



*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*



**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR- KHENCHELA**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**FILIERE : Biologie moléculaire et cellulaire**

**OPTION : Microbiologie générale**

**Thème**

**Activité antibactérienne et antifongique d'une collection  
d'actinomycètes telluriques**

**Présenté par :**

**AGGOUN Rafika**

**FAHLOUL Amel**

**Soutenu le: 16/06/2015**

**Membres du jury**

**Président : BOUAKKAZ A.**

**Maître assistant A Université Abbes Laghrou**

**Encadreur : BENSOUICI K.**

**Maître assistant A Université Abbes Laghrou**

**Examineur : YAKHLAF W.**

**Maître assistant A Université Abbes Laghrou**

**Promotion : 2014/2015**

## Remerciements

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

*Nous remercions Mme BOUAKKAZ Amel, maitre assistant A à l'université ABBES LAGHROUR -KHENCHÉLA- pour nous faire l'honneur de présider le jury de soutenance, ainsi que Mme YAKHLAF Wahiba, maitre assistant B à l'université ABBES LAGHROUR d'avoir accepté de participer à ce jury.*

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



## *Dédicace*

*Je remercie avant tout « ALLAH »*

*Je dédie l'apanage de cet écrit aux plus chères à mon cœur et lumière de mon âme, mes parents, que je profite pour les remercier pour tout : Ma Mère et mon Père*

*A mes sœurs Rabia Zouhra Leila et Ilham*

*A mes frères Sabre et Aymen*

*A surtout mes chers Abd Arroufe, Akram et Younes*

*A mes chères amies Amel Fatma Razika Nawel zhour Maha*

*Fatiha Kholoud Widad*

*A toute ma famille*

*Rafika*





# *Dédicace*

*Je remercie tout d'abord mon DIEU*

*Je dédie ce travail*

*A mes chers parents et surtout ma chère mère*

*A mes deux chers frères Khiro et Bilal*

*A mes deux chères sœurs Souad et Razika*

*A tout ma famille*

*Mes amies et surtout Rafika Fatma Razika Widad Nawal*

*Mes enseignants qui m'ont éclairée la route du savoir*

*A tous mes collègues de ma promotion*



*Amel*

## Glossaire

**Bactéricide:** le pouvoir de tuer les bactéries.

**Bactériostatique:** le pouvoir d'inhiber la croissance des bactéries.

**Hétérotrophe:** organisme qui utilise des matières organiques préformées provenant d'autres organismes comme source de carbone et d'énergie pour son métabolisme.

**Humification:** décomposition par les microorganismes des matières organiques mortes complexes en les réduisant en un composant plus simple (humus) directement assimilable par les plantes.

**Hyphe:** filament mycélien qui constitue l'appareil végétatif des champignons et des Actinomycètes.

**Mycélium:** appareil végétatif du champignon et d'Actinomycète constitué d'un ensemble de filaments appelés hyphes.

**Procaryote:** organisme unicellulaire dépourvu de noyau délimité par une membrane, le matériel génétique est localisé dans une région irrégulière appelée nucleoïde ou région nucléaire.

**Rhizosphère:** elle correspond à la zone du sol dans laquelle la microflore tellurique est soumise à l'influence des racines.

**Sporange :** se sont des sacs contenant des spores. Ils peuvent être rencontrés sur le mycélium aérien bien développé ou sur la surface de colonies dépourvues ou ayant un mycélium aérien peu développé.

**Spore:** cellule isolée ou en amas pluricellulaire pouvant contribuer à la propagation d'une espèce par voie végétative ou par voie sexuée.

**Symbiose:** association de deux espèces distinctes dont la vie en commun est profitable à chacune d'elles.

**Ubiquitaire:** qui se trouve partout en même temps.

## *Liste des abréviations*

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ATCC** : American Type Culture Collection

**°C** : Degré Celsius

**E. coli**: *Escherichia coli*

**G-** : Gram négatif

**G+** : Gram positif

**GC** : coefficient de Chargaff

**MA** : mycélium aérien

**MS** : mycélium du substrat

**mm** : Millimètre

**m** : Mètre

**UFC** : Unité Formatrice de Colonies

**%** : Pourcentage

**µm** : Micromètre

---

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Principaux taxons de microorganismes du sol ( <b>Roger <i>et al.</i> , 2001</b> ) .....	<b>05</b>
<b>Tableau 02</b> : Habitats de certains actinomycètes ( <b>Grigorova et Norris, 1990</b> ) .....	<b>08</b>
<b>Tableau 03</b> : Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol ( <b>Andriambolona, 2010</b> ) .....	<b>09</b>
<b>Tableau 04</b> : Les principaux genres d'actinomycètes ( <b>Andriambolona, 2010</b> ) .....	<b>12</b>
<b>Tableau 05</b> : Différentes valeurs de GC % rencontrées dans le groupe des actinomycètes ( <b>Boudemagh, 2007</b> ) .....	<b>13</b>
<b>Tableau 06</b> : Exemples d'antibiotiques produits par des actinomycètes ( <b>Boucheffa, 2011</b> ). .....	<b>16</b>
<b>Tableau 07</b> : Caractéristiques des souches tests .....	<b>19</b>
<b>Tableau 08</b> : Normes utilisées dans la méthode des disques ( <b>Leipzig, 1996</b> ).....	<b>20</b>
<b>Tableau 09</b> : Activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes contre les souches bactériennes tests .....	<b>23</b>
<b>Tableau 10</b> : Activité antifongique des isolats d'actinomycètes vis-à-vis de deux souches fongiques <i>Aspergillus niger</i> et <i>Fusarium oxysporum</i> .....	<b>25</b>

**Liste des figures**

**Figure 01 :** Cycle de développement d'un actinomycète (*Streptomyces*) sur milieu solide (Hosdong, 1992) .....10

**Figure 02 :** Une colonie du genre *Streptomyces* sur milieu solide (Dvorak, 1999) ... ..... 12

**Liste des photographies**

**Photographie 01:** Aspect de la colonie de l'isolat Sel 5, sur milieu Amidon caséine ..... **22**

**Photographie 02:** Activité antibactérienne sur milieu Mueller-Hinton des souches actinomycétales contre *Bacillus Cereus* ..... **24**

**Photographie 03:** Activité antifongique sur milieu Sabouraud des souches actinomycétales contre *Fusarium oxysporum* ..... **25**

---

## Sommaire

<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>
---------------------------	-----------

### **PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>I. La vie tellurique .....</b>	<b>03</b>
<b>II. les actinomycètes.....</b>	<b>06</b>
<b>1. Généralités.....</b>	<b>06</b>
<b>2. Historique .....</b>	<b>06</b>
<b>3. Morphologie.....</b>	<b>07</b>
<b>4. Ecologie et distribution dans la nature.....</b>	<b>08</b>
<b>5. Cycle de développement.....</b>	<b>10</b>
<b>6. Classification des actinomycètes.....</b>	<b>11</b>
<b>7. Le matériel génétique des actinomycètes .....</b>	<b>13</b>
<b>8. Physiologie et métabolisme des actinomycètes.....</b>	<b>14</b>
<b>9. Rôle des actinomycètes telluriques.....</b>	<b>15</b>

### **PARTIE II : MATERIEL ET METHODES**

<b>I. Revivification des souches d'actinomycètes .....</b>	<b>18</b>
<b>II. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches actinomycétales.....</b>	<b>18</b>
<b>1. Activité antibactérienne.....</b>	<b>18</b>
<b>2. Activité antifongique.....</b>	<b>20</b>

### **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>I. Revivification des souches d'actinomycètes .....</b>	<b>22</b>
<b>II. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches actinomycétales.....</b>	<b>22</b>
<b>1. Activité antibactérienne.....</b>	<b>22</b>
<b>2. Activité antifongique .....</b>	<b>25</b>

---

## Table des matières

<b>Introduction.....</b>	<b>01</b>
--------------------------	-----------

### **PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>I. La vie tellurique.....</b>	<b>03</b>
----------------------------------	-----------

<b>1. La diversité microbienne de sol .....</b>	<b>03</b>
---	-----------

<b>1.1. Les algues .....</b>	<b>03</b>
------------------------------	-----------

<b>1.2. Les protozoaires.....</b>	<b>03</b>
-----------------------------------	-----------

<b>1.3. Les champignons .....</b>	<b>04</b>
-----------------------------------	-----------

<b>1.4. Les actinomycètes .....</b>	<b>04</b>
-------------------------------------	-----------

<b>1.5. Les bactéries .....</b>	<b>04</b>
---------------------------------	-----------

<b>II. Les actinomycètes .....</b>	<b>06</b>
------------------------------------	-----------

<b>1. Généralités.....</b>	<b>06</b>
----------------------------	-----------

<b>2. Historique .....</b>	<b>06</b>
----------------------------	-----------

<b>3. Morphologie .....</b>	<b>07</b>
-----------------------------	-----------

<b>4. Ecologie et distribution dans la nature .....</b>	<b>08</b>
---	-----------

<b>4.1. Les actinomycètes dans le sol .....</b>	<b>08</b>
---	-----------

<b>4.2. Les actinomycètes dans le milieu marin .....</b>	<b>09</b>
--	-----------

<b>4.3. Les actinomycètes dans l'air .....</b>	<b>09</b>
--	-----------

<b>4.4. Les actinomycètes, la faune, la flore et l'homme.....</b>	<b>09</b>
---	-----------

<b>5. Cycle de développement .....</b>	<b>10</b>
--	-----------

---

<b>6. Classification des actinomycètes .....</b>	<b>11</b>
<b>6.1. Mycobacteriacées .....</b>	<b>11</b>
<b>6.2. Actinomycétacées (ou Pro-Actinomycètes) .....</b>	<b>11</b>
<b>6.3. Streptomycétacées .....</b>	<b>11</b>
<b>6.4. Actinoplanacées .....</b>	<b>12</b>
<b>7. Le matériel génétique des actinomycètes .....</b>	<b>13</b>
<b>8. Physiologie et métabolisme des actinomycètes .....</b>	<b>14</b>
<b>8.1. Physiologie .....</b>	<b>14</b>
<b>8.1.1. Le taux d'humidité .....</b>	<b>14</b>
<b>8.1.2. La température.....</b>	<b>14</b>
<b>8.1.3. Le pH .....</b>	<b>14</b>
<b>8.1.4. Le rapports avec l'oxygène .....</b>	<b>14</b>
<b>8.1.5. Matières organiques .....</b>	<b>15</b>
<b>8.2. Métabolisme des actinomycètes .....</b>	<b>15</b>
<b>9. Rôle des actinomycètes telluriques .....</b>	<b>15</b>
<b>9.1. La production des antibiotiques .....</b>	<b>15</b>
<b>9.2. La production des enzymes .....</b>	<b>16</b>
<b>9.3. Aptitude à dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries .....</b>	<b>17</b>

## **PARTIE II : MATERIEL ET METHODES**

<b>I. Revivification des souches d'actinomycètes .....</b>	<b>18</b>
--	-----------

<b>II. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches actinomycétales.....</b>	<b>18</b>
--	-----------

---

<b>1. Activité antibactérienne .....</b>	<b>18</b>
<b>1.1. Caractéristiques des souches tests .....</b>	<b>18</b>
<b>1.2. Préparation des inocula de bactéries-tests .....</b>	<b>19</b>
<b>1.3. Technique des cylindres d'agar .....</b>	<b>19</b>
<b>1.4. Lecture .....</b>	<b>20</b>
<b>2. Activité antifongique .....</b>	<b>20</b>
<b>2.1. Préparation des inocula fongiques calibrés .....</b>	<b>20</b>
<b>2.2. Technique des cylindres d'agar .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3. Lecture .....</b>	<b>21</b>

### **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>I. Revivification des souches d'actinomycètes .....</b>	<b>22</b>
<b>II. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches actinomycétales .....</b>	<b>22</b>
<b>1. Activité antibactérienne .....</b>	<b>22</b>
<b>2. Activité antifongique.....</b>	<b>25</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>27</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>28</b>
<b>Annexe</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>Résumé Arabe</b>	
<b>Résumé</b>	



# **Introduction**

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

De nombreux antibiotiques ont été isolés à partir d'une variété de microorganismes et ont été employés dans beaucoup de domaines : Dans les différentes industries par exemple les agroalimentaires, dans les sciences vétérinaires, dans l'agriculture, dans la pharmaceutique et plus spécialement dans la santé humaine (**Oskay et al., 2004**).

A l'heure actuelle, à cause des problèmes de la résistance des pathogènes aux différents antibiotiques, l'apparition de germes opportunistes, l'émergence de nouvelles maladies microbiennes et les infections nosocomiales, la recherche de nouvelles molécules est devenue une priorité pour la santé humaine. Pour atteindre ces objectifs, de nombreuses recherches se sont orientées vers le criblage de nouvelles souches bactériennes productrices d'antibiotiques, capables de fournir des biomolécules innovantes pour endiguer ces problèmes.

Les actinomycètes représentent une source importante de substances antimicrobiennes. Ces molécules dites antibiotiques agissent contre les bactéries pathogènes. En effet, les actinobactéries sont un taxon très réputé pour la production de ces substances bioactives. Environ 70% de ces molécules proviennent des actinomycètes (**Okami et Hotta, 1988**). En plus, les possibilités génétiques font augmenter le nombre et la diversité des antibiotiques entre 10 et 20 métabolites pour chaque souche (**Islam et al., 2009**).

Les sols d'Algérie bien que soumis à un climat aride à subhumide, montrent une biodiversité surprenante d'actinomycètes (**Kitouni et al., 2005 ; Boudemagh et al., 2005**). La recherche de ces bactéries dans les divers écosystèmes telluriques est en augmentation constante. Les chercheurs tentent de diversifier les échantillons de sols qui proviennent des niches écologiques les plus extrêmes et les moins explorés, dans l'espoir de trouver de nouvelles molécules anti cellulaires.

Dans cette étude, nous avons voulu tester l'activité antibactérienne et antifongique d'une collection d'actinomycètes qui proviennent de plusieurs échantillons de sols arides du sud Algérien. Pour cela, nous avons utilisé des bactéries et des champignons tests sensibles (ATCC), cliniques (qui proviennent des hôpitaux Algériens), résistantes et phytopathogènes.

Notre mémoire comporte deux parties :

La première partie est une recherche bibliographique qui fait état des connaissances de la vie tellurique ainsi que la diversité microbienne du sol et en particulier des informations qui concernent les actinomycètes.

La deuxième partie de ce mémoire expose le matériel et l'ensemble des méthodes mises en œuvre pour étudier la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes contre des bactéries et champignons tests.



**Revue**

**Bibliographique**

## **I. La vie tellurique**

Le sol ne constitue pas un environnement homogène, mais une mosaïque d'habitats avec pour chacun des populations microbiennes propres, le nombre et le type d'organismes varient d'un système et d'un milieu à l'autre. Le nombre, la composition et la diversité des espèces dans un sol donné dépendent de nombreux facteurs, notamment l'aération, la température, l'acidité, l'humidité, la teneur en éléments nutritifs et en substrat organique. La rhizosphère représente un compartiment d'intérêt majeur (**Andriambolona, 2010**).

### **1. La diversité microbienne de sol**

Il existe une grande diversité des communautés microbiennes dans le sol tant du point de vue de la diversité taxonomique que du point de vue des fonctions. En effet, il est estimé, par exemple, qu'un gramme de sol contient environ  $10^{10}$  à  $10^{11}$  bactéries (**Horner-Devine et al., 2003**). Les agents de la microflore du sol se divisent en quatre groupes : les algues, les champignons, les bactéries filamenteuses ou actinomycètes et les bactéries (**Tab01**). Certains auteurs incluent également dans la microflore du sol les protozoaires et les virus. (**Claude et al., 2008**).

#### **1.1. Les algues**

Les algues sont confinées à la surface du sol (**Wild, 1993**) ou aux quelques centimètres supérieurs, car elles ont besoin de soleil pour leur photosynthèse, leur activité est limitée pendant la période où le sol est humide. Malgré leur faible nombre (cent mille par gramme de sol), elles ont un rôle important comme source de matière organique et comme fixatrice d'azote en symbiose avec des algues bleues (**Sobti, 2013**).

#### **1.2. Les protozoaires**

Les protozoaires sont les moins nombreux, leur densité est de l'ordre de  $10^3$  par gramme de sol (**Andriambolona, 2010**). Les genres de protozoaires du sol sont les mêmes que ceux des environnements aquatiques. Très peu sont exclusivement trouvés dans le sol. Les espèces les plus communes sont: *Heteromitaglobosa*, *Colpodacucullus* et *Hartmanellahyalina*. Ce sont des consommateurs de bactéries, de levures et de champignons, ils sont impliqués aussi dans la décomposition de la matière organique (**Maier et al., 2000**).

### 1.3. Les champignons

Les champignons sont hétérotrophes, certains d'entre eux sont saprophytes (**Wild, 1993**). La densité des champignons est estimée à  $10^6$  par gramme de sol. Parmi les genres les plus fréquents dans la rhizosphère, on citera *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Phoma*. Certaines espèces sont antagonistes de champignons pathogènes, d'autres s'associent aux racines des plantes cultivées comme les mycorhizes (**Dommergue et al., 1970**).

### 1.4. Les actinomycètes

Les actinomycètes sont un peu intermédiaires entre les champignons et les bactéries. Les champignons ont l'aspect filamenteux et la capacité de sécréter des antibiotiques ; Les bactéries ont la possibilité d'effectuer de très nombreuses réactions biochimiques (**Sobti, 2013**). Ils peuvent atteindre jusqu'à  $10^7$  unités par gramme de sol et ils manifestent souvent un antagonisme vis-à-vis des bactéries et des champignons voisins; cet antagonisme résulte de la sécrétion de substances antibiotiques. Certaines espèces d'actinomycètes fixent l'azote de l'air comme le genre *Frankia* (**Andriambolona, 2010**).

### 1.5. Les bactéries

C'est le groupe le plus nombreux et le plus varié, puisque leur densité peut s'élever de dix millions à un milliard par gramme de sol. Du fait de leur petite taille, leur poids reste inférieur à une tonne par hectare de sol. Ce qui donne aux bactéries une place importante dans le sol, c'est leur extraordinaire variabilité biochimique qui leur permet de transformer toutes les substances du sol et de les faire entrer dans le monde vivant (**Claude et al., 2008**).

**Tableau 01** : Principaux taxons de microorganismes du sol (**Roger et al., 2001**).

<b>Grandes groupes</b>	<b>Taxons considérés comme importants dans le sol</b>	<b>Commentaires</b>
<b>virus</b>		
<b>Procaryotes photosynthétiques</b>	<i>Cyanobactéries</i>	Ex : cyanophycées (algues)
<b>Bactéries</b>	<i>Pseudomonales</i> chimio-autotrophes <i>Pseudomonales</i> chimio-hétérotrophes <i>Eubactériales</i> Protistes inférieures	
<b>Actinomycètes</b>	<i>Mycobactériacées</i> <i>Actinomycétacées</i> (ou <i>proactinomycètes</i> ) <i>Streptomycétacées</i> <i>Actinoplanacées</i>	Les Actinomycètes sont des bactéries Gram + à structure végétative de type mycélien
<b>Champignons</b>	Moisissures à plasmodium Champignons à flagelle <i>Zugomycètes</i> Champignons supérieurs Champignons imparfaits	
<b>Algues</b>	Algues vertes <i>Eugléneins</i> Algues jaunes, diatomées	Aussi chez les protozoaires
<b>Protozoaires</b>	Amibes Testcés Flagellés Ciliés	

## II. Les actinomycètes

### 1. Généralités

Les actinomycètes appartiennent à la classe des Actinobacteria, bactéries à Gram positif de haut coefficient de Chargaff (GC%) : généralement compris entre 60 et 75 %. Le phylum des Actinobacteria est grand et complexe (Zhi, 2009). Il regroupe 5 ordres, 13 sous-ordres, 48 familles, et plus de 200 genres bactériens (Belyagoubi, 2014). La plupart d'entre eux sont toujours immobiles, leur croissance est lente avec un temps de génération de 2 à 3 heures, ils croissent en l'espace de quelques jours à quelques semaines (Boudemagh, 2007). Le terme actinomycète a été historiquement introduit pour définir des bactéries filamenteuses et ramifiées (Holt *et al.*, 1994), qui dans la classification actuelle des Actinobacteria appartiennent à l'ordre des actinomycétales. Les actinomycètes forment des colonies circulaires constituées d'hyphes, c'est-à-dire de filaments qui irradient par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance (Gottlieb, 1973). Cela explique leur dénomination qui provient de deux substantifs grecs «aktino» et «mycetes» et signifie « champignons à rayons » ou « champignons rayonnant » (Belyagoubi, 2014).

Les actinomycètes ont longtemps été considérés comme des champignons primitifs ou comme étant des microorganismes intermédiaires entre le règne des champignons et celui des bactéries, du fait de leur mycélium, souvent à la fois aérien et pénétrant dans le substrat nutritif, du fait également de la fructification par libérant des spores chez nombre d'entre eux. Toutefois, leurs propriétés chimiques, physiologiques, immunologiques les rangent sans ambiguïté parmi les procaryotes (Becker *et al.*, 1965). Ainsi, leur paroi cellulaire ne renferme ni chitine ni cellulose mais du peptidoglycane, et leur cytologie est celle des bactéries. Ces caractères s'ajoutent à d'autres comme la sensibilité à des actinophages et à des antibactériens, qui confirment le bien-fondé de la classification des actinomycètes parmi les bactéries (Larpen, 1989 ; Mariat et Sebald, 1990).

### 2. Historique

Waksman divise en quatre grandes catégories l'histoire des actinomycètes. La première, est celle de la découverte de leur rôle dans la pathologie et va de 1874 aux années 1890. La seconde période (1900-1919) (Mariat et Sebald, 1990) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de Kraisky, de Cohn, de Waksman et de Curtis. C'est ensuite la période (1919-1940) au cours de laquelle une meilleure connaissance des germes a été acquise grâce aux recherches de Waksman, de Lieske, de Krassilnikov entre autre. La dernière époque historique, enfin, est celle de la

découverte des antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle commence en 1940 et le nom de Selman Waksman lui est indissolublement lié avec la découverte (**Le minor, 1989**).

### 3. Morphologie

La morphologie des actinomycètes ressemble fortement à celle des mycètes. Toutefois, le diamètre des hyphes, habituellement de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$ , est deux à dix fois plus petit que celui des champignons (de 2 à 5  $\mu\text{m}$ ) (**Belyagoubi, 2014**). Elle va de simples bacilles diphtéroïdes à des formes mycéliennes complexes. Certains peuvent présenter un mycélium se développant sur et dans les milieux (mycélium végétatif ou mycélium de substrat) ou dans l'air au-dessus du substrat (mycélium aérien). Les filaments peuvent produire des spores soit isolées, soit groupées en chaînes ou même enfermées dans un sporange ou conidies qui libèrent des spores de formes variées, d'aspects lisses, ridée, etc., soit isolées soit groupées en chaînes, etc. Certains actinomycètes forment un mycélium non persistant rapidement transformé en une masse de formes bactéroïdes irrégulières. D'autres enfin, ne présentent que des mycéliums très rudimentaires (**Boudemagh, 2007**). L'analyse par image des actinomycètes révèle la présence de deux catégories d'hyphes : Les hyphes dispersés et les hyphes en pellets. Dans les hyphes dispersés, la forme "Freelydispersed" et les "mycelialclumps" sont rencontrées. La première forme c'est des hyphes indépendants dispersés, la seconde est une masse ou agrégats de mycélium. Les actinomycètes donnant des hyphes en pellets, posent en fermentation des problèmes de limitation de diffusion de l'oxygène et des nutriments à travers l'hyphe. Ceci engendre une diminution de la croissance et peut conduire à une autolyse. Ce point doit être pris en considération, pour éviter ce genre de problème lors des fermentations industrielles. Heureusement, pour plusieurs souches productrices de métabolites secondaire, la forme "Clups" ou masse est la prédominante dans les fermenteurs (90% des cas). Les colonies qu'ils forment sur milieux solides sont caractéristiques, elles résultent de l'accumulation des hyphes ramifiés et non pas des cellules comme c'est le cas chez les bactéries non filamenteuses. Le diamètre des colonies est de 1 à 4 millimètres. L'aspect des colonies est compact, sec, lisse ou rugueux en chou-fleur à contours lisse ou échancré. Elles sont très souvent pigmentées en blanc, crème, jaune, violet, rose, gris, etc. (**Boudemagh, 2007**).

#### 4. Ecologie et distribution dans la nature

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires que l'on rencontre sur tous les substrats naturels courants (**Tab 02**)(**Waksman, 1959**), et en particulier le sol (**Williams et al., 1984**). Ils ont été trouvés dans les eaux douces ou salées, dans les compostes, dans l'atmosphère et dans les substrats les plus divers (**Boudemagh, 2007**).

**Tableau 02** : Habitats de certains actinomycètes (**Grigorova et Norris, 1990**).

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

##### 4.1. Les actinomycètes dans le sol

Dans le sol, de nombreux actinomycètes sont saprophytes et participent à la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus, tout comme les champignons. Les actinomycètes du sol sont surtout présents en surface, entre 0 et 2 m de profondeur. Le nombre de ces microorganismes atteint d'après (**Goodfellow et Williams, 1983**) généralement les 106 germes par gramme de sol séché. D'après (**Waksman, 1967**), le rapport Microorganisme totaux / Actinomycètes, diminue au fur et à mesure que la profondeur augmente (**Belyagoubi, 2014**). Ils produisent des substances spécifiques telles que la géosmine et le 2-méthyl isobornéol qui sont responsables de l'odeur d'humus caractéristique des sols (**Boucheffa, 2011**). Leurs proportions par rapport aux autres microorganismes oscillent entre 10 et 50 %. Les genres *Streptomyces*, *Nocardia* et *Micromonospora* sont les plus fréquents (**Tab 03**). Les actinomycètes sont généralement

plus nombreux que les champignons, mais moins abondants que les autres bactéries (Belyagoubi, 2014).

**Tableau 03:** Fréquence des divers genres d'Actinomycètes dans le sol (Andriambolona, 2010).

Genres	Pourcentage (%)
<i>Streptomyces</i>	95,34
<i>Nocardia</i>	1,98
<i>Micromonospora</i>	1,40
<i>Thermomonospora</i>	0,22
<i>Actinoplanes</i>	0,20
<i>Microbispora</i>	0,18
<i>Mycobacterium</i>	0,14
<i>Streptosporagium</i>	0,10
<i>Actinomadura</i>	0,10
<i>Microspolyspora</i>	0,10
<i>Pseudonocardia</i>	0,06
<i>Microellobosporia</i>	0,04

#### 4.2. Les actinomycètes dans le milieu marin

Certaines souches d'actinomycètes ont été retrouvées dans des environnements marins (Singh *et al.*, 2006), dans des sédiments situés à plus de 4000 mètres de profondeur (Khatabi *et al.*, 2002). C'est essentiellement dans les sédiments des fonds fluviaux ou lacustres que ceux-ci sont présents où ils jouent un rôle important dans la décomposition des débris végétaux et donnent à l'eau son odeur de terre et sa flaveur (Andriambolona, 2010).

#### 4.3. Les actinomycètes dans l'air

La présence des actinomycètes dans l'air, sous forme de propagules, est proportionnelle aux poussières dispersées par le vent (Andriambolona, 2010).

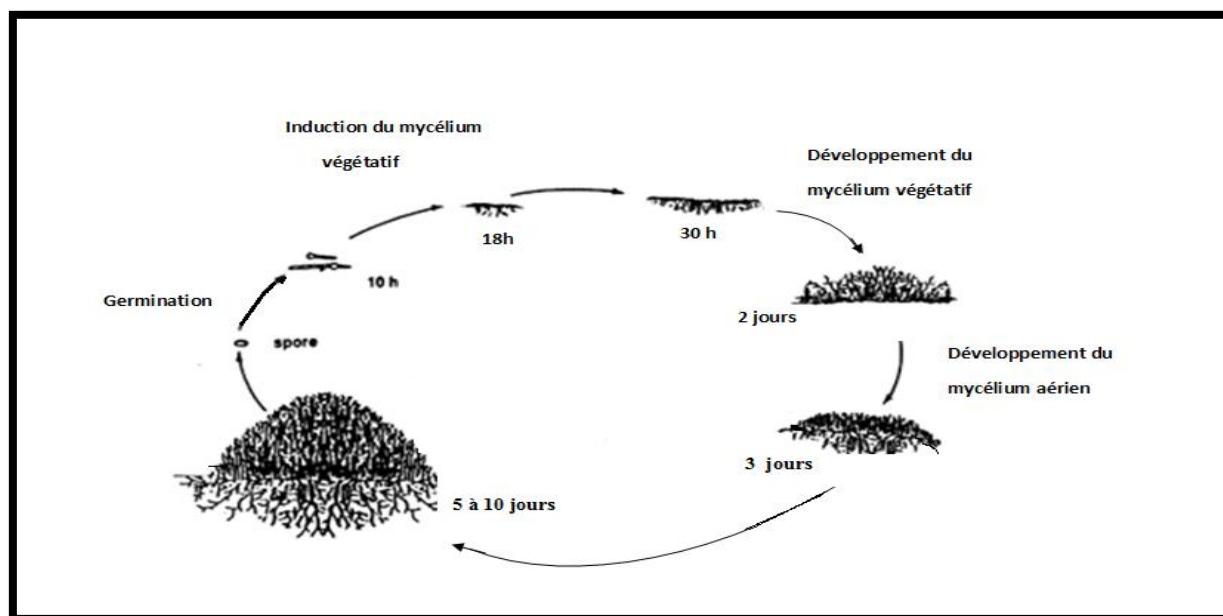
#### 4.4. Les actinomycètes, la faune, la flore et l'homme

Contrairement aux bactéries et aux champignons, seules quelques espèces d'actinomycètes sont pathogènes (Badji, 2006). Certaines espèces d'actinomycètes sont

pathogènes pour les végétaux, les animaux et l'homme (**Andriambolona, 2010**). En pathologie humaine, plusieurs genres sont responsables d'infections ou d'actinomycoses. Certaines espèces du genre *Actinomyces* semblent avoir un rôle dans le développement des caries dentaires (**Sarkonen et al., 2000**). Le genre *Nocardia* comprend aussi, plusieurs espèces responsables de pathologies chez les animaux et chez l'homme à l'exemple de *Nocardia asteroides*, responsable de la nocardiose humaine (**Zhang et al., 2003**). D'autres espèces tels que *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium leprae* sont agents de la tuberculose et de la lèpre (**Boucheffa, 2011**).

## 5. Cycle de développement

Les actinomycètes ont un cycle de développement complexe (**Figure 01**), il débute par la germination d'une spore, qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes qui se ramifie. Le développement du mycélium du substrat vers la partie superficielle donne le mycélium "secondaire" ou aérien, les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores, qui sont des agents de dissémination (**Kim et al., 2004 ; Smaoui, 2010**).



**Figure 01:** Cycle de développement d'un actinomycète (*Streptomyces*) sur milieu solide (**Hodgson, 1992**)

## 6. Classification des actinomycètes

Les actinomycètes peuvent se subdiviser en 4 grandes familles (**Tab04**):

### 6.1. Mycobacteriacées

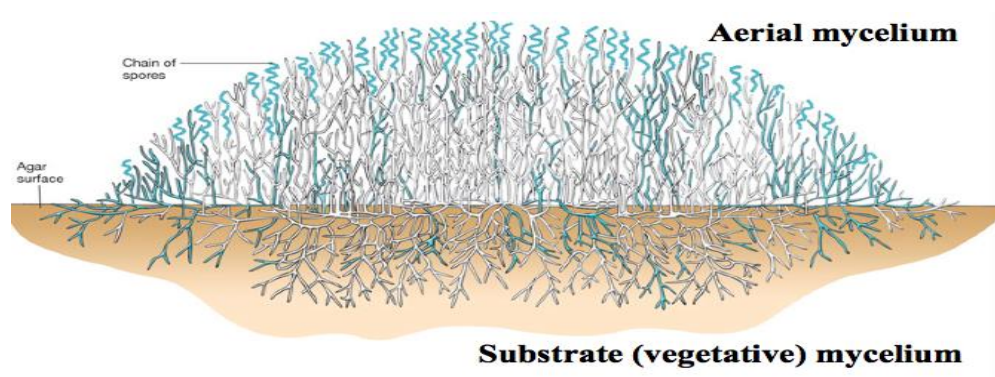
Elles renferment les actinomycètes dont la morphologie est voisine de celle des bactéries. Les mycobacteriacées diffèrent de toutes les bactéries et autres actinomycètes par leur acido-résistance grâce à la présence de substance cireuse présente dans leurs cellules. Cette famille est représentée par le seul genre *Mycobacterium* qui renferme plusieurs espèces pathogènes, dont la plus connue est *Mycobacterium tuberculosis*, agent de la tuberculose (**Krasilnikov, 1958**).

### 6.2. Actinomycétacées (ou Pro-Actinomycètes)

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

### 6.3. Streptomycétacées

Il existe deux genres dans cette famille : *Streptomyces* et *Micromonospora*. Le genre *Streptomyces* renferme plusieurs espèces très répandues dans le sol. Il se reproduit par des conidies en chaîne. L'examen des colonies de *Streptomyces* permet de discerner : Le mycélium végétatif très serré, implanté dans le milieu au quel il adhère (leurs colonies sont difficiles à prélever au fil de platine et le mycélium aérien, lâche, d'aspect poudreux, formé d'hyphes portant à leurs extrémités des conidies (**Williams, 1978**) (**Figure 02**).



**Figure 2 :** Une colonie du genre *Streptomyces* sur milieu solide (Dvorak, 1999)

Le genre *Mycromonospora* renferme plusieurs espèces dont la plupart sont thermophiles, et se développent surtout dans les fumiers (Andriambolona, 2010).

#### 6.4. Actinoplanacées

Cette famille est représentée par le genre *Actinoplanes* qui est aquatique (Andriambolona, 2010).

**Tableau 04:** Les principaux genres d'Actinomycètes (Andriambolona, 2010).

Famille	Développement mycélien	Mode de reproduction	Acido-résistance	Autres caractères	Genre
<i>Mycobacteriacées</i>	Transitoire limité	Scission binaire	+		<i>Mycobacterium</i>
<i>Actinomycétacées</i>	Extensif	Fragmentation massive des hyphes	-	Aérobic	<i>Nocardia</i>
	Extensif	Fragmentation massive des hyphes	-	Anaérobic	<i>Actinomyces</i>
<i>Streptomycétacées</i>	Extensif	Conidies	-	Conidies en chainettes	<i>Streptomyces</i>
	Extensif	Conidies	-	Conidies isolées ou en groupe	<i>Micromonospora</i>

<i>Actinoplanacées</i>	Extensif	Sporangisporos mobiles	-	Formation de sporangies	<i>Actinoplanes</i>
------------------------	----------	---------------------------	---	-------------------------------	---------------------

### 7. Le matériel génétique des actinomycètes

Le matériel génétique des actinomycètes est constitué par l'ADN chromosomique ainsi que chez certaines souches par l'ADN phagique (**Theilleux., 1993**). La taille de l'ADN des actinomycètes est de 3.7 Méga Daltons c'est à dire deux fois celui de *E. coli*, la durée de réplication de l'ADN est de 50 à 65 minutes (**Larpent et al., 1989**). Un caractère majeur est la proportion élevée environ 70% de guanine (G+C) dans l'ADN de la plupart des actinomycètes (**Theilleux, 1993**). Les genres d'actinomycètes peuvent être définies par l'étude du coefficient de Chargaff ou GC % (**Tab05**), qui représente le nombre de paires de base Guanine Cytosine pour 100 paires de base dans l'ADN (**Williams et al., 1989**).

**Tableau 05 :** Différentes valeurs de GC % rencontrées dans le groupe des actinomycètes (**Boudemagh, 2007**).

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

## **8. Physiologie et métabolisme des actinomycètes**

### **8.1. Physiologie**

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

#### **8.1.1. Le taux d'humidité**

La plupart des actinomycètes sont aérobies et préfèrent des taux d'humidité peu élevés de l'ordre de 10 à 30% (**Mayfield et al., 1972**). En générale, les actinomycètes ont été isolés dans des sols contenant des taux faibles jusqu'à modérés d'humidité, ce qui suggère qu'il ne sont pas beaucoup influencés par les conditions semi-arides (**Oskay et al., 2004**).

#### **8.1.2. La température**

Ils sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérants des températures avoisinant 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C (**Goodfellow et Williams, 1983**). Le genre *Streptomyces* comporte aussi des espèces thermophiles comme *Streptomyces Thermocophilus* (**Kim et al., 2000**), et même psychrophiles (**Holt et al., 1994**).

#### **8.1.3. Le pH**

La plupart des actinomycètes de sol sont neutrophiles et croissent dans un intervalle de pH compris entre 5 et 9 avec une croissance optimale à pH neutre ou légèrement alcalin (**Djaballah, 2010**). Des travaux ont montré l'existence d'une large diversité d'actinomycètes acidophiles qui diffèrent morphologiquement et physiologiquement des espèces neutrophiles (**Basilio., 2003**). Les souches acidophiles croissent à des valeurs de pH compris entre 3,5 et 6,5 avec un pH optimale de croissance compris entre 4,5 et 5,5 tel que *streptacidiphilus jiangxiensis* (**Huang et al., 2004**) et *streptacidiphilus oryzae* (**Wang et al., 2006**).

#### **8.1.4. Le rapports avec l'oxygène**

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

### 8.1.5. La Matière organique

L'introduction d'engrais entraîne une augmentation du nombre d'actinomycète ; on remarque l'élévation du nombre d'Actinomycètes à l'automne lorsque se fait l'addition de résidus végétaux frais (**Andriambolona, 2010**).

## 8.2. Métabolisme des actinomycètes

Les Actinomycètes se séparent en deux groupes physiologiques. Le plus important est composé de germes ayant un métabolisme oxydatif et habitant surtout le sol. Le second rassemble des bactéries fermentatives, hôtes des cavités naturelles de l'homme et des animaux (**Le minor, 1989**). Les formes oxydatives, aérobies, sont localisées principalement dans le sol à partir duquel sont disséminées. L'archétype de cette catégorie est le genre *Streptomyces* (**Reponen et al., 1998**). Les formes fermentatives, anaérobies strictes ou facultatives, sont illustrées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs et ils ne sont jamais retrouvés dans le sol (**Mariat et Sebald, 1990**). En général, les actinomycètes sont des bactéries chimoorganotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les biopolymères complexes (chitine, cellulose, lignine). Mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimioautotrophe utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**).

## 9. Rôle des actinomycètes telluriques

### 9.1. La production des antibiotiques

Les actinomycètes sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que producteurs d'antibiotiques (**Berdy, 2005**). Les espèces appartenant au genre *Streptomyces* constituent 50% de la population totale des actinomycètes telluriques, et 75-80% des antibiotiques dérivent de ce genre (**Mellouli et al., 2003**). Les antibiotiques produits par *Streptomyces* montrent une grande diversité au niveau de leur structure et de leurs cibles cellulaires (**Thomson et al., 2004**). De plus, *Streptomyces* est la source la plus importante de métabolites secondaires présentant une activité biologique d'intérêt pour la santé humaine et animale : antibactérienne (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol), antifongique (nystatine), antivirale (tunicamycine), antiparasitaire (ivermectine), immunosuppressive (rapamycine), antitumorale (actinomycine, mitomycineC, anthracyclines), inhibiteur

d'enzyme (acide clavulanique) (Demain, 2000)(tab 06). En particulier, ce genre est remarquable pour le nombre et la diversité chimique des antibiotiques qu'il produit (Watve *et al.*, 2001). Les antibiotiques des actinomycètes sont utilisés aussi dans le traitement de certaines maladies des plantes. La blasticidine, par exemple, est active sur *Piriculariaoryzae*, un pathogène du riz (Tomita *et al.*, 1990). Parmi les molécules élaborées par les actinomycètes, seulement 20% représentent des antifongiques (Sanglier *et al.*, 1993).

**Tableau 06:** Exemples d'antibiotiques produits par des actinomycètes (Boucheffa, 2011).

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

## 9.2. La production des enzymes

Les enzymes sont, après les antibiotiques, les plus importants produits des actinomycètes. Ils sont notamment producteurs d'une des plus importantes enzymes industrielles, la glucose isomérase, utilisée pour la fabrication d'isoglucose (mélange glucose-fructose) (Bhosale *et al.*, 1996). De plus, les actinomycètes ont la capacité de dégrader une grande variété de polymères comme les lignocelluloses (Adhi *et al.*, 1989) ou encore la chitine (Gomez *et al.*, 2000) et ils possèdent ainsi toute une variété d'enzymes intervenant dans ces dégradations : des chitinases, des endo-glucanases, des peroxydases, des cellulases (Grigorevski de Lima *et al.*, 2005) ou encore des xylanases et des estérases (Zimmermann *et al.*, 1988). Les actinomycètes produisent aussi de multiples protéases (Patke and Dey, 1989) qui peuvent ensuite trouver des applications dans l'industrie

alimentaire ou l'industrie des détergents (**Moreira et al., 2002**). En outre, les enzymes issues d'actinomycètes sont aussi utilisées dans les procédés de bioconversion. Enfin, de part leur capacité à dégrader de nombreux xénobiotiques comme les nitriles (**Martinkova and Milerova, 2003**), les dioxines (**Iida et al., 2009**) ou encore les composés halogénés (**Janssen et al., 2005**), les actinomycètes suscitent l'intérêt pour leur usage dans la décontamination des sols pollués (**Martinkova et al., 2008**).

### **9.3. Dégradation des substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries**

Les actinomycètes représentent un pourcentage élevé de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété d'hydrolases extracellulaires, qui leur confèrent un rôle dans la décomposition de la matière organique dans le sol (**Boucheffa, 2011**) comme la cellulose et la chitine, donc ils ont une fonction écologique importante au sein des écosystèmes. En plus de leurs fonction de décomposition très actives, les actinomycètes apparaissent avoir de l'importance parmi la microflore de la rhizosphère (**Valois, 1996**). La dégradation de la matière organique fraîche s'effectue progressivement : les premiers stades correspondent à l'action des bactéries et des champignons ; les derniers correspondent à l'action des actinomycètes. Ces microorganismes ne peuvent se développer dans les premiers stades en raison de leur inaptitude à la compétition ; par contre, ils se développent relativement bien sur une matière organique partiellement dégradée et inapte à porter une microflore fongique et bactérienne (**Krasilnikov, 1958**).



**Matériel**  
**et**  
**Méthodes**

## **I. Revivification des souches d'actinomycètes**

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

## **II. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches actinomycétales**

Le travail porte sur la mise en évidence de la production des substances antimicrobiennes par la collection d'actinomycètes isolées à partir des sols arides. Cette activité a été testée par la méthode des cylindres d'agar (**Bastide et al., 1986**).

### **II.1. Activité antibactérienne**

Ce test vise à tester la sensibilité de plusieurs souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif vis-à-vis des actinomycètes. Les germes producteurs et les germes tests sont mis en Co-cultures sur le même milieu gélosé.

#### **II .1 .1. Caractéristiques des souches tests**

Dans notre étude, nous avons utilisé 8 souches bactériennes pathogènes qui proviennent des hôpitaux. Parmi ces souches, certaines sont sensibles et présentent un profil antibiogramme normale il s'agit de *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Morganilla sp*, *Enterobacter sp*, *Citrobacter sp*, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603, *Escherichia coli* ATCC 25922. Une bactérie multi résistante a été également testée. C'est la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 43300. Elle est résistante à la méthicilline et à l'oxacilline (**Tab. 07**).

**Tableau 07** : Caractéristiques des souches tests.

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

### II.1.2.Préparation des inocula de bactéries tests

La taille de l'inoculum des bactéries tests doit être identique et permet d'avoir un tapis bactérien conforme qui permet l'évaluation de l'activité antibactérienne par l'apparition des halos claires. Pour chaque bactérie-test, une préparation de l'inoculum qui servira de culture bactérienne calibrée a été réalisée. A partir de ces bactéries, une ou deux colonies de bactéries sont prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile. Cette quantité est diluée dans 10millilitres d'eau distillée stérile. La quantité calibrée des germes tests est de  $10^6$  UFC /ml (**Cavalla et Eberllin, 1994**). Afin d'atteindre cette concentration de bactérie, les inocula sont comparés de visu à la solution 0,5 de Mc Ferland en ajoutant une partie des colonies jusqu'à obtention de la turbidité correspondante.

### II.1.3.Technique des cylindres d'agar

Dans cette méthode, les souches d'actinomycètes sont ensemencées en stries serrées à la surface du milieu Amidon-caséine(**Annexe**), coulés en boîtes de Pétri. Après incubation à 28°C pendant 7 jours, des cylindres de gélose de 6 mm de diamètre de chaque actinomycètes,

sont prélevés à l'aide d'un emporte pièce. Ils sont ensuite déposés à la surface du milieu Muller-Hinton (**Annexe**) préalablement ensemencé par les germes tests. L'étalement de ces bactéries tests sur la totalité de la boîte, est réalisé par les écouvillons. Les boîtes ainsi préparées sont placées à 4° C pendant deux heures pour permettre la diffusion des substances actives des actinomycètes. Les boîtes sont ensuite incubées à 37° C pendant 24 à 48 heures.

#### II.1.4.Lecture

Après incubation, la présence de zone d'inhibition est observée autour des disques d'actinomycètes produisant des antibactériens actifs contre la souche test. Le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètre, moyennant une règle graduée. L'absence de zones d'inhibition claire autour des disques d'agar, indique un résultat négatif qui montre que les bactéries sont résistantes aux substances produites par les actinomycètes. Plus cette zone est grande, plus l'activité antibactérienne est grande (**Petrosyan et al., 2003**). Les résultats sont exprimés suivant le tableau ci-après.

**Tableau 08 : Normes utilisées dans la méthode des disques (Leipzig, 1996)**

<b>Diamètre du halo d'inhibition (X)</b>	<b>Sensibilité du germe</b>	<b>Résultat</b>
<b>X &lt; 7mm</b>	Insensible	-
<b>7 mm &lt; X &lt; 8 mm</b>	Assez sensible	+
<b>8 mm &lt; X &lt; 9 mm</b>	Sensible	++
<b>X &gt; 9mm</b>	Très sensible	+++

## II .2. Activité antifongique

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

### II.2.1.Préparation des inocula fongiques calibrés

Les souches tests de champignons sont cultivées sur milieu Sabouraud à 28°C pendant deux semaines. Une suspension de spores est réalisée, en ajoutant de l'eau physiologique et en raclant la boîte à l'aide d'une anse de platine. La suspension mère obtenue est diluée jusqu'à

obtention d'une densité optique à 623 nm comprise entre 0.18-0.20, ce qui correspond à  $10^5$  spores/ml et constitue l'inoculum calibré. Ce nombre peut être obtenu par dilutions successives et dénombré à l'aide d'une cellule de Thoma (**Bastide *et al.*, 1986**). Les suspensions concentrées de spores sont utilisées directement ou peuvent être conservées par congélation à  $-20^{\circ}\text{C}$  en présence de 10% (v/v) de diméthylsulfoxyde (DMSO), après répartition d'une quantité de 1.2 ml dans des cryotubes de 2 ml de volume.

### **II.2.2. Technique des cylindres d'agar**

Dans cette méthode les souches d'actinomycètes sont ensemencées en stries serrées à la surface du milieu Amidon-caséine(**Annexe**).Après incubation à  $28^{\circ}\text{C}$  pendant 7 jours, on prélève à l'aide d'un emporte-pièce, pour chaque souche étudiée, des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre. Ces cylindres sont déposés à la surface d'un milieu de Sabouraud(**Annexe**) ensemencé en surface, par 1 ml des deux souches fongiques tests. Ces boîtes sont placées à  $4^{\circ}\text{C}$  pendant 2 h afin de permettre la diffusion des substances à activité antifongique. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après 72 h d'incubation à  $28^{\circ}\text{C}$ .

### **II.1.3.Lecture**

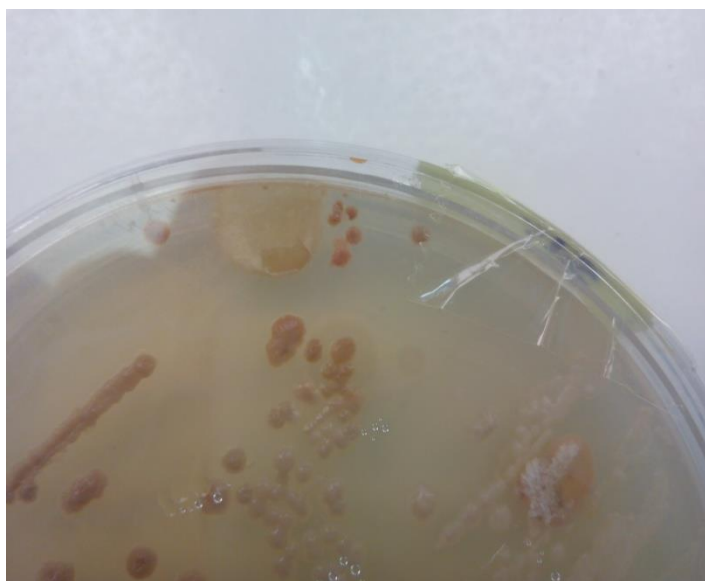
Après incubation, la présence des zones d'inhibition indique un résultat positif. Cette zone est observée autour des disques d'actinomycètes ce qui signifie que ces bactéries produisent des molécules antifongiques capables de stopper la croissance des champignons tests. Le diamètre d'inhibition est mesuré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

A decorative graphic of a scroll with a black outline and rounded corners. The scroll is unrolled, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered within the scroll.

**Résultats**  
**et**  
**Discussion**

## I. Revivification des souches d'actinomycètes

Les actinomycètes de la collection se présentent sur milieu Amidon-caséine sous leurs aspects caractéristiques. Ce sont des colonies d'aspect filamenteux, poudreuses de couleurs multiples qui adhèrent fortement à la gélose. La technique de conservation appliquée à ces bactéries dans des travaux précédents est très adéquate, car nous avons pu réactiver ces souches sans dommages et pertes. La photographie 01 montre l'aspect macroscopique d'un isolat d'actinomycète. Les colonies apparaissent de couleur marron, avec un aspect poudreux de couleur blanche.



**Photographie 01** : Aspect de la colonie de l'isolat Sel 5, sur milieu Amidon caséine.

## II. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches actinomycétales

### II.1. Activité antibactérienne

Les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des souches d'actinomycètes contre les bactéries tests, sont rapportés dans le tableau 09. La méthode de diffusion sur gélose, permet de démontrer si une souche est active ou non par l'observation des zones d'inhibition autour des disques. Après 24 heures d'incubation, les observations montrent que toutes les souches d'actinomycètes sont actives au moins sur un germe test (**Tab.09**).

**Tableau09** : Activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes contre les souches bactériennes tests.

Souches tests	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Morganella sp</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Citrobacter sp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Actinomycètes								
<b>S5</b>	++	++	++	++	++	++	+	++
<b>SP2</b>	++	+	++	++	++	++	++	-
<b>Sel 5</b>	++	+++	++	-	-	++	-	+
<b>Sel 4</b>	-	++	-	++	++	-	-	++
<b>S4</b>	++	++	++	-	-	++	++	-
<b>S15</b>	++	+	++	++	-	-	++	++
<b>S7</b>	-	-	+++	+++	-	-	+	-
<b>SS</b>	++	++	++	++	++	++	-	-

(-) : pas d'inhibition, (+) : Activité positive avec un diamètre des zones d'inhibitions inférieurs à 10 mm, (++) : Activité positive avec un diamètre des zones d'inhibitions compris entre 10 et 20, (+++) : Activité positive avec un diamètre des zones d'inhibitions supérieurs à 20.

Les substances bioactives secrétées par les actinomycètes se propagent sur la gélose de façon radiale inhibant la croissance des germes sensible. L'inhibition se présente sous forme de zone claire (ou zone d'inhibition) autour de la culture bactérienne. Le diamètre des zones d'inhibition est très important et indique le degré de la sensibilité du germe à l'égard de l'actinomycète producteur (**Photo 02**).

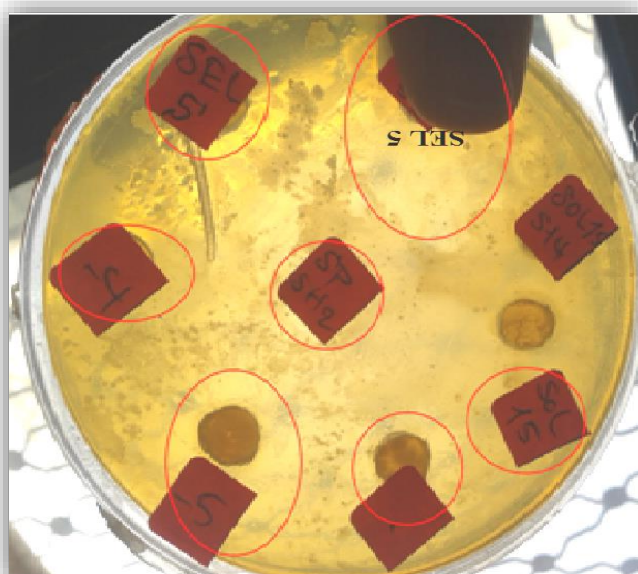
Vis-à-vis de *Bacillus cereus* environ **88 %** des isolats, présentent une activité antibactérienne. Le plus grand diamètre d'inhibition a été remarquée avec l'isolat **Sel 5** qui présente une zone de lyse importante (+++) qui correspond à 22 mm de diamètre. Ce résultat est très important, car les *Bacillus* sont des bactéries sporulées qui résistent beaucoup aux antibiotiques. Les isolats d'actinomycètes provenant de notre écosystème, montrent que beaucoup d'entre eux inhibent à différent degré *Bacillus cereus*. Concernant *Staphylococcus aureus*, **75 %** des actinomycètes présentent une activité positive. La souche de staphylocoque (SARM) prise comme test dans cette étude, est très spéciale et particulière. En effet, elle est

résistante à la méthycilline et pose des problèmes d'infections nosocomiales partout dans le monde. Nos résultats sont très encourageants, car ils montrent que les isolats d'actinomycètes testés peuvent être une source de germes producteurs de molécules à activité antibactérienne contre cette souche très résistante.

Pour les bactéries à Gram négatif, nos isolats présentent des activités antibactériennes positives différentes. La plus importante activité a été remarquée vis-à-vis de *Proteus mirabilis*. En effet, sur les 8 isolats testés 7 ont montré une activité positive sur cette bactérie. La plus forte était avec l'actinomycète **S 7**. Selon les mêmes résultats, les espèces bactériennes les plus résistantes sont *K.pneumoniae* et *Morganilla sp*.

La souche **S 5** possède un large spectre d'activité antibactérienne, elle est active contre toutes les souches bactériennes tests que ce soit à Gram positif ou à Gram négatif.

La majorité des bactéries cibles utilisées dans cette étude sont des bactéries cliniques pathogènes. Cette activité antibactérienne remarquée avec nos souches est d'une importance certaine. Elle ouvre une voie de recherche très prometteuse pour la recherche de molécules capables d'inhiber les germes pathogènes qui causent des dégâts incommensurables dans les hôpitaux. En effet, les bactéries emploient pour se défendre contre les antibiotiques des stratégies multiples de résistances. Afin de contrer ces phénomènes physiologiques et génétiques redoutables, les chercheurs s'orientent vers la diversification des molécules à activité antibactérienne.



**Photographie 02:** Activité antibactérienne sur milieu Mueller-Hinton des souches actinomycétales contre *Bacillus cereus*.

## 2. Activité antifongique

Parmi les 08 isolats d'actinomycètes étudiés, 04 souches soit 50 % du lot, présentent une activité antifongique sur l'une des deux souches fongiques cibles (**Tab.10**).

**Tableau 10 :** Activité antifongique des isolats d'actinomycètes vis-à-vis de deux souches fongiques *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum*

Actinomycètes	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
SS	-	++
Sel5	-	+
S7	-	-
S15	-	++
S4	-	++
S5	-	-
Sel4	-	-
SP2	-	-

(-) : pas d'inhibition, (+) : diamètre des zones d'inhibitions inférieurs à 10 mm, (++) : diamètre des zones d'inhibitions compris entre 10 et 20mm.

On constate que ce sont seulement 04 actinomycètes qui donnent des halos d'inhibitions entre 10 et 20 mm de diamètre et cela contre uniquement *Fusarium oxysporum* notamment les isolats **SS, S15 et S4 (Photo. 03)**. L'antagonisme contre *Aspergillus niger* est complètement négatif. Ce résultat montre clairement que l'activité antifongique est très rare parmi les actinomycètes. Cela converge avec plusieurs travaux antécédents. Les travaux de **Boudemagh, 2007** dévoilent que sur 171 actinomycètes isolés à partir des sols semi-arides et des sols arides du sud-est et du sud-ouest Algérien, seulement 10 % des souches présentent une activité antifongique. Nos résultats s'accordent aussi avec ceux de **Hacène et al., 1994**, qui démontrent que 11,18 % de l'ensemble des actinomycètes isolés du Sahara Algérien ont une activité antifongique. Les travaux de **Hilali et al., 2002** confirment également les mêmes résultats.

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

en molécules antifongiques est très pauvre à cause de la rareté des organismes producteurs de ce type de substance. Par conséquent, les recherches dans ce domaine doivent continuer afin de palier à ce manque flagrant.



**Photographie 03 :** Activité antifongique sur milieu Sabouraud des souches actinomycétales contre *Fusarium oxysporum*.



# **Conclusion**

### Conclusion et perspectives

Les actinomycètes produisent près de 9000 molécules à activité antimicrobienne, ce qui représente 70% des antibiotiques naturels connus dans le monde. Ces derniers jouent un rôle primordial en médecine humaine et vétérinaire. Cependant leur utilisation massive a conduit à exercer une forte pression de sélection qui a favorisé l'émergence de gènes de résistance chez les bactéries et les champignons. Il est donc incontournable de chercher de nouvelles molécules antibiotiques, pour stopper les pathogènes.

L'objectif de ce travail a été le criblage de souches à activité antibactérienne et antifongique à partir d'une collection de souches d'actinomycètes provenant d'écosystèmes telluriques du sud Algérien.

D'après les résultats de ce travail, 08 souches actinomycétales sont actives sur plusieurs souches bactériennes tests. La souche **S5** inhibe la totalité des bactéries tests à Gram positif et à Gram négatif. Le résultat concernant cet isolat, mérite une attention particulière. Les espèces bactériennes les moins sensibles sont *K.pneumoniae* et *Morganilla sp.* La plus grande valeur d'inhibition enregistrée est celle contre *Bacillus cereus* par la souche **sel 5**.

Nos résultats montrent par ailleurs, une faible quantité d'actinomycètes parmi la collection étudiée possédant une activité antifongique.

Nous espérons rechercher les actinomycètes dans d'autres écosystèmes inexplorés afin d'augmenter les chances de trouver des molécules innovantes qui possèdent un potentiel important. Nous espérons également dans l'avenir, compléter nos investigations par la recherche d'actinomycètes dans les différentes strates du sol Saharien. Il serait question également d'identifier au niveau de l'espèce et par des méthodes moléculaires, les actinomycètes actifs.



**Références**

**bibliographiques**

### -A-

- **Adhi, T.P., Korus, R.A. and Crawford, D.L., 1989.** Production of major extracellular enzymes during lignocelluloses degradation by two *Streptomyces* in agitated submerged culture. *Appl Environ Microbiol* 55, 1165-1168.
- **Alexander. 1961.** Introduction to soil microbiology. John Wiley, New York.
- **Andriambololona T., 2010.** Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des Actinomycètes telluriques, cas de forêt d'ANKAFOBE. pp.03-11.

### -B-

- **Badji B., 2006.** Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura* et *Nonomurea*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de TIZI OUZOU p 226.
- **Basilio.A., Gonza'les I., Vicente M.F., Gorrochategui J., Cabello A., Gonza'lez A. and O. Genilloud O . , 2003.** Patterns of antibiotiques actives from soil actinomycetes isolated under different condition of pH and salinity. *J. Appl microbial.*95.814.823.
- **Bastide A., de Méo M., Andriantsoa M., Laget M., Duménil G., 1986.** Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. *MIRCEN Journal of applied microbiology and biotechnology*, Volume 2, Issue 4, pp 453-466
- **Becker, B., Lechevalier, M.P., Lechevalier, H.A. ,1965.** Chemical composition of cell-wall preparations from.
- **Beck-Sague C. et Jarvis WR. 1993.** Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States 1980-1990. *J. Infect Dis.* **167**: 1247–51.
- **Belyagoubi L., 2014.** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. pp.07-17.
- **Bérdy, j., 2005.** Bioactive microbial metabolites, a personal view. *J. Antibiotic.* 58: 1-26.
- **Bhosale, S.H., Rao, M.B. and Deshpande, V.V., 1996.** Molecular and industrial aspects of glucose isomerase. *Microbiol Rev* 60, 280-300.

## Références bibliographiques

---

- **Boucheffa K., 2011.** Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques: Identification des souches productrices et essai de caractérisation des antifongiques produits. pp.13-16.
- **Boudemagh A. ,2007.** Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. pp.22-24.
- **Boudemagh A., Kitouni M., Boughachiche F., Hamdiken H., Oulmi L., Reghioua S., Zerizer H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A. et Boiron P., 2005.** Isolation and molecular identification of actinomycetes microflora of some saharian soils of South-East Algeria (Biskra, El-Oued and Ouargla). Study of antifungal activity of isolated strains. Journal of Medical Mycology. 15, 39-44.

### -C-

- **Cavalla M., Eberllin T., 1994.** Isolement des streptomycètes du sol .*L'opéron*, 19, 13,17.
- **Leipzig., 1996.** Madagascar: Rapport de Pays pour la conférence technique internationale de la FAO sur les ressources phytogénétiques. [<http://www.fao.org>]. (06 février 2008).1387 ko.
- **Claude and Lydia Bourguignon., 2008.** Le sol, la terre et les champignons pour retrouver une agriculture saine. P68-83

### -D-

- **Demain, A. L., 2000.** Small bugs, big business: the economic power of the microbe. *Biotechnol Adv*, 18(6): 499-514.
- **Djaballah CH., 2010.** Biodiversité des actinomycètes halotolérants isolés de la SEBKHA d'AIN M' LILA. pp.09-10.
- **Dommeregues Y. et Mangenot F., 1970.** Ecologie microbienne du sol. Paris : Masson 796p.
- **Dvorak A., Johnston A., 1999.** Actinomycetes and Streptomycetes. New York.23p FAO. (2001). La biodiversité et biotes du sol.2001.

### -G-

- **Goodfellow M. and Williams S.T., 1983.** Ecology of actinomycetes. *Ann. Rev Microbiol.*, 189-216.
- **Gomez, R.C., Semedo, L.T.A.S., Soares, R.M.A., Alviano, C.S., Linhares, L.F. and Coelhor, R.R. , 2000.** Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potential in biocontrol. *Lett Appl Microbiol* 30, 146-150.
- **Gottlieb, D., 1973.** General consideration and implication of the Actinomycetales. In: *Actinomycetales characteristics and practical importance*. Edited by G. Sykes and F. A. Skinner. Academic Press, London, New York.
- **Grigorova, R., Norris, J.R. (Editors), 1990.** Techniques in microbial ecology. *Methods in Microbiology*, Vol. 22. Academic Press, London, pp. 627.
- **Grigorevski de Lima, A.L., Pires do Nascimento, R., Da Silva Bon, E.P. and Coehlo, R.R.R., 2005.** *Streptomyces drozdowiczii* cellulose production using agro-industrial by-products and its potential use in the detergent and textile industries. *Enzyme Microb Technol*, 37, 272-277.

### -H-

- **Hacene H., Sabaou N., Bounaga N., Lefevre G., 1994.** Screenig for nonpolyenic antifungal antibiotics produced by rare Actinomycetales. *Microbios.* **79**:81-5.
- **Hilali L, Khattabi A, Nssarlah N, Malki A, Finance C., 2002.** Isolement des nouvelles souches d'actinomycétales productrices de substances antifongiques à partir du milieu naturel Marocain. *RevBiolBiotech.* **2**:49-53.
- **Hodgson D.A., 1992.** Differentiation in Actinomycetes. In: *Prokaryotic Structure and Function*.
- **Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T., 1994.** *Bergey's manual of determinative bacteriology.* Williams and Wilkins, Baltimore.
- **Horner-Devine M C, Leibold M A, Smith V H and Bohannan B J M., 2003.** Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. *Ecology Letters.* **6**: 613-622

## Références bibliographiques

---

- **Hung Y., Cui Q., Wang L., Rodriguez C., Quintana E., Goodfellow M., and Lui Z., 2004.** *Streptacidiphilus jiangxiensis* sp. nov., a novel actinomycetes isolated from acidic rhizosphere soil in China. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86:156-165

-I-

- **Iida, T., Moteki, Y., Nakamura, K., Tagushi, K., Otagiri, M., Asanuma, M., Dohmae, N., Usami, R. and Kudo, T., 2009.** Functional expression of three rieske non-heme iron oxygenases derived from actinomycetes in *Rhodococcus* species for investigation of their degradation capabilities of dibenzofuran and chlorinated dioxins. *Biosci Biotechnol Biochem* 73, 822-827.

- **Islam, M.R., Jeong, Y.T., Ryu, Y.J., Song, C.H., Lee, Y.S., 2009.** Isolation, Identification and Optimal Culture Conditions of *Streptomyces* albidoflavus C247 Producing Antifungal Agents against *Rhizoctonia solani* AG2-2. *Mycobiology*, 37(2): 114-20.

-J-

- **Janssen, D.B., Dinkla, I.J.T., Poelarends, G.J. and Terpstra, P., 2005.** Bacterial degradation of xenobiotic compounds: evolution and distribution of novel enzyme activities. *Environ Microbiol* 7, 1868-1882.

-K-

- **Khattabi A, Hilali L, Dari K, Assobhei O, Gavini F., 2002.** Isolement demicroorganismes d'origine marine (Maroc) antagonistes de *Yersinia ruckeri* et *Yersinia pseudotuberculosis*. *Rev. Biol. Biotech.*; 2: 28–32.

- **Kim B., Al-Tai A.M., Kim S.B., Somasundaram P. and Michael Goodfellow M., 2000.** *Streptomyces Thermocrophilus* sp. nov., a cellulase-free endo-xylanase-producing streptomycète. *Int. J. Syst. Ev. Microbiol.*, 50:505-509.

- **Kim S.B., Seong C.N., Jeon S.J., Bae K.S., et Goodfellow M., 2004.** Taxonomic Study of neurotolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil and description of *Streptomyces yeochonensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54, 211-214.

- **Kitouni M., Boudemagh A., Oulmi L., Reghioua S., Boughachiche F., Zerizer H., Hamdiken H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A., et Boiron P., 2005.** Isolation of

## Références bibliographiques

---

actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north-east of Algeria. Journal of Medical Mycology. 15 ,45-51.

- **Krasilnikov., 1958.** Soil Microorganisms and higher plants office of technical services. US. Dept of commerce. Washington.

-L-

- **Larpent JP, Sanglier JJ., 1989.** Biotechnologie des antibiotiques. Paris: Ed. Masson. p. 481.

- **Leipzig, 1996.** Madagascar: Rapport de Pays pour la conférence technique internationale de la FAO sur les ressources phylogénétiques. [<http://www.fao.org>]. (06 février 2008). 1387 ko.

- **Le minor L., VERON M., 1989.** Bactériologie médicale. 2 ème édition. pp 335-349.

-M-

- **Mariat, F. ,Sebald M., 1990.** Les actinomycetes. Dans: Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.

- **Maier, R. M., I. L. Pepper et C. P. Gerba., 2000.** Environmental microbiology, p. 79-82. Microorganisms in surface soils. In. Academic press. A Harcourt science and technology company. Canada.

- **Martinkova, L. and Milerova,V., 2003.** Synthetic applications of nitrile-converting enzymes. Curr Org Chem 7, 1279-1295.

- **Martinkova, L., Vejvoda, V. and Kren, V., 2008.** Selection and screening for enzymes of nitrile metabolism. J Biotechnol 133, 318–326.

- **Mayfield C.I., Williams S.T., Ruddick S.M., Hatfield H.L., 1972.** Studies of the ecology of Actinomycetes in soil. IV, Observation on the form and growth of Streptomyces in soil. Soil Biology and Biochemistry, 4:79-89.

- **Mellouli L, Mehdi RB, Sioud S, Salem M, Bejar S., 2003.** Isolation, purification and partial characterization of antibacterial activities produced by a newly isolated *Streptomyces* sp. US24 strain. Res Microbiol; 154:345-52.

## Références bibliographiques

---

- **Moreira, K.A., Albuquerque, B.F., Teixeira, M.F.S., Porto, A.L.F. and Lima, J.L., 2002.** Application of protease from *Nocardiosis* sp. as a laundry detergent additive. *World J Microbiol Biotechnol* 18, 307-312.

- O -

- **Okami, Y., Hotta, K., (1988).** Search and discovery of new antibiotics. In: Goodfellow M, Williams ST, Mordarski M, editors. *Actinomycetes in biotechnology*. New York: Academic Press, Inc; p.33-67.

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

- P -

- **Patke, D. and Dey, S., 1998.** Proteolytic activity from a thermophilic *Streptomyces megasporus* strain SDP4. *Lett Appl Microbiol* 26, 171-174.

- **Petrosyan, P., Garcia-Varela, M., Luz-Madrigal, A., Huitron, C., Flores, M. E., 2003.** *Streptomyces mexicanus* sp. nov., a xylanolytic microorganism isolated from soil. *Inter J Syst Evol Microbiol*, 53(Pt 1): 269–273.

- R -

- **Reponen, T.A., Gizenko, S.V., Grinshpun, S.A., Willeke, K., Cole, E.C., 1998.** Characteristics of Airborne Actinomycete Spores. *Appl Environ Microbiol*, 64 (10): 3807–3812.

- **Roger, P. et J. L. Garcia., 2001.** Introduction à la microbiologie du sol. Acad. Press Inc.pp. 15-32.

- S -

- **Sanglier J.J, Haag H., Huck T.A. et Fehr T., 1993.** Novel bioactive compounds from actinomycetes. *Res. Microbiol.* 144, 661-663.

- **Sarkonen N., Könönen O., Summanen P., Kanervo A., Takala A., et Jousimies-Somer H., 2000.** Oral Colonization with Actinomyces Species in Infants by Two Years of Age. *J Dent Res.* 79: 864-867.

## Références bibliographiques

---

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

- **Sobti s., 2013.** Isolement des bactéries telluriques résistantes aux effets de salinité .pp.03-04.

-**Smaoui S., 2010.** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, (France). pp251.

-*T*-

-**Thomson, C.J., Power, E., Ruebsamen-Waigmann, H., Labischinski, H., 2004.** Antibacterial research and development in the 21(st) Century-an industry perspective of the challenges. *Curr Opin Microbiol*, 7(5):445–50.

- **Theilleux J., 1993.** Les actinomycètes In: *Microbiologie industrielle: Les microorganismes d'intérêt industriel*, Lavoisier, Tech et Doc, V 612p, pp 425.

-**Tomita, K., M. Nishito, K. Sitoh, H. Yamamoto, Y. Hashino, H. Okhuma, M. Konishi, T. Miyaki et T. Oki., 1990.** Pramimidins A, B and C: new antifungal antibiotics. I.Taxonomy, production and physico-chemical properties. *J. Antibiot.* 43: 755-762.

-*V*-

- **Valois D., Fayad K., Barasubiye T., Garon M., De'Ry C., Brezezinski R., etBeaulieu C., 1996.** Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, the causal agentraspberry root rot. *Applied and EnvironmentMicrobiol.* 62. 5 : 1630-1635.

-*W*-

- **Wang L., Huang Y., Liu Z., Goodfellow M. and Rozi'guez C., 2006.** *streptacidiphilus oryzae* sp.nov.an actinomycetes isolated from rice-field soil in Thailand.*int.J.sys.Ev. Microbiol.* ,56.1257- 1261

- **Waksman S.A., 1959.** *The Actinomycetes: nature, occurrence and activities.* Baltimore. v1:29-46.

- **Waksman, S.A., 1967.** Distribution, isolation and methods of study. In : *The actinomycetes a summary of current knowledge.* The ronald Press Company. New york. pp: 9–21.

## Références bibliographiques

---

- **Watve, M.G., Tickoo, R., Jog, M.M., Bhole, B.D., 2001.** How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*?. Arch Microbiol, 176(5): 386–90.
- **Wild, A., 1993.** Soils and environment. An introduction, pp.281. In. Cambridge price editions. Cambridge University press, Cambridge.
- **Williams, S.T., 1978.** Streptomycetes in soil ecosystem. In Mordarski M, Kurylowicz W, Jeljaszewicz J (eds) Nocardia and Streptomycetes. Warsaw. October 1976. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart; 137-142.
- **Williams S.T, Goodfellow M., Alderson G., 1989.** Genus *Streptomyces*.

-Z-

- **Zhang J., Liu Z. et Goodfellow M., 2003.** *Nocardia caishijiensis* sp. nov., a novel soil Actinomycete. Inter J of Syst and Evol Microbiol. 53 : 999–1004.
- **Zhi, X.Y., Li, W.J., Stackebrandt E., 2009.** An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. Int J Syst Evol Microbiol, 59 (Pt 3): 589–608.
- **Zimmermann, W., Winter, B. and Broda, P., 1988.** Xylanolytic enzyme activities produced by mesophilic and thermophilic actinomycetes grown on graminaceous xylan and lignocelluloses. FEMS Microbiol Lett 55, 181-185.

A graphic of a scroll with a black outline and a light gray shadow. The scroll is unrolled, showing the word "Annexe" in a bold, black, serif font. The scroll has a vertical strip on the left side and rounded ends on the right side.

# **Annexe**

## Les milieux de culture

- Composition du milieu de culture

### 1. Milieu Amidon-caséine

Ingrédients	Quantité
Amidon soluble	10 g
Caséine	01 g
Eau distillé	100 ml
Agar	20 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5g
PH	7- 7,5

### 2. La gélose Mueller-Hinton

Ingrédients	Quantité
Infusion de viande de bœuf	300 ml
Peptone de caséine	17.5 g
Amidon de maïs	1.5 g
Agar	17 g
pH	7,4

### 3. Milieu Sabouraud

Ingrédients	Quantité
Glucose	40 g
Peptone	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7

## **Abstract**

Bacterial resistance to antibiotics and the emergence of new infectious diseases justifies the urgent need for new antimicrobial molecules. The objective of this work is part of the search for antibacterial and antifungal activity of a collection of actinomycetes which come from terrestrial ecosystems in arid regions of the country. Technical agar cylinder was used to detect the antimicrobial activity of the isolates of actinomycetes against of bacteria and fungi strains. Most actinomycetales strains were found to be active against test organisms selectively against Gram-positive organisms than Gram-negative organisms, and the diameters of the zones of inhibition ranged from 08 to 22 mm. about 88% of the isolates, have antibacterial activity against *Bacillus cereus*. Against *Staphylococcus aureus* (MRSA) 75% of actinomycetes exhibit positive activity. *K.pneumoniae* and *Morganilla sp* are both bacteria which exhibit resistance to molecules produced by all of the isolates. Actinomycetes terrestrial arid zones can be a potential source of antimicrobial molecules of great diversity.

**Keys words:** starch casein, antimicrobial activity, zones of inhibition, telluric Actinomycetes.

## ملخص

التطور المستمر لمقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية و ظهور أمراض معدية يبرر الحاجة الملحة للحصول على جزيئات جديدة مضادة للميكروبات. ينطوي الهدف من هذه الدراسة تحت البحث عن النشاط المضاد للبكتيريا ومضاد للفطريات لمجموعة من الاكتينومييسات المأخوذة من النظم الإيكولوجية الأرضية في المناطق القاحلة في البلاد. استخدمت تقنية اسطوانات الأغار للكشف عن النشاط المضاد للميكروبات من طرف الأكتينومييسات المعزولة ضد السلالات البكتيرية والفطرية. قدمت معظم السلالات نشاطا مثبتا للسلالات البكتيرية والفطرية المختبرة. تظهر مختلف سلالات الاكتينومييسات أنها أكثر نشاطا ضد البكتيريا موجبة الجرام من البكتيريا سالبة الجرام و بأقطار مناطق تثبيط تتراوح بين 08 و 22 مم. حوالي 88 % من الأكتينومييسات المعزولة قدمت نشاطا ايجابيا ضد *Bacillus cereus* ، و 75 % ضد *Staphylococcus aureus*.

*Morganilla sp* و *K.pneumoniae* هي البكتيريا التي تظهر مقاومة للجزيئات التي تنتجها كل من العزلات.

تشكل الاكتينومييسات الأرضية المعزولة من المناطق القاحلة مصدر محتمل للجزيئات المضادة للميكروبات ذات تنوع كبير.

**الكلمات المفتاحية :** النشاط المضاد للميكروبات، مناطق تثبيط، الاكتينومييسات الأرضية، المناطق القاحلة

Nom : AGGOUN	Prénom : Rafika
Nom : FAHLOUL	Prénom : Amel
Master Académique en Biologie option : Microbiologie générale et Biologie moléculaire	
<b>Thème :</b> Activité antibactérienne et antifongique d'une collection d'actinomycètes telluriques	
<b>Résumé</b> <p>La résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses justifient l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. L'objectif de ce travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de l'activité antibactérienne et antifongique d'une collection d'actinomycètes qui proviennent des écosystèmes telluriques des régions arides du pays. La technique des cylindres d'agar a été employée pour déceler l'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes vis-à-vis de souches bactériennes et fongiques. La plupart des souches actinomycétales ont présenté une activité inhibitrice à l'égard des souches tests. Les souches actinomycétales semblent être plus actives sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif et les diamètres des zones d'inhibition varient entre 8 et 22 mm. Vis-à-vis de <i>Bacillus cereus</i> environ <b>88 %</b> des isolats, ont une activité antibactérienne. Contre <i>Staphylococcus aureus</i>, (SARM) <b>75 %</b> des actinomycètes présentent une activité positive. <i>K.pneumoniae</i> et <i>Morganilla sp</i> sont les deux bactéries qui présentent une certaine résistance aux molécules produites par l'ensemble des isolats. Les actinomycètes telluriques des zones arides peuvent être une source potentielle de molécules antimicrobiennes d'une grande diversité.</p>	
<b>Mots clés:</b> Activité antimicrobienne, actinomycètes, sol aride.	
Membres du jury :	
<b>Président :</b> BOUAKKAZ A.	Maître assistant A Université Abbes Laghrour
<b>Encadreur :</b> BENSOUICI K.	Maître assistant A Université Abbes Laghrour
<b>Examineur :</b> YAKHLAF W.	Maître assistant B Université Abbes Laghrour