPPH} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100.$$

Où

Ac: représente l'absorbance de control ou témoin (Dpph sans extrait).

Ae : représente l'absorbance de mélange réactionnel.

***RESULTATS ET
DISCUSSION***

II. Résultats et discussion

1. Isolement et purification des actinobactéries

Les actinobactéries sont parmi les microorganismes qui l'on rencontre dans la plupart des niches écologiques grâce à leurs caractéristiques compétitives. Elles sont différentes d'un écosystème à un autre selon leur nombre.

Dans ce travail, l'isolement des actinobactéries a été effectué à partir de trois échantillons différents de la wilaya de Khenchela : l'eau chaude de station thermale Hammam Essalihine, l'eau polluée à partir d'oued al Merdja et les margines provenant d'une l'huilerie d'Hadja Yamina. Cette variation des sites de prélèvement a pour but d'augmenter nos chances d'isolement d'actinobactéries possédant, éventuellement, un potentiel élevé de production de molécules bioactives.

Les colonies caractéristiques des actinobactéries apparaissent après une période d'incubation de 3 à 4 semaine à 30°C sur un milieu Olson, elles sont bien incrustées dans la gélose (figure 19). En effet, ce milieu se caractérise par leur efficacité d'isoler un grand nombre d'actinobactéries. Il contient de caséine de sodium et asparagine qui favorisent la croissance des actinobactéries (Hlalli et al., 2002).

Après l'observation microscopique, les isolats obtenus ont été purifiés par repiquage sur milieu YMEA et incubées pendant une semaine à 30°C. Un total de 15 isolats d'actinobactéries a été obtenus de différents échantillons. 13 isolats provenant de l'eau chaude et un seul isolat à partir des margines et un autre isolat provenant de l'eau polluée (tableau 16).

Tableau 16: Le nombre des isolats d'actinobactéries purifiées de différents échantillons.

Echantillon	Site de prélèvement	Nombre d'isolats
L'eau chaude (Ech)	Station thermal Hamma Esalhine,khenchela	13
Les margines (Emk1)	l'huilerie hadja yamina, khenchela	01
L'eau polluée (Ep)	Oued Al Merdja, khenchela	01
		Total : 15

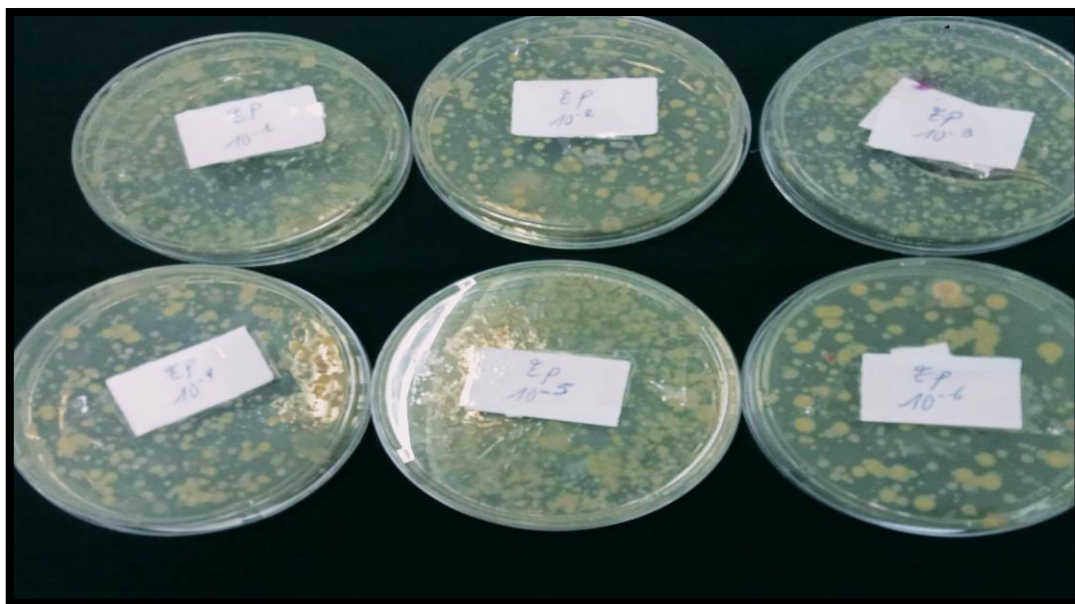


Figure 19: Colonies d'actinobactéries sur milieu Olson(l'eau polluée).

En Algérie, les études portant sur l'isolement des actinobactéries à partir de sources chaudes ont été effectuée pour la première fois par (**Medjemadj et al., 2020**). Ils ont pu isolé un nombre de 29 isolats à partir de trois station thermale, Hammam Béniharoun et des Frères Chaouch (wilaya de Mila), Hammam Essalihine (wilaya de khenchela) et Hammam Debagh (wilaya de Guelma). Cependant le nombre d'isolats obtenu dans notre étude à partir de l'eau chaude de Hammam Essalihine est supérieur à celui obtenu par (**Medjemadj et al., 2020**) qui ont obtenu de 03 isolats à partir de Hammam Essalihine, 04 isolats à partir de Hammam Béniharoun. Par contre, aucun isolat n'a été obtenu à partir Hammam Debagh. Tandis que, notre nombre d'isolat obtenu reste inferieur par rapport au nombre d'isolats obtenus à partir de Hammam des Frères (22 isolats).

Concernant l'échantillon provenant de l'eau polluée d'oued al Merdja, on a pu purifié qu'un seul isolat. En effet, plusieurs études ont été réalisées sur l'isolement des actinobactéries à partir des eaux polluées (**Gebreyohannes et al.,2013**) qui ont obtenus 31 isolats à partir d'un échantillon de l'eau et des sédiments du lac Tana en Ethiopie et (**Benhadj et al.,2018**) ont obtenus 08 isolats à partir de l'eau du lac Fetezara au nord-est de l'Algérie.

En ce qui concerne l'échantillon de margines, il faut bien signaler que ce travail considéré comme premier à isoler les actinobactéries à partir le résidu liquide d'huilerie.

1.1. Etude de l'aspect macroscopique des colonies des actinobactéries

Les caractères macroscopiques des actinobactéries sont étudiés à l'œil nu et qui consiste à déterminer les caractéristiques morphologiques et culturaux sur le milieu YMEA+CACO3 par la méthode des stries très serrés (figure20).

Les colonies obtenu dans notre étude ont généralement une forme rondes et circulaires aux contours réguliers, Ces dernières rassemblent a l'aspects des actinobactéries. Les caractères observés sont comme suit :

- **L'aspect des colonies :** soit velouté, poudreux, granuleux ou glabre, cotonneux, laineux, duveteux.
- **La taille des colonies:** petite, grande, étendue.
- **La couleur des colonies:** blanche, crème ou colorée (brune, violette, grises...)
- **Le relief des colonies:** plat, plissé.

L'évaluation de l'importance des différents caractéristiques d'observations macroscopique concernant la croissance, le développement des mycéliums aérien, végétative et leur pigmentation sur le milieu est observée après 14 jours d'incubation à 30 °C, sont consignées dans le tableau (17).

Tableau 17: les caractéristiques macroscopiques des isolats purs sélectionnés .

Isolats	Croissance	Mycélium végétatif	Mycélium aérien	Pigment Diffusible
Ech1	Bonne	Blanc	Blanc	-
Ech2	Moyenne	Beige	Beige	-
Ech4	Bonne	Marron	Marron	-
Ech5	Moyenne	Blanc	Gris	-
Ech6	Bonne	Blanc	Blanc	Noire
Ech7	Bonne	Marron	Marron	-
Ech8	Moyenne	Blanc	Blanc	-
Ech9	Très bonne	Beige foncé	Beige claire	-
Ep	Moyenne	Blanc	Blanc	-
Emk1	Bonne	Jaune claire	Blanc	-

(-) absence des pigments.

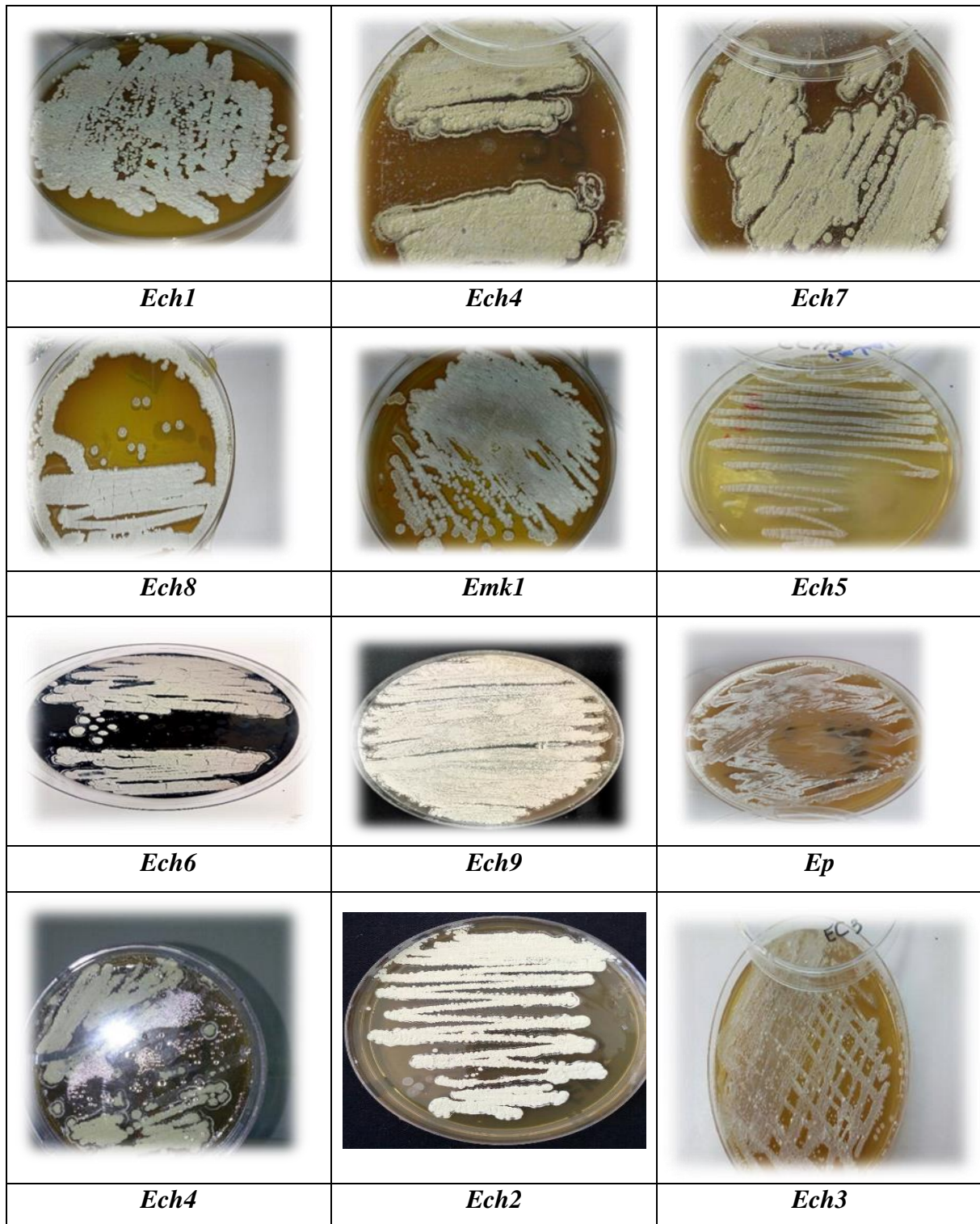


Figure 20: aspect macroscopique sur milieu solide YMEA +CaCO₃ des isolats purs d'actinobactéries.

2. Activité antimicrobienne

2.1. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des isolats purs sélectionnés des actinobactéries a été mise en évidence par la technique de cylindres d'agar sur milieu solide Mueller Hinton. Cette étude a démontré la capacité de ces isolats à produire des substances antibactériennes. Les isolats montrant une activité sont présentés dans le tableau 18. En effet, les résultats de l'activité antibactérienne des isolats étudiés indiquent que seulement 03 isolats sont actifs contre (*E. coli* et *B. cereus*).

Parmi les 13 isolats d'actinobactéries provenant d'eau chaude de Hammam Elsalihine, seulement un seul isolat Ech9 d'entre elles a présenté une activité antibactérienne contre (*E. coli* et *B. cereus*).

Les deux isolats provenant de margines et de l'eau polluée (EMK1 et EP1), ont montré également des activités antibactériennes seulement contre *B. cereus* et *E. coli* avec des diamètres d'inhibition très faible.

Dans cette étude, Aucun de 15 isolats provenant de trois échantillons présentait une activité contre *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

Nos résultats sont similaires, en proportion, à ceux de (Aysel et Demet, 2021), il sont obtenu 48 isolats d'actinobactéries à partir d'échantillon des sédiments du lac Sarikum en Turquie, dont seulement 12 dotés d'une activité antibactérienne au moins de l'une des souches cibles.

Pour l'échantillon provenant de l'eau polluée et les margines, l'activité antibactérienne des isolats s'est avérée faible en comparaison avec ceux de (Dholakiya et al., 2017), qui ont pu récupérer 11 isolats à partir de l'échantillons de sédiment marin dans les zones côtières du golfe de Khambhat, Gujarat en Inde dont les isolats les diamètres d'inhibitions varient de (15 à 24mm). Notre résultat est diffère également de celui de (Benouagueni et al., 2014), qui ont testés 104 isolats d' actinobactéries provenant des eaux du lac El Mellah, nord-est de l'Algérie où 21 isolats présentent un pouvoir antibactérienne remarquable contre les 02 souches test (*S. aureus*, *E. coli*), avec une zone d'inhibition de 25 et 9 mm respectivement.

Tableau 18: Activité antibactérienne des isolats purs d'actinobactéries .

Isolats	Diamètre d'inhibition (mm)				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. cereus</i>	<i>p.aeruginosa</i>
Ech1	-	-	-	-	-
Ech2	-	-	-	-	-
Ech3	-	-	-	-	-
Ech4	-	-	-	-	-
Ech5	-	-	-	-	-
Ech6c	-	-	-	-	-
Ech7	-	-	-	-	-
Ech8	-	-	-	-	-
Ech9	-	07	-	10	-
Eh10	-	-	-	-	-
Ech11	-	-	-	-	-
Eh12	-	-	-	-	-
Ech13	-	-	-	-	-
Ep1	-	06	-	07	-
Emk1	-	05	-	06	-

(-) : absence d'inhibition.

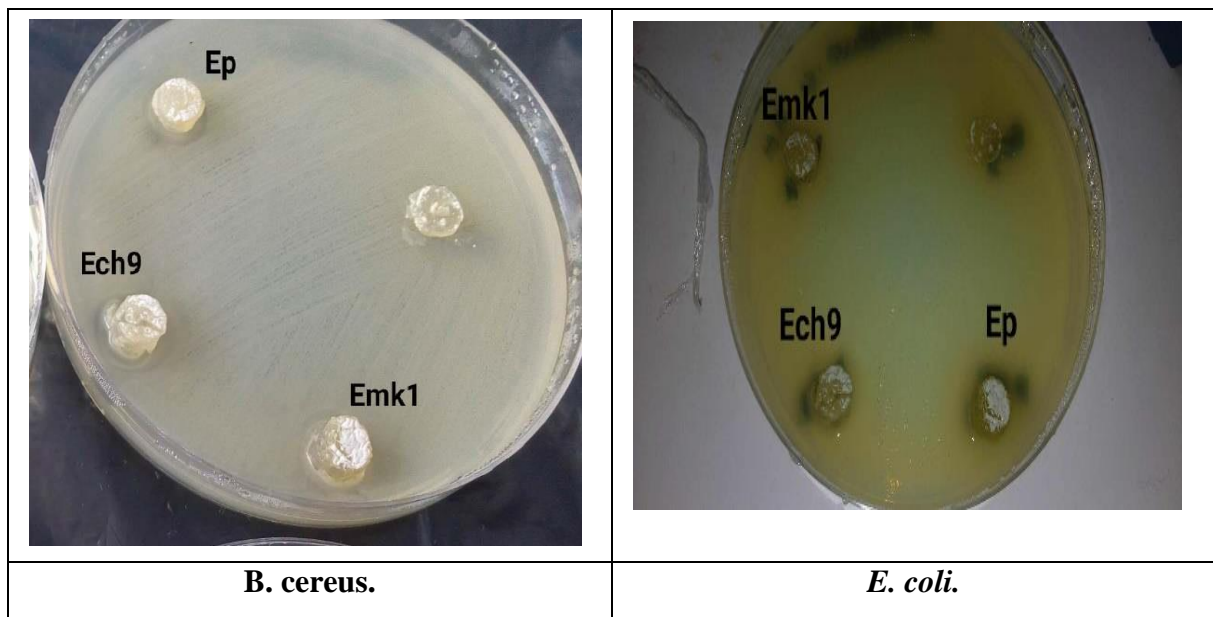


Figure 21: Activité antibactérienne sur milieu Muller Hinton des isolats purs d'actinobactéries, évaluée par la technique des cylindres d'agar.

2.2. L'activité antifongique

L'activité antifongique des 15 isolats d'*actinobactérie* isolée dans cette étude a été mise en évidence sur le milieu PDA par la technique de cylindres d'agar contre deux moisissures *Penicillium sp* et *Aspergillus niger*. Les résultats indiquent que parmi les 15 isolats testés 09 d'entre eux ont présentés une activité antifongique positif (figure 22 et 23) et (tableau19).

Les isolats (Ech4, Ech5, Ech 8) et les isolats (Ech2 et Ech 3) provenant de l'eau chaude de Hammam Essalihine ont présenté une activité antifongique la plus importante contre *Aspergillus niger* et *Penicillium* respectivement. Egalement, des activités considérées comme moyenne a été détectés pour l'isolat Ech12 vis-à-vis la souche de *Penicillium sp*.

Nos résultats obtenus sont intéressants, par rapport à ceux de (M. kitouni et al.,2005) qui en pu isoler 7 actinobactéries, à partir d'un écosystème aquatique (sebkha de Ain M'lila), présentant une très faible activité antifongique.

Concernant les deux isolats Emk1 et Ep1 provenant de l'échantillon de margine et de l'eau polluée, ont montré une très faible activité antifongique contre *Penicillium sp*.

Nos résultats sont semblables avec ceux obtenus par (Aysel et Demet ,2021) qui ont pu isoler 48 isolats d'actinobactérie à partir d'un échantillon de sédiments du lac Sarikum et aucun isolat n'avait d'effet contre les champignons pathogènes testés. Cependant une étude réalisée par (Belgacem et al.,2023) qui en pu isoler 18 isolats à partir du sol désertique Algérien, 15 isolats d'entre eux ont montré un activité antifongique intéressante contre 5 espèces fongiques (*Fusarium graminearum*, *Aspergillus flavus*, *aspergillus ochraceus*, *Penicillium expansum* et *aspergillus parasiticus*).

Tableau 19: activité antifongique des isolats purs d'actinobactéries.

Isolats	Présence/absence d'inhibition	
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium sp</i>
Ech1	-	-
Ech2	-	++
Ech3	-	+++
Ech4	+++	-
Ech5	++	-
Ech6	-	-

Ech7	-	-
Ech8	+++	-
Ech9	-	-
Eh10	±	-
Ech11	-	-
Ech12	-	+
Ech13	-	-
Ep1	-	±
Emk1	-	±

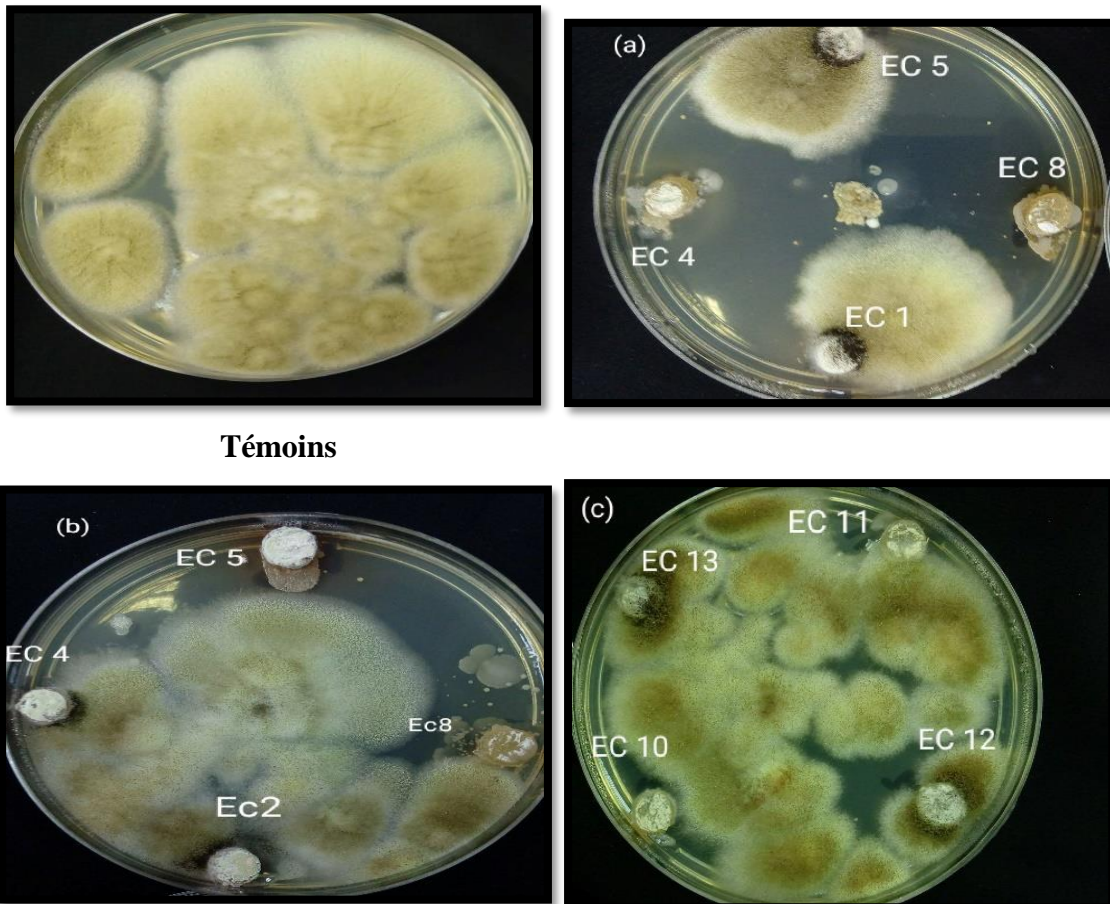


Figure 22: Activité antifongique sur milieu PDA des isolats pure d'actinobactéries contre *Aspergillus niger* par la technique de cylindre d'agar.

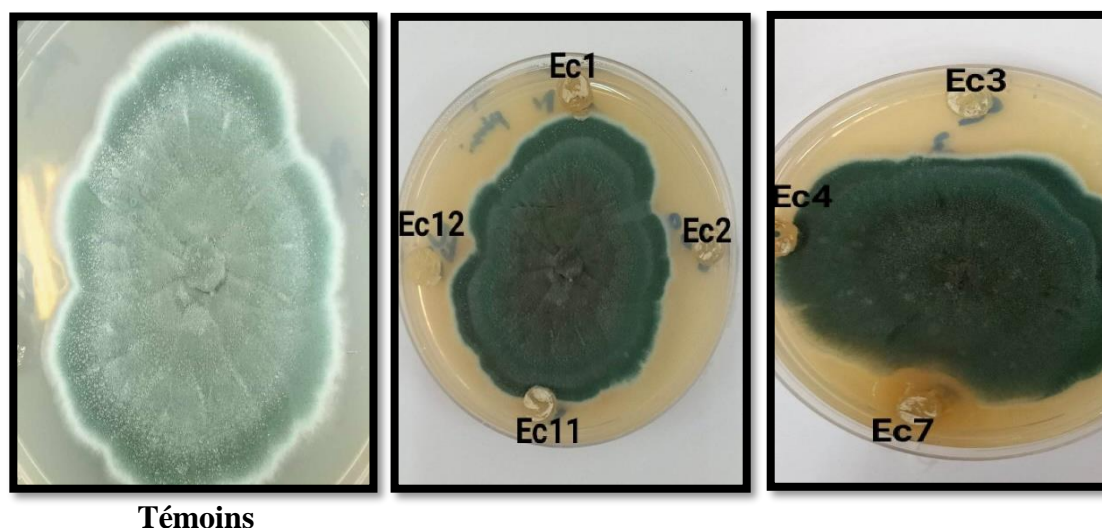


Figure 23 :Activité antifongique sur milieu PDA des isolats pure d'actinobactéries contre *penicillium sp* par la technique de cylindre d'agar.

3.L'activité d'hydrolyse

L'étude de l'activité d'hydrolyse est considérée comme importante pour l'identification phénotype des actinobactéries. En effet, l'étude physiologique de ce groupe bactérien porte d'une façon conventionnelle sur l'étude de plusieurs paramètres (utilisation de glucide, utilisation des acides aminés, dégradation de composé organiques, ...). Dans cette étude, on a choisi d'étudier deux activités de dégradation à savoir la gélatinase et l'amylase. Les résultats sont présentés dans le tableau 20 et qui révèle clairement le pouvoir de dégradation de l'amidon pour tous les isolats testés. Cependant, seulement les isolats Ech7 et Ech11 ont une activité gélatinase (figure25).

Tableau 20: Activité hydrolytique des isolats purs d'actinobactéries

Les isolats purs	Amidon	Gélatine
Ech1	++	-
Ech3	++	-
Ech4	++	-
Ech5	++	-
Ech6	N'a pas été testé	-
Ech7	N'a pas été testé	+
Ech8	+	-
Ech9	+	-

Ech10	+	N'a pas été testé
Ech11	+	+
Ech12	+	-
Ech13	+ -	N'a pas été testé
EMK1	+	-
EP1	+	-

(-) pas de dégradation, (±) dégradation faible, (+) dégradation modérée, (++) dégradation forte.

En effet, la plupart des isolats étudiés ont présentés une activité amylolytique intéressante qui se traduit par apparition importantes de zones claires d'hydrolyse d'amidon autour des colonies après l'addition du Lugol (la figure 24). Cela montre clairement que ces isolats testés possèdent une enzyme amylase.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **(Siricha et al., 2013)**, dont 50 isolats parmi 63 isolats d'actinobactéries, isolés de sédiments marins, ont présentés une activité amylolytique. En effet, l'activité amylolytique des actinobactéries a été détecté par plusieurs d'autres travaux nous citons celui **(Bouzigha et Bouchiba., 2017)** ils ont estimé que 23 isolats parmi 35 souche d'actinobactéries pourvus d'une enzyme amylase.

Les isolats d'actinobactéries hydrolysant la gélatine se traduit par l'apparition des zones claires d'hydrolyse de gélatine après l'addition d'une solution de mercure (Figure 25). Cette dégradation est due à la production de l'enzyme gélatinase par les isolats d'actinobactéries étudiés.

En ce qui concerne l'activité gélatinase, nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **(Gulve et Deshumukh ,2011)** dont 70 parmi 90 souches d'actinobactéries testées, isolés à partir d'un sédiment marin, ont une activité gélatinase. Les travaux de **(Kurup et al., 1975)** indiquent également qu'une seule souche dégrade la gélatine parmi 25 nouvelles souches d'actinobactéries testées.

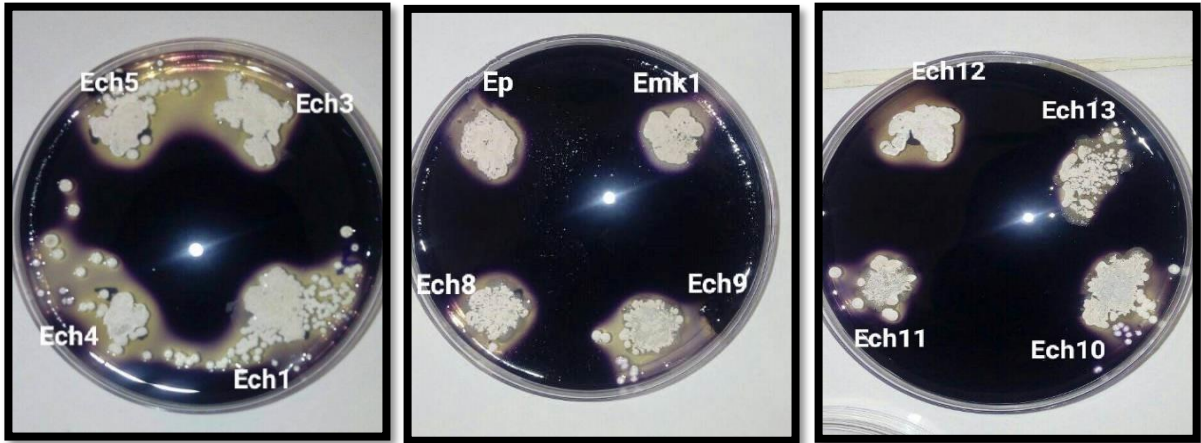


Figure 24 : Photographies des activités de dégradation de l'amidon.



Figure 25 : Photographies des activités de dégradation de gélatine.

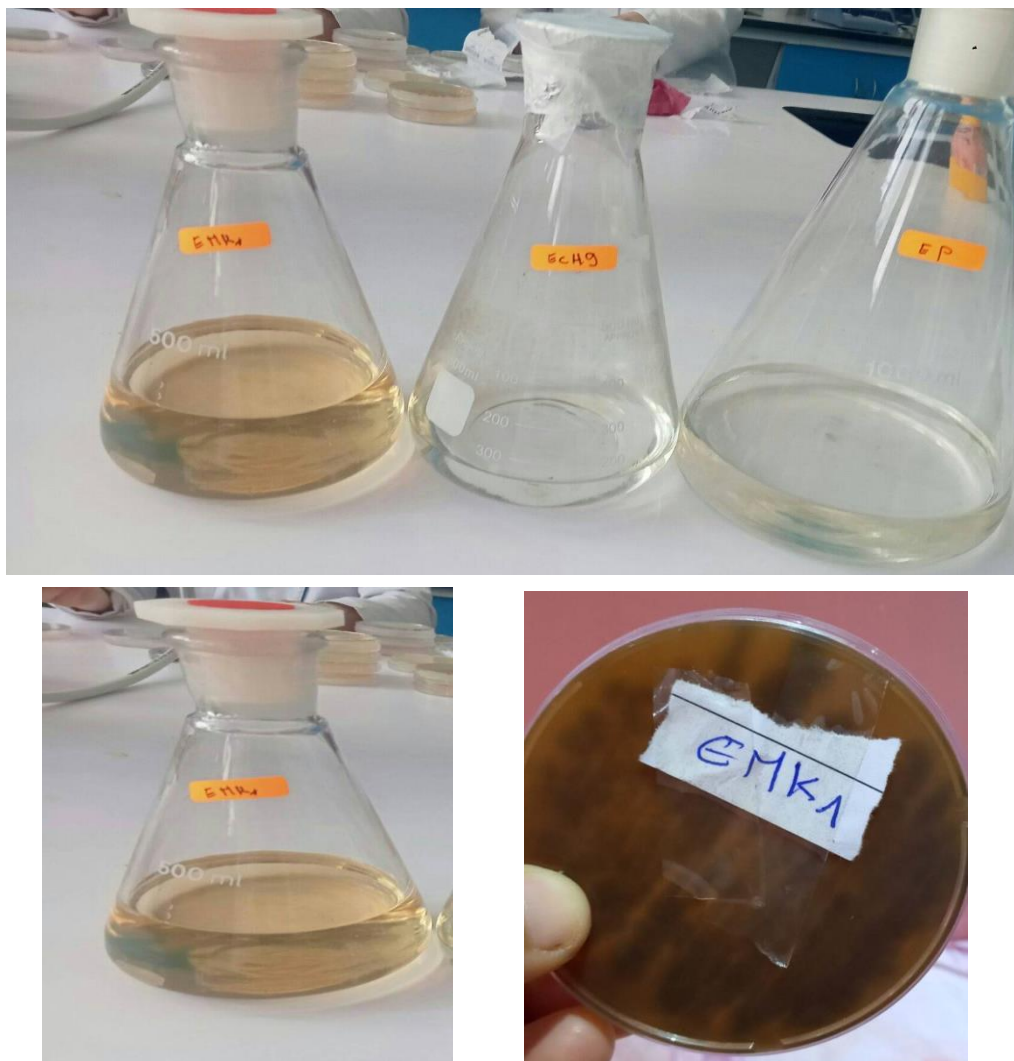
4. Evaluation des activités antibactériennes et antioxydants des extraits

4.1. L'activité antibactérienne des extraits

L'activité antibactérienne des extraits de trois isolats, sélectionnés (EMK1, EP1 et Ech9) par rapport à leurs activités remarquables vis-à-vis des souches pathogènes testées. Ce test a été réalisé en utilisant la technique de diffusion sur des disques en papier préalablement stériles. Les résultats obtenus sont présentés dans (le tableau 21) et (la figure 27).

Les trois extraits bruts secs d'acétate d'éthyle obtenu testés vis-à-vis 4 souches tests. Les résultats ont montré une activité modérée uniquement contre *E. coli* en revanche aucune activité n'a été détecté contre *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *B. cereus*.

Les extraits bruts obtenus à partir des 03 isolats possèdent différentes couleurs. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les actinobactéries produisent des biomolécules pigmentées cela correspond aux études de (Margalith 1992) (figure26).



Isolats Emk1.

Figure 26 : Photographies montre les extraits colorés des isolats (Ep et Emk1).

Le milieu solide YMEA+ CaCO₃ a été choisi pour la culture de nos isolats sélectionnés afin d'extraire leurs biomolécules. En effet, ce milieu a donné une très bonne croissance de nos isolats, ce qui semble un milieu adéquat pour la production des molécules bioactives.

En fait, plusieurs chercheurs ont utilisé le milieu solide que celle du milieu liquide pour l'extraction des molécules bioactives. Ainsi, il y a des microorganismes qui perdent leur activité de production sur milieu liquide (Stocks et Thomas, 2001).

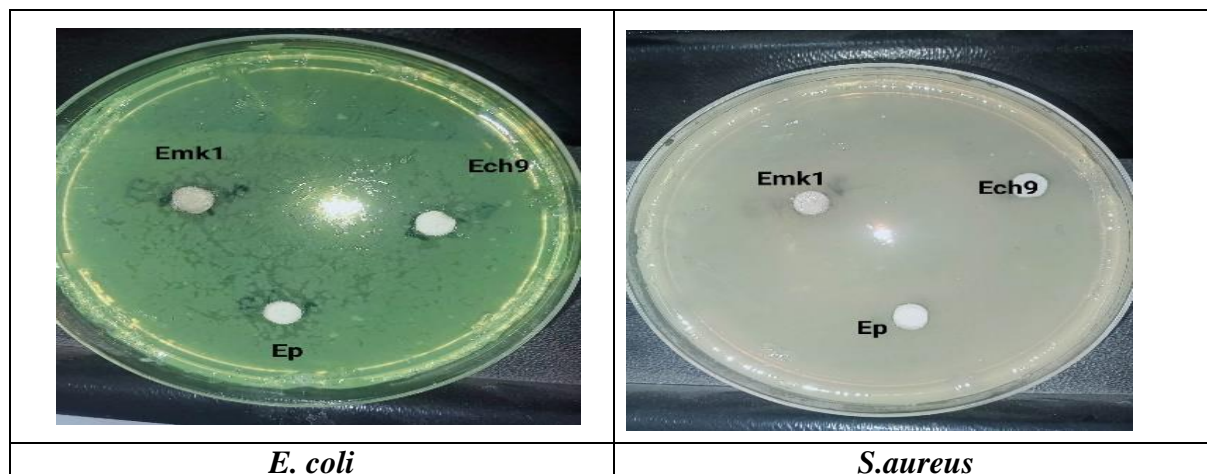
Du plus, l'acétate d'éthyle est le solvant organique le plus utilisé par plusieurs auteurs pour l'extraction des molécules bioactives à partir des souches d'actinobactéries (Djinni et al., 2013 ; Prakasham et al., 2014). Néanmoins, la macération répétitive des géloses s'est avérée efficace pour récupérer le maximum possible des biométabolites (Leulmi, 2019).

Les extraits bruts d'acétate d'éthyle provenant d'une culture de trois isolats (Ech9, Ep et Emk1) présentent une activité dirigée contre la bactérie à Gram négatifs *E. coli* pour l'isolat EP1. Ce résultat positif est considéré comme pertinente, vu la résistante remarquable des bactéries à Gram négatifs par rapport à leurs homologues à Gram positif, notés par plusieurs chercheurs (Hasavada et al., 2006 ; Atta et al., 2009).

Tableau 21: activités antibactérienne des extraits sec brut

Extrait brut	Les souches tests			
	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K.pneumonie</i>	<i>B.cereus</i>
Ech9	-	-	-	-
Emk1	-	±	-	-
Ep	-	+	-	-

(-) pas d'activité, (+) présence d'activité.



E. coli

S.aureus

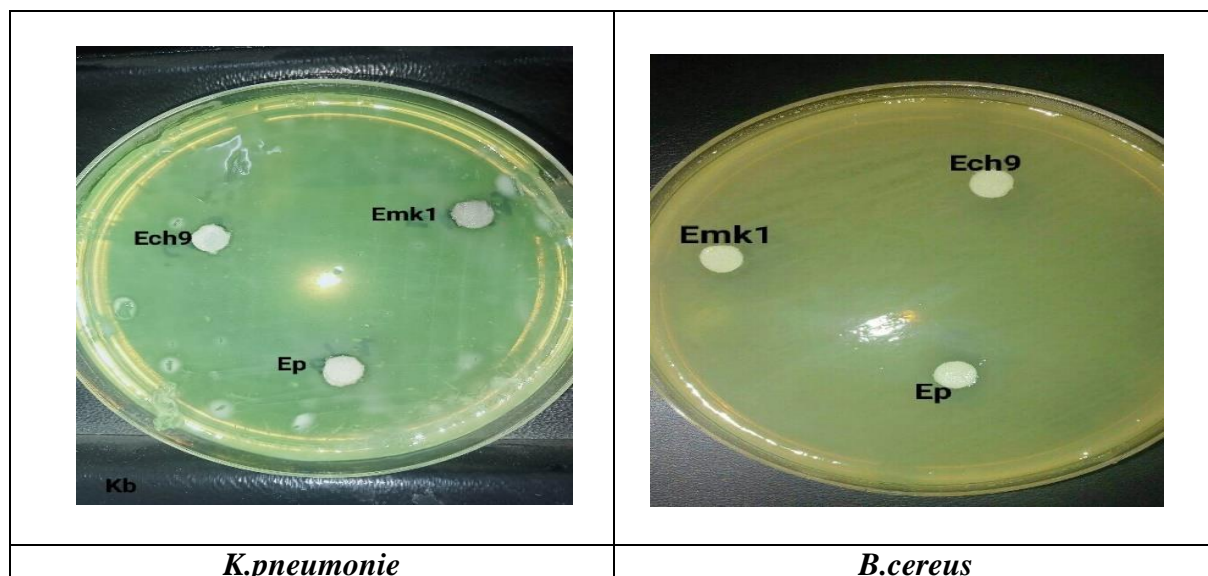
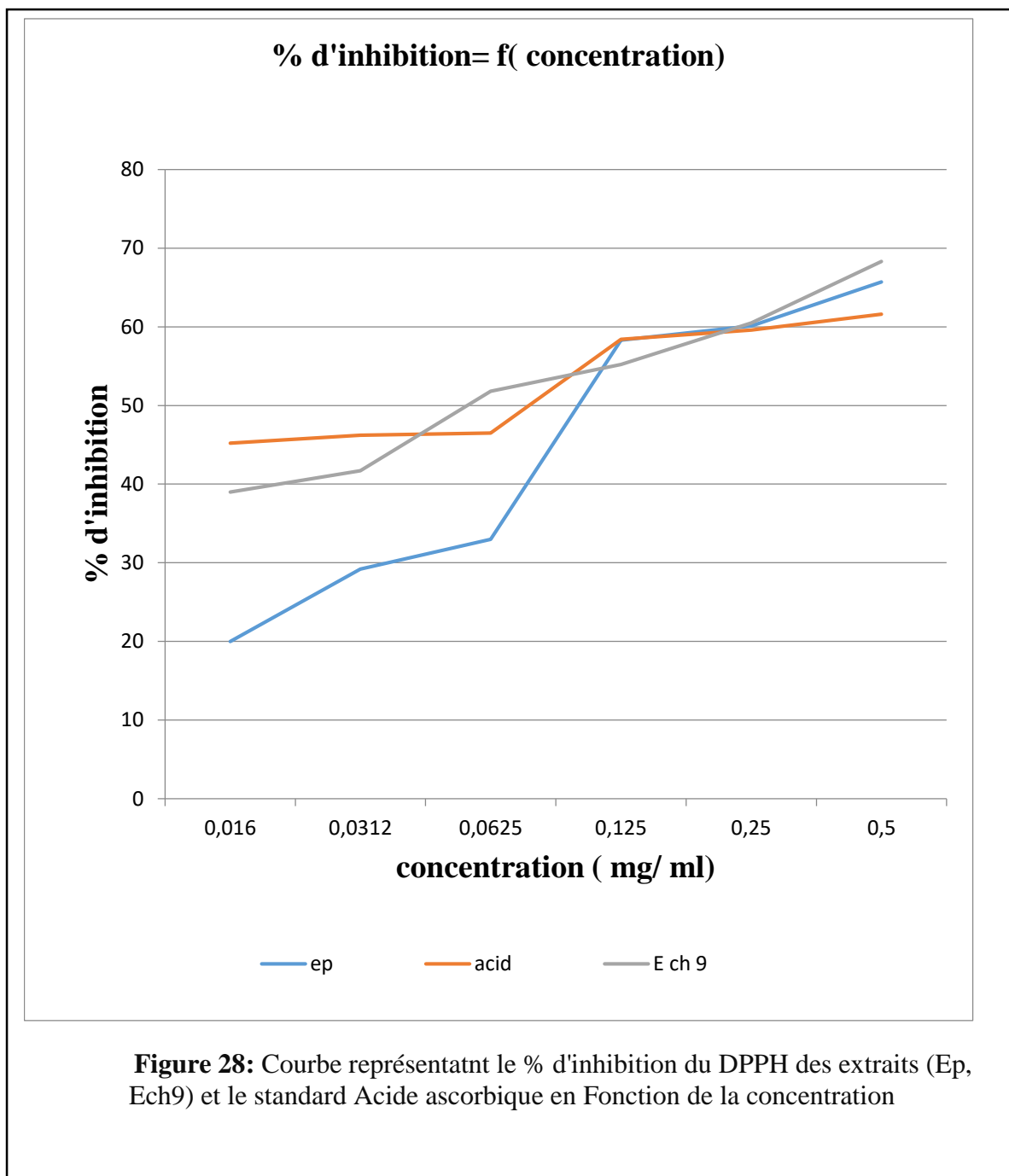


Figure 27 : Photographies des activités antibactérienne de trois extraits bruts.

4.2. Activité antioxydante des extraits

Selon (la figure 28) qui représente l'activité antioxydante des deux extraits déterminés par la méthode de piégeage du radical DPPH. Nous remarquons que les courbes ont presque la même forme, plus la concentration est élevée plus l'activité anti-radicalaire est élevée et vice versa (relation de corrélation direct) jusqu'à à atteindre le plateau est l'orsque cette limite est dépasser, L'activité continue progressivement jusqu'à la stabilité.

Les deux extraits Ech9et Ep1 ont répondu positivement au test DPPH mais avec des degrés divers, la figure 10 montre que l'extrait Ep1 a le pourcentage d'inhibition le plus élevée et le meilleur de 68.3% à concentration de 0.5 mg/ml, Alors que l'extrait Ech9 a la même concentration présent un pourcentage d'inhibition plus faible que le précédent de 61.6%



Plusieurs auteurs ont reporté le rôle des actinobactéries dans la production des antioxydants, nous citons les travaux de (Mohamed Alfie Kurnianto et al.,2021) qui ont montré que l'extrait brut de *Streptomyces* AIA17 a présenté des activités modérées de piégeage de DPPH de 65.122%. Egalement pour les travaux de (Habiba Belgacem et al.,2023) qui ont montré que l'extrait de l'isolat d'actinobactérie A10 a une bonne activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition de 58%.

D'autre part, plusieurs recherches ont mis le point sur le choix de solvant d'extraction et son effet sur l'activité antioxydante. En effet, une étude menée par (Thenmozhi et al., 2010) sur les extraits bruts obtenus par l'acétate d'éthyle et l'acétone d'une souche appartenant au genre *Streptomyces*, a démontré la variation de l'activité antioxydant selon le type de solvant utilisé avec un pourcentage d'inhibition de 86% pour l'extrait à l'acétate d'éthyle et seulement de 22% pour l'extrait acétonique. Ce qui a été confirmé par (Lertcanawanichakul et al., 2015).

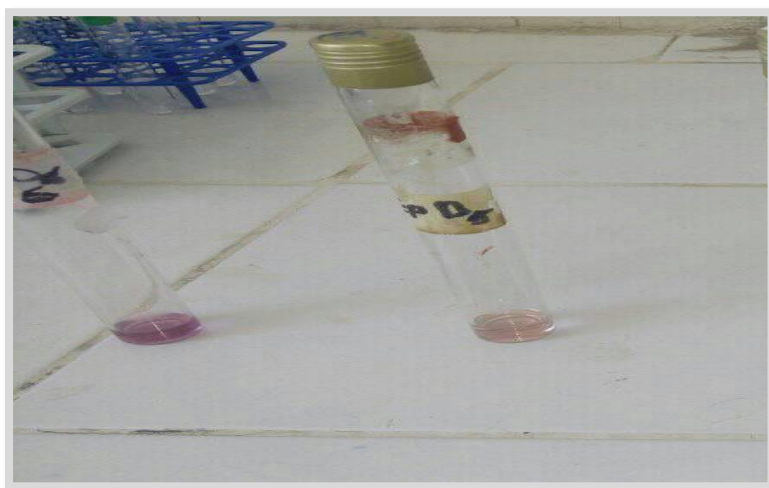


Figure 29: Photographie de la mise en évidence de l'activité antioxydante de l'isolat Ep.

***CONCLUSION
GENERALE ET
PERSPECTIVES***

Conclusion générale et perspectives

Les actinobactéries sont actuellement incluses comme des procaryotes particuliers les plus utilisées sur le plan biotechnologique. Elles sont un réservoir inépuisable des principaux métabolites secondaires biologiquement actifs découverts à ce jour, notamment les antibiotiques, les enzymes, les insecticides et les agents antitumoraux, ayant des valeurs et des activités biologiques très importantes.

Les objectifs de notre étude consistent à l'investigation des différents échantillons d'un écosystème semi-aride de l'est Algérien, afin d'isoler des souches d'actinobactéries, l'évaluation de leurs activités d'antagonistes, leurs activités d'hydrolyse, le pouvoir d'extraire des biométabolites avec l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits des isolats sélectionnés.

La première partie de notre mémoire est consacrée à l'isolement des actinobactéries fournisseurs de molécules antimicrobiennes. L'isolement a été réalisé à partir de trois échantillons à partir des écosystèmes différents de la wilaya de Khenchela : les margines d'huilerie Hadja Yamina, l'eau polluée d'Oued El Mardja et l'eau chaude de la station thermale Hammam Elsalihine.

L'isolement des actinobactéries sur milieu Olson a donné une collection de 15 isolats, un entre eux a été purifiés pour chaque échantillon de l'eau polluée et les margines. Par contre on a pu purifié 13 isolats à partir de l'échantillon de l'eau chaude de Hammam Elsalihine.

Le test de criblage des isolats d'actinobactéries hautement actives a révélé des activités modérées vis-à-vis de bactéries pathogènes et importantes vis-à-vis des moisissures testées.

Les 03 isolats purs, Ep, Ech9 et Emk1 ont été sélectionnés comme des souches les plus actifs et les plus productrices des antibiotiques.

L'activité antioxydante a été observée pour les deux extraits de Ech9 et Ep, avec une bonne pourcentage d'inhibition pour l'extrait Ep de 68.3% à concentration de 0.5mg/ml, et pour l'extrait Ech9 à la même concentration montre une pourcentage d'inhibition de 61.6%.

En conclusion, cette étude suggère que les actinobactéries isolés à partir un écosystème semi-aride de Khenchela représentent une source de métabolites ayant des activités biologiques intéressante à partir duquel de nouveaux métabolites peuvent être obtenus.

L'isolement de souches ayant une activité antifongique a indiqué que les écosystèmes extrêmes (Hammam Elsalihine) peuvent représenter une niche, qui recèle une diversité microbienne largement inexploitée et un potentiel encore inexploité pour les nouveaux métabolites secondaires. Néanmoins, les milieux de culture et autres conditions de croissance peuvent également être manipulés non seulement cultiver de nouveaux taxons, mais aussi exploiter pleinement le potentiel métabolique des actinobactéries.

La diversité et la production de métabolites sont des fonctions très particulière montrant les capacités de biosynthèse de l'organisme et donc les paramètres de fermentation peuvent être manipulés pour favoriser la production de divers métabolites secondaires renforçant ainsi le rôle prometteur des actinobactéries comme source renouvelable d'agents bioactifs.

À la lumière des résultats obtenus, nous estimons que notre travail nécessite d'être poursuivi, car plusieurs perspectives pourraient être envisagées et qui peuvent être résumées comme suit :

- L'optimisation de conditions culturales pour améliorer la production des biomolécules bioactives par les trois isolats sélectionnés (Ep, Ech9, Emk1).
- Identification par biologie moléculaire des isolats sélectionnés.
- Essais d'approfondir les techniques de purification, identification et caractérisation chimique des molécules antimicrobiennes produites.
- Réalisation des tests complémentaires tel que : activités anti-inflammatoire, activités antitumorale, antivirale de nos extraits.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

(A)

- **Abou- Dohara, M. A. ,Mousa,M. M. A.,Hasaneen,M. N. A.,Nabih,S. M.(2018).**Isolation and Screening of some Actinomycetes from Soil from Damietta and Mansoura and its Antimicrobial Activities.J. Agric. Chem. and Biotechn., 9(12): 283 - 287.
- **Agbo-Godeau, S., Guedj, A. (2005).**Mycoses buccales. EMC stomatologie. 30–41.
- **Ait Barka, E.A., Vasta, P., Sanchez, L., Gaveau- Vaillant, N., Jacquard, C.,Klenk, H.- P., Clément, C., Ouhdouch, Y., Van Wezel, G.P., (2016).** Taxonomy, physiology and Natural products of Actinobacteria. Microbiol .Mol. Biol .Rev., 80:1-43.
- **Alger, M. (1989).** Polymer science dictionary. Elsevier Applied Science. 1st ed. London.
- **Aminov, (2009).** The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. Environ Microbiol.,(11):2970–88.
- **Anandan, R., Dharumadurai, D., Manogaran, G. P. (2016).**An Introduction to Actinobacteria, Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, Dr. Dharumadurai Dhanasekaran (Ed.)
- **Anandan, R., Dharumadurai, D., Manogaran, G.P. (2016).**An Introduction to Actinobacteria In: Dhanasekaran D., Jiang Y. (eds) Actinobacteria: Basics and Biotechnologicals Applications ;. Intech, Rijeka.Pp3 -37.
- **Andriambololona, T. (2010).** Etude biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d’Ankafobe. Thèse de doctorat. Université d’antananarivo.P55.
- **Angel, M., Ruben, A., Nuria, S., Paula, Y., Jesus, S. (2008).**Mycelium Differentiation and Antibiotic Production in Submerged cultures of Streptomyces coelicolor. J. Appl. Environ. Microbiol. ,74(12) : 3877-3886.
- **Anofel, (2007).** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Elsevier Masson. Paris.P775.
- **Aouar, L. (2012).** Isolement ET identification des actinomycèteses antagonistes des microorganismes phytopathogène. Thèse de doctorat. Université Mentouri Constantine, Algérie.
- **Apak, A., Ozyurek, K., Guclu., E., Capanoglu. (2016).** Antioxidant activity/capacity measurement. 2. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed-mode (electron transfer (ET)/HAT), and lipid peroxidation assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry., 64(5): 1028–1045.

- **Arora, Dilip, K. (2003).** Handbook of Fungal Biotechnology. CRC Press. Biosciences, Environment & Agriculture. P608.
- **Atta, H. M. (2009)** .An Antifungal Agent Produced by *Streptomyces olivaceiscleroticus*, AZ-SH514., 6 (11): 1495-1505.
- **Aysel, V., Demet, T. (2021)** .Diversity and antimicrobial activity of Culturable actinobacteria isolated from the sediment of Sarikum Lake. Biotechnology and Biotechnological Equipment.,1 (35):1136-1146.

(B)

- **Baldacci, E. (1962).** Tendances actuelles de la classification des Actinomycètes. Ann Soc Belge Méd Trop., 4: 633-646.
- **Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., van Wezel, G. P. (2016).** Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews., 80 (1): 1-43.
- **Barka, E.A., et al., 2016.** Taxonomy physiology and natural products of actinobacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 80 (1), 1-43 .<http://www.tandfonline.com/loi/gapp20>
- **Barrera, A.M., Ramirez, J.A., Gonzalez-Cabriaes, J.J., Vazquez, M. (2002).** Effect of pectins on the gelling properties of surimi from silver carp. Food Hydrocolloids., 16 (5): 441-447.
- **Basu, A., Prasad, P., Das, S.N., Kalam, S., Sayyed, R.Z., Reddy, M.S.; El Enshasy, H. (2021).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. Sustainability., 13 :1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- **Becker, B., Lechevalier, M.P., Lechevalier, H.A. (1965).** Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various form genera of aerobic actinomycetes. Appl. Microbiol., 13: 236-242.
- **Becker, B., Lechevalier, M.P., Lechevalier, H.A. (1965).** Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various form genera of aerobic actinomycetes. Appl. Microbiol., 13:236-242.
- **Becking, J.H. (1974).** Family III. Frankiaceae. In: Bergey Manual of Determinative Bacteriology. 8th Eds. Buchanan R.E. and Gibbons N.E. (Eds.). Williams and Wilkins Co. Baltimore. Pp701-706.

- **Belgacem, H., Benreguieg, M., Adli, D.E.H., Benzerga, A. (2023).**Antifungal and antioxidant activities of actinobacteria isolated from Algerian desert soils. *Journal of Applied Biological Sciences.*, 17(1) , 20 – 38 .
- **Belyagoubi ,L. (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Thèse de Doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. Pp.14-17.
- **Benhadj,M.,Gacemi-Kirane,D ., Menasria,T., Guebla,K.,Ahmane,Z .(2018).**Screening of rare actinomycetes isolated from natural wetland ecosystem (Fetezara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities. *Journal of King Saud University - Science.*,31:706-712.
- **Bennini, A., Mehdi, Kh. (2017).** Etude pénotypique des Souches d'Echerichiacoli multi résistantes isolées de CHU Constantine. Mémoire de master. Université des frères Mentouri Constantine. Algérie. Pp36.
- **Benouagueni, S., Ranque, S., Gacemi, D.K. (2014).**A non-polyenic antifungal produced by a *Streptomyces yatensis* strain isolated from Mellah Lake in El Kala, Northeast of Algeria. *Journal De Mycologie Médicale.*,25 (1):2-10.
- **Bouaziz, S. (2018).** Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouargla. Pp. 4-13.
- **Boudjelal-Bencheikh, F. (2012).** Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97 (Doctoral dissertation).Pp33-37.
- **Boudjelal-Bencheikh, F. (2012).** Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. Pp.5-35.
- **Boudjella,H., Bouti1,K., Zitouni, A. , Mathieu,F. , Sabaou,N.(2007).**Isolation and partial characterization of pigment-likeLebrihi, antibiotics produced by a new strain of *Streptosporangium* isolated from an Algerian soil.*Journal of Applied .*103(1):228-36.
doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03280.x.
- **Boulahbal , F. (2006).** Microbiologie Clinique. Office des publications Universitaires. Alger. Pp24-87 ; 127-128.

- **Bouzigha, N., Bouchiba, S. (2017).** Diversité métabolique et physiologique de quelques souches d'actinomycètes. Pp13-14.
- **Brown, G .D.Denning, D.W., Gow, N.A., et al. (2012).**Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med.*,4:165-113.
- **Bulock, J.D. (1965).** The biosynthesis of natural products. An introduction to Secondary metabolism. MC Graw. Hill, New -York. Pp 281-434.

(C)

- **Canawanichakul, L.K., Chawawisit, K., Pondet, J., Kawantep. (2015).**Quantitation of Total Phenolic Contents of Bioactive compounds Fraction *Streptomyces* species .*Int. J. pharmtech. Res* .ISBN:7320-324.
- **Cantin, P. A. (1999).** Oxidant and antioxidants in lung injury. In: *Lam and Other Diseases Characterized by Smooth Muscle Proliferation*. Moss j. New York: Dekker, 519 –531. Characteristics and practical importance. Eds.: G. Sykes, F.A. Skinner. Academic characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen.
- **Carle, S, (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Le parrainage des antimicrobiens.*Pharmactuel.* ,42 : 6-21.
- **Cavallo, J-D. Mérens, A. (2008).** Antibacterial spectrum of an antibiotic and clinical categorization. *Pathologie Biologie.*, 56 (5): 300-304.
- **Chater, N., (1999).** Ten years of the rational analysis of cognition. *Trends in cognitive sciences.*, 3(2) : 57- 65.
- **Conn, H. J., Conn, J. E., (1941).**Value of Pigmentation in Classifying Actinomycetes: A Preliminary Note. *J Bacteriol.*, 42(6):791-9. doi: 10.1128/jb.42.6.791-799.1941.

(D)

- **Dabelstein, W., Reglitzky, A., Schutze, A., Reders ,k. (2007).** Automotive fuels ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. *Microbiol.*, 134:17-21.
- **Denser, P., Guimarães,R., Facciotti, M. C .R (2002).**Applications of image analysis in the Characterization of *Streptomyces olindensis* in Submerged culture . *Braz. J. Microbiol.*, 33:17-21.
- **Ding, T., Yang, L.- J., Zhang, W.- D., & Shen, Y.- H. (2019).** The secondary metabolites of rare Actinomycetes: chemistry and bioactivity.*RSC Advances.*,9(38) : 21964- 21988.

- **Djaballah, C. (2010).** Biodiversité des Actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la Sebka de AIN MLILA. Mémoire de Magistère : Ecologie Microbienne Université Mentouri de Constantine, Algérie.P79.
- **Djinni, I. (2009).** Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées production de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Bejaia. Thèse de Magister. Université. A. Mira-Bejaia. P154.
- **Djinni, I., Defant, A., Kecha, M., Mancini, I. (2013).** Metabolite profile of marine-derived endophytic *Streptomyces sundarbansensis* WR1L1S8 by liquid chromatography-mass spectrometry and evaluation of culture conditions on antibacterial activity and mycelial growth. *J. Appl. Microbiol.*, 116: 39-50.
- **Dommergues, Y., Mangenot, F. (1970).** Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie. France).P 796.
- **Donadio, S., Sosio, M., Lancini, G. (2002).** Impact of the first *Streptomyces* genome sequence on the discovery and production of bioactive substances. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 60(4): 377-80.

(E)

- **Elghachtouli, E. (2014).** Recherches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu isolées dans les Selles, Mémoire de master. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Maroc .P22.
- **Epote, E.J.C. (2014).** Analyse pharmaceutique de la prescription des antibiotiques à la pharmacie hospitalière du CHU Points G. Thèse de doctorat. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako.P119.

(F)

- **Fiedler, H.P., et al., 2008.** Proximicin A, B and C, novel aminofuran antibiotic and anticancer compounds isolated from marine strains of the actinomycete *Verrucosporina*. *J. Antibiot. (Tokyo)*. , 61 (3):158-163.
- **Flårdh, K., and Buttner, M. J. (2009)** .*Streptomyces* Morphogenetic: dissecting differentiation in a filamentous bacterium .*NatRev Microbiol.*, 7: 36-49.

(G)

- **Gangneux, J.P., Bougnoux, M.E., Hennequin, C. et al. (2016).** LIFE program, SFMM-study group. An estimation of burden of serious fungal infections in France. *J Mycol Med.*,(26): 385-90.
 - **Garrity, G .M., Lilburn, T. G., Cole, J. R., Harrison., S. H., Euzéby, J., Tindall, B. J. (2007).** Taxonomic Outline of the Bacteria and Archea Release Part 1-the “Archea», phyla»Crenarchaeota»and “Euryarchaeota”Taxonomic Outline, Pp 551-73.
 - **Gebreyohannes,G ., Moges,F., Sahile,S.,Raja,N.(2013).**Asian Pac J Trop Biomed., 3(6): 426-435.
 - **Ghanem, N.B., Sabry, S.A., M. El-Sherif, Z., Gehan, A., Abu El-Ela. (2000).** Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *The Journal of General and Applied Microbiology.* 46 (3):105-111.
 - **Ghorbel, S., Maher. K., Hala. S., Moncef. N., Noomen.H. (2014).**Streptomyces flavogriseus HS1: Isolation and Characterization of Extracellular Proteases and Their Compatibility with Laundry Detergents. *Journal of BioMed.*P 8.
 - **Golkar, Z., Bagazra, O., Pace, D.G. (2014).**Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis. *J Infect Dev Ctries.*, 8(2):129–136.
 - **Goodfellow, M. (1983).** Ecology of Actinomycetes. *Ann Rev Microbiol.*Pp. 189 - 216.
 - **Goodfellow, M., Jones, A.L., Maldonado, L.A., Salanitro, J. (2004).** Rodococcus aethrivorans Sp. Nov., a new species that contains methyl -t- butyether degrading Actinomycets. *Syst. Appl. Microbiol.* 27: 61-5.
 - **Goodfellow., Cross, T.,Goodfellow. Williams, S.T., Mordarski, M. (1984).** Classification in *The Biology of the actinomycetes.* (Eds). Academic Press London .Pp7-164.
 - **Gulve, R. M.et Deshmukh, A. M. (2011).** Enzymatic activity of actinomycetes isolated from marine sediments. *Recent Research in Science and technology.* ,3(5):80-83.
- (H)**
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007).**Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège.*, (62) : 628 – 638.
 - **Halliwell. (2011).** Free radicals and antioxidants—quo vadis. *Trends in Pharmacological Sciences.*Pp125–130.
 - **Halnt, D. H., Sarkis, D. k., Moubareck, C. A. (2016).** Carbapenem –Resistant, Gram-Negative Bacilli: the state of the art. The state of the art. In *Antibioticresistence, mechanisms and new antimicrobial Approaches.* Elsevier Inc.Pp93-119

- **Hamedi, J., Poorin, M. N., Papiran, R. (2017).** Growth and Life Cycle of Actinobacteria. Springer International Publishing AG. Pp29-30.
- **Harir, M. (2018).** Caractérisation des molécules bioactives par des souches d'actinobactéries isolée de sols semi arides d'Algérie. Thèse de doctorat. Université d'Oran 1. Ahmed ben bella. Pp4-12.
- **Hasavada, H., Thumar et Singh. (2006).** Secretion of a potent antibiotic by salt-tolerant and alkaliphilic actinomycete *Streptomyces sannanensis* strain RJT-1. *Current Science*, 91(10): 1393-1397.
- **Hassan, S. E. D., .et Mohamed, A. A. (2020).** Multifunctional properties of spherical silver nanoparticles fabricated by different microbial taxa. *Heliyon.*, 6 (5): 3943.
- **Holzappel, W., Brost, I., Faerber, P., Geisen, R., Bresch, H., Jany, K-D., Mengu, M., Jakobsen, M., Steyn, P.S., Teniola, D and Addo P. (2002).** Bacterial degradation of aflatoxin B1, ochratoxin A and/ or zearalenone. *PCT Int. Appl.* P19.
- **Hopwood, D. A. (1973).** Genetics of the Actinomycétales. *Soc Appl Bacteriol SympSer.*, 2:131-53.
- **Hopwood, D. A. (2003).** *Streptomyces* genes: from Waksman to Sanger. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 30(8): 468-477. doi: 10.1007/s10295-003-0031-7.

(I)

- **Inbathamizh, L, Ponnu, T.M., Mary, E.J. (2013).** In vitro evaluation of antioxidant and anticancer potential of *Morinda pubescens* synthesized silver nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Research.*,(6) :32-38.
- **Inesss .(2017).** Le classement des substances polymyxine b et ses sels et gramicidine Et Ses Sels Pour Un Usage Oto- Ophtamique. Quebec. P29.

(J)

- **Janaki, T. (2017).** Enzymes from Actinomycetes. *International Journal of ChemTechResearc.* 10 (2): 176-182.
- **Jelié, D., Antolovié, R. (2016).** From erythromycin to azithromycin and new potential ribosome. *Binding antimicrobials. Antibiotics* , 5 (3) :29-30.
- **Jensen, P.R., Gontang, E., Mafnas, C., Mincer, T.J., Fenical, W. (2005).** Culturable marine actinomycete diversity from tropical Pacific Ocean sediments. *Environmental Microbiology.* , 7(7):1039-1048.

- **Jiang, Y., Li, W.J., Xu, P., Tang, S.K., Xu, L.H. (2006).** Study on diversity of Actinomycetes under salt and alkaline environments. *J of Applied Microbiology and Biotechnology.*, 46(2):191-5.
- **Juan, P., José, M.D., Alfredo, F.B., Lawrence, J. S., Laura, S., Romón I. S.(2011) .** Myxococcus Xanthus induces actinorhodin overproduction and aerial mycelium formation by *Streptomyces coelicolor*. *Microbiol. Biotechnology.*, 4(2):175-183.

(K)

- **Kalpana, D., Rajamanickam, U. (2018).** Biodeversity of actinomycetes and secondary metabolites. *Journal of Science* .,5:351
- **Kapoor, G., Saigal, S., Elongavan, A. (2017).** Action and resistance mechanisms of Antibiotics: A guide for Clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical pharmacology.*,3 (33): 300-305.
- **Kaur, T., et al.(2013).** Antagonistic and plant growth promoting activities endophytic and soil actinomycetes. *Arch. Phytopathol. Plant Protect.* ,46 (14): 1756-1768.
- **Kelly, M. (2017).** Synthèse de composés phénoliques de types diarylheptanoïde: évolution de leurs propriétés antioxydante et anti-inflammatoires. Thèse de doctorat. Chimie organique. Université Paul Sabatier-Toulouse. Pp22-23.
- **Kheiralla, Z. H., Darwesh, O. M., Hewedy, M. (2016).** Research Journal of Pharmaceutica, 1 Biological and Chemical sciences.” isolation of pigment producing Actinomycetes from rhizosphere Soil application it in textiles dyeing“.Cairo , Egypt , No.P2135.
- **Kheiralla, Z.H., Darwesh, O.M., Hewedy, M. (2016).**Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. “Isolation of pigment producing actinomycetes from rhizosphere soil application it in textiles dyeing“. Cairo, Egypt, No.P2135.
- **Kim, Y. M., et KIM, J. H., (2004).**Formation and dispersion of mycelial pellets of *Streptomyces coelicolor* A3. *J. Microbiol.*, 42: 64-67.
- **Kiouba,J, (2003).** Usage des antibiotiques en milieu hospitalisé. Thèse, pharm. Université de Bamako.Pp72.
- **Kirmusaoglu, S., Gareayaghi, N., S, Kocazeybek, B. (2019).**Introductory Chapter: the action mechanisms of antibiotics and Antibiotic resistance. In antimicrobials antibiotic resistance. Antibiofilm Strategies and Activity methods.

- **Kitouni.M. A., Boudemagh.A. Oulmi.L.,b., Reghioua.S. F b. ,Boughachichequot.b., Zerizer.H b ., Hamdiken.H b ., Couble .A a ., Mouniee.D a ., Boulahrouf .A., Boiron. P.(2005).**Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north-east of Algeria. *Journal de Mycologie médicale.* (15): 45- 51.
- **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).**Oxygène, stress oxydatif et supplémentation antioxydante ou un aspect différent de la nutrition dans la maladie respiratoire. *Nutrition Clinique & Métabolisme.*,(20) : 165 – 177.
- **Kurup, V. P. Barboriak, J. J.,Fink, J. N. and Lechevalier, M. P. (1975).** Thermo Actinomyces candidus, a new species of thermophilic actinomycètes. *International Joournal of Sytematic Bacteriology.*, 25(2) :150-154.

(L)

- **Larpent, J. P. (2000).** Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Lavoisier.France. Pp280.
- **Larpent, J.P., Sanglier J.J. (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Masson Paris Milan Barcelone Mexico.Pp1 -21 ; 104 -106.
- **Larpent,J. P., Sanglier J. J. (1989).** Biotchnologie des Antibiotiques. Ed.Masson. Paris.P481 le lien :<http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.10.0021>.
- **Lechevalier, H. A. (2016).** Actinomycètes.Encyclopædia Universalis (en ligne).URL:<http://www.universalis.fr/encyclopedie/actinomycetes/>.
- **Lechevalier, M. P. and Lechevalier, H.(1970).**Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 20(4) :435-443. doi.org/10.1080/13102818.2021.1952898
- **Li, Q., et al. (2016).** Morphological Identification of Actinobacteria. *Actinobacteria – Basics. Biotechnological Applications.* Dharumadurai Dhanasekaran and Yi Jiang , Intech Open. London.Pp59-86.
- **Lione,N. (2009).** Etude de prescription d’antiptiotiques gérées en milieu official. Thèse de doctorat Universitié de Bamako.Mali .P61.

(M)

- **Margalith, P. L. (1992).**Pigment microbiology. First edition Chapman ET Hall. Pp5–15.
- **Mariat F., Sebald M. (1990).** Les actinomycetes. Dans: *Bactériologie médicale.* Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.
- **McCall, M.R. ,Frei, B. (1999).** Can Antioxidant Vitamins Materially Reduce Oxidative Damage in Humans *Free Radical Biology and Medicine.*(26):1034-1053.

- **McGuire, J.M., Bunch, R. L., Anderson, R.C., Boaz, H.E., Flynn ,E.H, Powell H.M,Smith, J.W. (1952).** Ilotycin, a new Antibiotic, *Antibiot Chemother (Northfield)*.,2(6) : 281- 283.
- **McKinney, R. (2004)** .*Environmental Pollution Control Microbiology*.CRC Press : New York .Pp448.
- **Medjemadj,M., Escuder-Rodríguez , j.j ., Boudemagh,A ., González-Siso,M.(2020)** .Actinobacteria isolated from Algerian hot springwaters: A potential source of important enzymes. *Journal of Ecology, Environment and Conservation.* , 26 (3) : 1145-1157.
- **Medouni-Haroune., Zaidi., Medouni-Adrar, S.,Sevastianos,R., Azzouz,S ., Desseaux,V ., Kecha,M.(2017).**selective isolation and screening of actinobacteria strains producing lignocellulolytic enzymes using olive pomace as substrate.*Iran J Biotechnol.* , 15(1): 74–77. doi: 10.15171/ijb.1278.
- **Mehdi. S, (2008).** La fréquence des Bactéries multi résistance à l’hôpital Hassan ii de Settat . THESE [En Ligne] . Pour L’obtention Du Doctorat En Pharmacie Rabat Université Mohammed Faculté De Médecine et de Pharmacie. Pp 48-51.
- **Memmu, W. (2018).** Etude de la résistance aux antibiotiques des Souches d’entérocoques isolées de divers Services de CHU de Tlemcen: Université Aboubakr Belkaïd Tlemcen. P42.
- **Messoudi, O .(2012).** Contribution à la caractérisation des souchesd’actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la Sebkha de Kenadsa(Bechar).
- **Mika, G ., Cynthia ,B., Marie-Hélène ,B., Pierre ,B.(2004).**Pregnancy-associated mortality after birth, spontaneous abortion, or induced abortion in Finland. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.*(190):422-7.
- **Minor, L., Veron, M. (1989).**Bactériologie médicale. 2 ème édition. Médecine, sciencesFlammarion. ISBN: 12418-9. Pp2-257.
- **Mobini-Dehkordi., Fahime, A.J. (2012).** Application of alpha-amylase in Biotechnology. Publisher: Lambert Academic PublishingISBN.Pp 978-659; 40419-1.
- **Mohammad,F.,Wink, J. (2016).** Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity. *Front. Microbiol.* ,(6): 1541.
- **Mohsen ,G., Nima,B., Amir,R .J., Mohammad ,S. M., Samad ,H., Ebrahim, E (2019).** Isolation, Distribution and Evaluation of Cytotoxic and antioxidant activity of cultivable actinobacteria from the Oman Sea Sediments [J]. *Acta Oceanologica Sinica.*, 38(12): 84-90.

- **Muhammad, A. K., Harsi, D. K., Hanifah, N. L., Ekowati, C. (2021).** Antibacterial and antioxidants potential of Ethyl acetate extract from *Streptomyces* AIA12 and AIA17 Isolated from gut of *Chanos*. *Biodiversitas* (22): 3196- 3206.
- **Muylaert, A., Mainil, J. (2013).** Résistance bactériennes aux antibiotiques. Les mécanismes et leur “ contagiosité “. In *Annales de médecine vétérinaire*. (156) : 109- 123.

(N)

- **Nanjani, S. D., Soni, H. P. (2011).** isolation and characterization of extremely halo tolerant and halo philic organisms from dawarka and veraval . *Bio-informatiques* .,1(1): 1-15.
- **Nauciel, C., Vildé, J.L. (2005).** Bactériologie médicale. 2-ème édition. Masson Paris. P257.
- **Nicemol, C., Asha, P., Prem. (2008).** Purification and partial characterization of polygalacturonase from *Streptomyces lydicus*. *Journal Bioresource Technology*.,(99): 6697–6701.
- **Nielsen, R.V., Holding – Nielsen, F., Jacobsen, K. (1982).** Biological properties of Ristocétine - aglycone. *J Antibiot (Tokyo)* .,35(11):1561- 1564.
- **Nikaido, H. (2009).** Multidrug resistance in bacteria. *Annual review of biochemistry*. 78:119- 146.
- **Niki, L., Reynaert, S. W., Aesif, T. M., Amy, B., Emiel, F. M., Wouters, C. G., Irvin, Yvonne, M. W., & Janssen-Heininger. (2007).** Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of Immunology*.,178: 3814 – 3821.

(O)

- **Olisaka, F.N., Ayanru, D.K.G. (2021).** Actinomycètes mésophiles dominants à Oredo sols. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. Pp49-53
- **Osman, J.R., Fernandes, G., et Dubow, M.S. (2017).** Bacterial diversity of the rhizosphere and nearby surface soil of rice (*Oryza sativa*) growing in the Camargue (France). *Rhizosphere* ., 3:112–122.
- **Ouargli, M. (2018).** Les actinomycètes producteurs des molécules bioactives. Thèse de Doctorat. Université de Badji Mokhtar-Annaba. P189.
- **Ouhdouch, Y., Barakate, M., Finance, C. (2001).** Actinomycetes of Moroccan habitats: Isolation and screening for antifungal activities. *Eur.j.Soil.Biol.*,(37):69-74.

(P)

- **Pallauf, K, Bendall, J. K., Scheiermann. , Watschinger, K., Hoffmann, J., Roeder, T., and Rimbach, G. (2013).** Vitamin C and lifespan in model organisms. *Food and chemical toxicology.* ,58:255-263.
- **Passari, A.K., et al., (2015).** Isolation, abundance and phylogenetic affiliation of endophytic actinomycetes associated with medicinal plants and screening for their in vitro antimicrobial biosynthetic potential. *Front. Microbiol.*, 6:273.
- **Passari, A.K., et al., (2017).** Insights into the functionality of endophytic actinobacteria with a focus on their biosynthetic potential and secondary metabolites production. *Sci. Rep.* ,7 (1):11809.
- **Prakasham, R. S., Sudheer, K. B., Vinay, B. T., Yaswanth, V. V. N., Jamal, A. (2014).** Production of polypeptide antibiotic from *Streptomyces parvulus* and its antibacterial activity. *B. J. M.*, 45: 303-312.
- **Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein D.A. (2003).** *Microbiologie.* De Boeck Edition (Berlin), 2ème édition. ISBN-10: 2804142566. P539.
- **Prescott . , Willey, J., Sherwood, L. M., Woolverton, C., (2013).** *Microbiologie.* 4ème édition, de boeck, Paris.P1070.

(R)

- **Rajivgandhi, G.N., Vimala, R.T.V., Ramachandran, G., Kanisha, C.C., Manoharan, N., Li, W.J. (2022).** An Overview on Natural Product from Endophytic Actinomycetes. In: Rai, R.V., Bai, J.A. (eds) *Natural Products from Actinomycetes.* Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-6132-7_6.
- **Ramalingam, S., Udhayakumar, K., Saravanan, R., Dheeba, B. (2017).** Extraction of Actinomycetes (*Streptomyces* sp). Pigment and Evaluation of its Anticancer Property on Hela Cell Line. *Der Pharma Chemical.* 9 (24): 106- 113.
- **Rang ,S, G., Bagyaraj, G. (2004) .** *Agricultural Microbiology PHI : New Delhi .P592.*
- **Ranjani, A., Dhanasek, and Gopinath P., Manogaran. (2016).** an Introduction to Actinobacteria. ,10:5772-62329.
- **Ravel, J. E., Willington, M. H., and THill.E. , (2000).** Interspecific transfer of *Streptomyces* giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* ,66: 529-534.
- **Rehman, K., Fiayyaz, F., Khurshid, M., Sabir, S., Akash, M. S. H.(2019).** Antibiotics and antimicrobial resistance: temporal and global trends in the environment. In *Antibiotics*

and Antimicrobial Resistance Genes in the environment. *J. Environmental Pollution* .,1: 7-27 .

- **Reygaert, W.C. (2018)** .An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria .*J Microbiology* .,4(3) :482.
- **Risan, D.R., Yahiya, A. (2022)**. Antibiotic Activity of Actinomycetes Isolated from Young Biointerface Res . *Applied Chemistry* . , 12:8174- 8183 .
- **Risdian, C., Safaei, N., Steinert, M., Wink, J. (2022)**. Exploration of Insects and Mollusks for New Secondary Metabolites from Actinobacteria. In: Rai, R.V., Bai, J.A. (eds) *Natural Products from Actinomycetes*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-6132-7_2
- **Rueda, B., Miguelez, E. M., Hardisson, C., Manzanal. M. B. (2001)**. Mycelial differentiation and spore formation by *Streptomyces brasiliensis* in Submerged culture .*Con. J Microbiol.*, 47: 1042-1047.

(S)

- **Saci, A. (2011)**. Production alpha-amylase par *Streptomyces sp.* Optimisation d'un milieu de production à base de déchets d'orange. Thèse de Magister. Université Mentouri Constantine. Pp10-12.
- **SAKER, R. (2015)**. Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Pp9-14.
- **Sanchez, S., Del Carmen Mateos, R., Escalante, L., Rubio, J., Lobe, H., Farres, A., Flores, M. (1984)**. Regulation of erythromycin formation in *Streptomyces erythreus* .New York: Academic Press. Pp343- 355.
- **Sanglier, J. J., Trujillo M., (1997)**. Substances bioactives produits par les actinomycètes, Stratégie de sélection de souches. *Bull Soc Fr Microbiol*, 12(3):269 – 276.
- **Savini, I., Catani, M .V., Evangelista ,D., Gasperi ,V and Avigliano, L. (2013)**. Obesity –associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int. J. Mol. Sci.*,14: 10497-10538.
- **Séverine, D. (2010)**. Comment venir à bout des mycoses. *Actualités pharmaceutiques.*, 495 (49) : 44-46.
- **Shivlata, L., Tulasi, S., (2015)**. Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications. *Front. Microbiol.* Pp6-1014.

- **Singh, S. P., Raval, V. H., Purohit, M. K., Thumar, J. T., Gohel, S. D., Pandey, S., et Rawal, C. M. (2012).** Haloalkaliphilic bacteria and Actinobacteria from the saline habitats: new opportunities for biocatalysis and bioremediation. In *Microorganisms in environmental management*. Springer, Dordrecht. Pp415-429.
- **Sirisha, S., Sreenivasulu M., Sangeeta K., Chetty C. M. (2013).** Antioxidant properties of Ficus species a review. *International Journal of Pharmacy and Technical Research*.2 (4): 2174-2182.
- **Sivakumar, K., Maloy Kumar Sahu, T., Thangaradjou. , Kannan, L. (2007).** Research on marine actinobacteria in India. *J. Microbiol. , 47:186–196.*

(T)

- **Tenover, F. C., (2006).** Mechanisms of antibacterial resistance in bacteria . *The American Journal of medicine* .P119.
- **Thenmozhi, Sindhura, S., Kannabiran, K. (2010).** Characterization of antioxidant activity of Streptomyces species VITTK3 Isolated from Puducherry Coast, India .*J.Adv .Sci . Res. (1): 46-52.*
- **Tortora, G.J, Fanke, B.R., Case, C.L. (2019).** Antimicrobial Drugs .In : *Microbiology :an introduction 13 th ed.* Boston. USA: Pearson, P 558. ISBN 9780134605180.

(V)

- **Van, B. F., Tulkens, P., Youri, G.Y., Mingeot – Leclercq M-P .Etienne Son veaux E. (2008).** *Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti –infectieuse, 1, Antibiotiques, 2. Antifongiques.* Syllabus national belge de pharmacologie, Bruxelles. P202.
- **Veyisologlu, A., Tatar, D. (2021).** Diversity and antimicrobial activity of Culturable actinobacteria isolated from the Sediment of Sarikum Lake .*J Biotechnology and Biotechnological equipment. , 35(1): 1136- 1146.*

(W)

- **Wang, J., Soisson, S. M. (2006).** Platensimycine is a Selective Fab F inhibitor with potent antibiotic properties. *Nature. , 441: 99-110.*
- **Weinstein ,M.J., Luedemann, G.M., Oden, E.M., Wagman, C.H, Rosselet, J.P. , Marquez, J .A., Coniglio, C.T., Charney, w., Herzoy ,H.L., Black, J .(1963) .Gentamicin a new antibiotic complex from Micromonospora , *Journal Med Chemistry .6(4) : 463- 464.***

- **Williams, S. T., Goodfellow, M. ., Anderson, G. (1989).** Genus *Streptomyces*, Williams S. T., Sharpe M. E et Holt J.H. Bergey. Manual of Systematic bacteriology Williams .wilkins., 4:2452-2492.

(Y)

- **Yang, Y and M.C., Clement D. J. (2013).** Vitamin E bioaccessibility: Influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified α -tocopherolacetate. Food Chemistry., 141:473-481.
- **Youcef-Ali.M. (2014).** Etude de l'activité anti-*Candida albicans* des microorganismes isolés à partir du sol des zones arides. Thèse doctorat. Université Constantine 1. P 484.

(Z)

- **Zaitlin, B., Watson, S.b., Ridal, J., Satchwill, T., Parkinson, D. (2003).** Actinomycetes in Lake Ontario: Habitats, geosmin, and MIB production. Res J Can., 95 (2): 113-118.
- **Zhang, J., Guo, C., Chen ,W., Lajudie, P., Zhang, Z., Shang, Y., Wang ,E.T. (2018)**. Mesorhizobium *wenxiniae* sp. Isolated from Chickpea (*Cicer arietinum* L.) In China. Int J Syst Evol Microbiol., 68 (6): 1930 – 1936.
- **Ziai, S. (2014).** La résistance bactérienne aux antibiotiques : Apparition et stratégies de lutte. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges. Faculté de pharmacie, Limoges. P147.
- **Zitouni, A., Boudjella, H., Mathieu, F., Sabaou, N., Lebrihi, A. (2004).** Mutactimycin PR, a new anthracycline antibiotic from *Saccharothrix sp.* SA 1 03. I. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Biological Activities. *J. Antibiot.*, 57: 367-372.
- **Zvyagintsev, D., Zenova, G., Sudnizin , I., Doroshenko , E . (2005).** The Ability of soil Actinomycetes to Develop at an Extremely Low Humidity., 405: 461-463.

ANNEXES

Annexe 1 : Composition des milieux de cultures utilisés**1. Milieu Olson**

Sodium caséine.....	2g
L aspragine.....	0.1g
Sodium propionate	4g
K ₂ HPO ₄	0.5g
FeSO ₄	0.01g
Agar.....	10g
Eau distillée.....	1000ml

PH = 7.2**3.Muller Hilton**

Extrait de viande.....	2g
Hydrolysat acide de caséine	17,5 g
Amidon.....	1,5 g
Agar.....	10 g
Eau distillée	1000 ml

PH = 7,4**2.Milieu YMEA + CaCO₃**

Extrait de levure.....	4g
Extrait de malt.....	10g
Glucose.....	4g
CaCO ₃	1g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

PH = 7,3**4.ISP2**

Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Glucose	4g
Agar	20g
Carbonate de calcium	2g
Eau distillée	1000 ml

PH = 7,3

5.Milieu GN

Peptone.....5g
 Extrait de levure.....3g
 Agar.....15g
 Eau distillée.....1000mL

PH = 7**6.Milieu ISP9**

(NH₄)₂ SO₄.....2.64g
 KH₂ HPO₄..... 2.38g
 K₂ HPO₄..... 5.65g
 MgSO₄ 7 H₂O 1g
 Solution d'oligoéléments.....1g
 Agar.....15g
 Eau distillée1000ml

PH=7.4**7.Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)**

Glucose.....20g
 Pomme de terre200g
 Agar.....15g
 Eau distillée.....1000ml

PH=6.5

Annexe 2 : Les solutions**1. Solution de Mac Farland**

Solution de BaCl₂ · 2H₂O,
1%.....0.6ml

Solution de H₂SO₄, 1
%.....99.4ml

1. Eau physiologique

Chlorure de sodium.....9g

Eau distillée.....1000ml

2. Solution d'oligo-éléments***

FeSO₄ 7 H₂O.....0.11g

MnCl₂ 4 H₂O.....0.079g

ZnSO₄ 7 H₂O.....0.15g

CuSO₄ 5H₂O.....0.64g

Eau distillée.....100ml

2. Solution de chlorure de mercure

Chlorure de mercure.....0.07g

L'eau distillée.....25ml