

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



---

Université Abbes Laghrou -Khenchela-  
Faculté de Science de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie moléculaire et cellulaire

Mémoire en vue de l'Obtention du Diplôme de :  
**Master académique**

**Filière de biologie**

**Option :  
Microbiologie**

**Thème :**

---

***Isolement des Actinomycètes et recherche des isolats  
productrices des substances antimicrobiennes***

---

Présenté par :

**M<sup>elle</sup> AISSAOUI NASSIMA  
M<sup>elle</sup> CHEBABHI AHLEM**

Devant le jury :

**Présidente : M<sup>me</sup> DAROUICHE FOUZIA (M.C.B) Univ. Abbes Laghrou -Khenchela-**  
**Examinatrice : M<sup>me</sup> MERABTI RIMA (M.C.B) Univ. Abbes Laghrou -Khenchela-**  
**Promotrice : M<sup>me</sup> LEULMI NASSIMA (M.A.A) Univ. Abbes Laghrou -Khenchela-**

**2016-2017**



## *Remerciements*

*Avant tout nous remercions « Allah » le tout puissant pour le courage et la force et la volonté qui nous a accordé pour accomplir ce travail.*

*Nos profondes gratitude s'adressent à M<sup>me</sup> LEULMI Nassima notre encadreur, qui a accepté de nous diriger et nous a accordé tout son intérêt et sa patience, nous la remercions pour sa disponibilité, ses précieux conseils, son encouragement ainsi que sa gentillesse qui nous a permis de mener à bien ce travail.*

*Nous tenons aussi à exprimer nos plus grands respects et nos vifs remerciements aux membres du jury qui ont bien voulu examiner ce travail.*

*Nos remerciements les plus chaleureux et les plus profonds s'adressent à nos familles pour leurs soutiens, leurs encouragements et leurs patiences.*

*Et que ce travail a été effectué au sein du laboratoire de Microbiologie à l'institut de Biologie, département de Biologie de l'université Abbès Laghrour -Khenchela-, Nous n'oublions pas de remercier les ingénieurs de ce laboratoire qui sont toujours à notre service.*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près et de loin à réaliser ce travail.*





# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire*

*À la prunelle de mes yeux, ma mère et mon père*

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.*

*À mes frères.*

*À la lumière de ma vie, mon marie DJAMEL F.*

*À mon encadreur M<sup>me</sup> LEULMI NASSIMA et sa famille.*

*Au docteur ARBAOUI A. pour son indéfectible soutien pour ce travail.*

*À ma binôme AHLLEM qui m'a accompagné tout au long de cette année pour la réalisation de ce travaille.*

*À mes amies et mes collègues.*

*Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.*

*Enfin, à tout qui ont été oublié par mon stylo mais jamais oublié par mon cœur.*

*À toute la promotion 2017 de microbiologie master.*

*AI. NASSIMA*





## Dédicace

*Je dédie ce travail*

*À l'homme de ma vie, mon soutien moral et source  
de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour  
me voir réussir, mon père !*

*À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre,  
une source de tendresse, de patience et de générosité, à ma mère !*

*À mes frères et sœurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de  
Persévérance et de courage.*

*À mon encadreur M<sup>me</sup> LEULMI NASSIMA et sa famille.*

*À ma binôme NASSIMA*

*À tous mes amis et collègues.*

*À tous mes enseignants tout au long de mes études.*

*À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer ...*

**CH. AHLEM**



## Sommaire

	<b>Page</b>
Liste des figures .....	I
Liste des tableaux .....	II
Liste des abréviations .....	III

## INTRODUCTION GENERALE 01

### Revue bibliographie

#### CHAPITRE I : Généralité sur les *Actinomycètes*

I.1. Historique .....	3
I.2. Définition et caractéristiques principales .....	3
I.3. La morphologie .....	4
I.4. Ecologie des <i>Actinomycètes</i> .....	6
I.5. Taxonomie des <i>Actinomycètes</i> .....	9
I.5.1. Les <i>Mycobactériacées</i> .....	10
I.5.2. Les <i>Actinomycétacées</i> (ou <i>Proactinomycètes</i> ) .....	10
I.5.3. Les <i>Streptomycétacées</i> .....	10
I.5.4. Les <i>Actinoplanacées</i> .....	11
I.6. Cycle de développement des <i>Actinomycètes</i> (exemple type : <i>Streptomyces spp.</i> )..	11
I.7. Génétique et structure de l'ADN des <i>Actinomycètes</i> .....	14

#### CHAPITRE II : Intérêt des *Actinomycètes*

II.1. <i>Actinomycètes</i> en biotechnologie .....	16
II.1.1. Les antibiotiques .....	16
II.1.2. Agents immunosuppresseurs .....	18
II.1.3. Les anti-tumoraux .....	18
II.1.4. Les anti-parasites .....	19
II.2. <i>Actinomycètes</i> en agronomie .....	20

### Partie expérimental

#### CHAPITRE III : Matériel et méthodes

III.1. Echantillonnage .....	22
------------------------------	----

III.2. L'isolement des <i>Actinomycètes</i> .....	24
III.2.1. Préparation du milieu d'isolement .....	24
III.2.2. Dilution et mise en culture .....	24
III.2.2.1. Préparation des dilutions .....	24
III.2.3. Ensemencement et incubation .....	25
III.3. Lecture et dénombrement .....	25
III.4. Coloration du Gram .....	26
III.5. Purification des souches d' <i>Actinomycètes</i> .....	26
III.6. Conservation .....	26
III.7. Etude de potentialité antagoniste des isolats d' <i>Actinomycètes</i> .....	27
III.7.1. Technique des cylindres d'Agar .....	28
III.7.2. Les souches tests .....	28
III.7.3. Recherche de l'activité antibactérienne .....	28
III.7.4. Recherche de l'activité antifongique .....	29

**CHAPITRE IV : Résultats et discussion.**

IV.1. Isolement et purification des <i>Actinomycètes</i> .....	30
IV.1.1. Etude de l'aspect macroscopique des colonies bactériennes <i>Actinomycétales</i> . .....	32
IV.1.2. Etude de l'aspect microscopique des isolats d' <i>Actinomycètes</i> .....	33
• Observation direct d'une colonie au microscope photonique .....	33
• Observation après coloration du Gram .....	33
IV.1.3. Purification des souches d' <i>Actinomycètes</i> .....	34
IV.2. Etude des activités antimicrobiennes (Méthode de cylindres d'agar) .....	35
• L'activité antibactérienne .....	36
• L'activité antifongique .....	38

**CONCLUSION ET PERSPECTIVES** 40

Références bibliographiques .....	42
Résumé .....	54
Annexes	

Liste des figures

N° de figure	Titre de figure	Page
N°01	Coupe transversale d'une colonie.	5
N°02	Quelques exemples pour illustrer la grande diversité morphologique des <i>Actinomycètes</i> .	6
N°03	Principaux groupes d' <i>Actinomycètes</i> .	11
N°04	Cycle de développement de <i>Streptomyces griseus</i> .	13
N°05	Effet du salinosporamide A sur la morphologie du parasite.	20
N°06	Site de prélèvement du sol d'El Oued.	22
N°07	Site de prélèvement de l'eau marine de Tzi Ouzou.	23
N°08	Dilution en série de l'échantillon.	24
N°09	Etapes relatives de l'isolement des <i>Actinomycètes</i> .	25
N°10	Etapes de conservation des isolats purs des <i>Actinomycètes</i> .	27
N°11	Etapes relatives d'étude de potentialité antagoniste des isolats d' <i>Actinomycètes</i> .	29
N°12	Aspect macroscopique d'une colonie d' <i>Actinomycète</i> isolé d'échantillon de l'eau de mer de la Tunisie.	32
N°13	Aspect microscopique de différentes colonies d' <i>Actinomycètes</i> .	33
N°14	Coloration du Gram d'un isolat d' <i>Actinomycète</i> .	34
N°15	Croissance des isolats d' <i>Actinomycètes</i> après purification sur YMEA.	35
N°16	Mise en évidence de l'activité antibactérienne des isolats TN <sub>10</sub> , TN <sub>12</sub> , TN <sub>13</sub> .	37
N°17	Senssibilité de champignon <i>Aspergillus flavus</i> vis-à-vis l'activité antifongique d'isolats d' <i>Actinomycète</i> TN <sub>4</sub> .	38

**Liste des tableaux**

<b>N° de tableau</b>	<b>Titre de tableau</b>	<b>Page</b>
<b>N°01</b>	Habitat de certains genres d' <i>Actinomycètes</i> .	7
<b>N°02</b>	Certaines maladies causées par les <i>Actinomycètes</i> pathogènes.	9
<b>N°03</b>	Différentes valeurs de GC % rencontrées dans le groupe d' <i>Actinomycètes</i> .	15
<b>N°04</b>	Quelques exemples d'antibiotiques produits par les <i>Actinomycètes</i> .	17
<b>N°05</b>	Quelques exemples d'antitumoraux produits par les <i>Actinomycètes</i> .	19
<b>N°06</b>	Les souches bactériennes tests.	28
<b>N°07</b>	Nombre des isolats d' <i>Actinomycètes</i> isolés.	30
<b>N°08</b>	Activité antimicrobienne des isolats <i>Actinomycétales</i> évalués par la méthode des cylindres d'agar.	39

### Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

C : Cytosine.

C° : Degré celsius.

CaCO<sub>3</sub> : Carbonate de calcium.

Fig : Figure.

G : Guanine.

g : Gramme.

GLM : Glucose -extrait de levure -extrait de malte

h : heure.

ISP2 : International Streptomyces Project.

Km : Kilomètre.

pH : Potentiel hydrogène

m : Mètre

mg /ml : Milligramme/ millilitre

NaCl : Chlorure de Sodium

PDA : Potato Dextrose Agar

YMEA : Yeast Malt Extract Agar

µl : Microlitre

Ø : Diamètre



*Introduction*

*Générale*



### Introduction générale

De nombreux antibiotiques ont été isolés dans une variété de microorganismes et ont été employés dans beaucoup de domaines : l'industrie, l'agriculture, science vétérinaire et pharmaceutique (**Oskay et al., 2004**). Cependant, des études sont en cours pour identifier de nouveaux antibiotiques efficaces contre les mycètes et les bactéries pathogènes.

A l'heure actuelle, les problèmes de la résistance aux antibiotiques et la sensibilité des patients associée à l'incapacité de contrôler certaines maladies infectieuses ont conduit à la recherche continue de nouveaux antibiotiques, à fin de combattre les organismes résistants parfois à plusieurs antibiotiques. Pour atteindre cet objectif, de nombreuses recherches se sont orientées vers le criblage de nouvelles souches productrices d'antibiotiques.

Pour ces raisons, ce travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des molécules antimicrobienne capables de jouer un rôle important dans le domaine de la santé publique. Ces molécules sont souvent recherchées à partir des microorganismes isolés d'échantillons prélevés de différents écosystèmes, dans le but de découvrir des taxons originaux et par-là de nouvelles molécules biologiquement actives.

Les *Actinomycètes* représentent une source biologique utile d'antimicrobiens contre des mycètes et des bactéries pathogènes. Ils sont surtout réputés pour leur grande capacité à produire naturellement des antibiotiques: environ 70% des molécules actives d'origine microbienne (**Okami et Hotta, 1988**), avec des possibilités intéressantes génétiquement pour la production de 10 à 20 métabolites pour chaque souche (**Islam et al., 2009**). En effet, 70 à 80% des métabolites secondaires disponibles dans le marché ont été isolées et caractérisées à partir de plusieurs espèces d'*Actinomycètes* (**Khanna et al., 2011**).

❖ Le présent travail comporte les parties suivantes:

Une introduction suivie d'une partie bibliographique détaillée sur les *Actinomycètes* en général ainsi que sur leurs intérêt, d'une première partie.

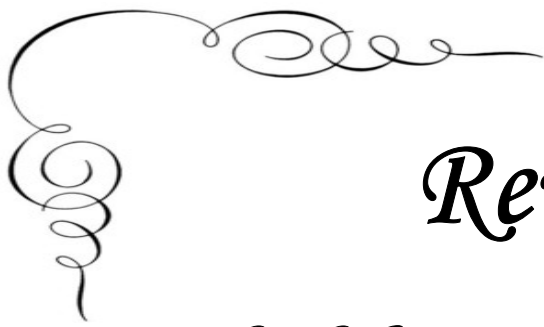
La deuxième partie expose l'ensemble des méthodes mises en œuvre au cours de ces travaux comprenant les techniques microbiologiques et les techniques de la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des isolats isolées.

La troisième partie présente les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Et en fin, Une conclusion générale.

L'objectif principal de notre étude consiste à :

- Isoler, à partir de différents écosystèmes, des isolats d'*Actinomycètes*
- Sélectionner des isolats d'*Actinomycètes* productrices d'antibactériens et antifongiques, suivant la technique de cylindre d'agar.



*Revue*


*bibliographique*





*CHAPITRE I*

*Généralités sur les  
Actinomycètes*



## Généralités sur les *Actinomycètes*

### I.1. Historique

Ferdinand Cohn fut le premier à décrire un *Actinomycète* en 1875 et en 1878, Harz, nomma *Actinomyces bovis*, un organisme parasite rencontré dans une infection de la mâchoire d'un bovin (**Waksman, 1961**). Les *Actinomycètes* ont été isolés pour la première fois par Cohn en 1875 à partir de sources humaines (**Williams et al., 1984**). Et c'est en 1943 que S. Waksman a pu isoler un genre *Actinomycète* à partir du sol.

D'après Waksman, l'histoire des actinomycètes est divisée en quatre grandes catégories. La 1<sup>ère</sup>, est celle de la découverte de leur rôle dans la pathologie et va de 1874 aux années 1990. La 2<sup>ème</sup> période (1900-1919) 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. La 3<sup>ème</sup>, (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 4<sup>ème</sup>, l'activité antimicrobienne des *Actinomycètes*. Elle commence en 1940 et le nom de Selmán Waksman lui est indissolublement lié (**Leminor et Veron, 1989**).

### I.2. Définition et caractéristiques principales

Le mot *Actinomycète* a été dérivé des mots grecs «Aktis» qui veut dire rayon et «mykes» qui veut dire champignon «Champignons à rayons» ou «Champignons rayonnants» (**Lamari, 2006**).

Les *Actinomycètes* se situent dans l'ordre des *Actinomycétales* (**Mariat et Sebald, 1990**), sont des procaryotes à structure de bactéries à Gram positif (**Williams et al., 1993 ; Sanglier et Trujillo, 1997**) capables de former des spores asexuées (conidiospores ou sporangiospores) et des hyphes ramifiés, habituellement non fragmentés, leur croissance donne lieu à des colonies circulaires constituées de filaments qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Gottlieb, 1973 ; Lechevallier et Lechevallier, 1981 ; Eunice et Prosser, 1983**). Leur coefficient de chargaff (G+C%) est supérieur à 55 %, généralement compris entre 60 et 75 %. Plusieurs formes peuvent être observés, allant de la cellule coccoïde ou bacillaire jusqu'à un mycélium complexe générateur de spores enveloppées dans un sporange chez certains genres (**Ensign, 1978; Larpent et Sanglier, 1989; Chun et al., 1997**).

La plupart d'entre eux sont toujours immobiles (**Larpen et Sanglier, 1989**). Toutefois, certains types produisent des spores flagellées, permettant leur dispersion dans les habitats aquatiques (**Djaballah, 2010**).

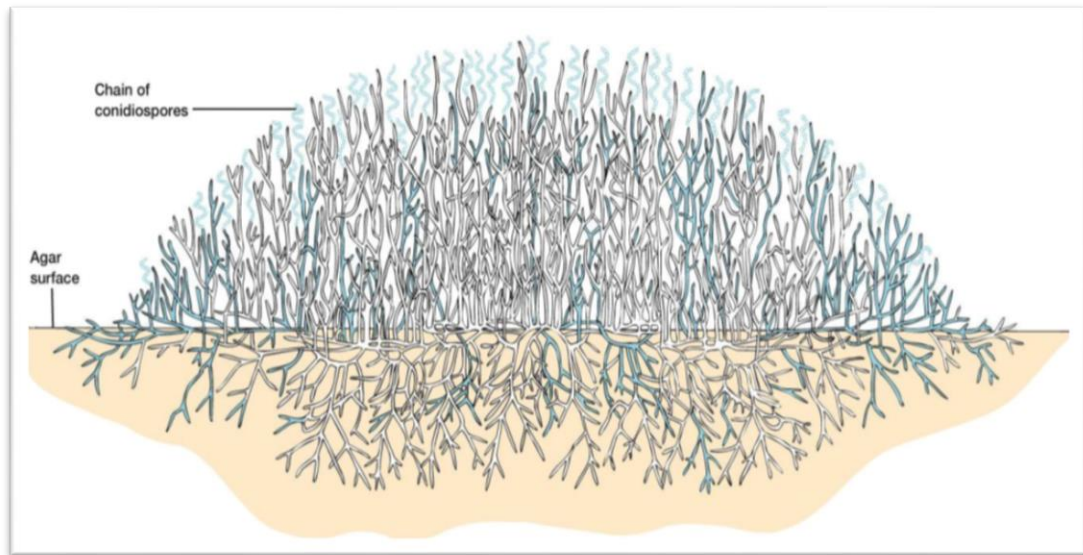
Bien que les *Actinomycètes* soient des microorganismes procaryotes, leur morphologie ressemble fortement à celle des micro-organismes eucaryotes comme les champignons filamenteux (**Osada, 1998**). Les principales différences entre les champignons et les *Actinomycètes* peuvent être résumés dans les points suivants:

- Leurs parois qui ne renferment ni cellulose ni chitin, se retrouvent respectivement chez les plantes et les champignons (**Shukla, 2010**).
- Le diamètre de leurs mycéliums est approximativement le un dixième de celui de la plupart des hyphes fongiques (généralement 0.7 à 0.8  $\mu\text{m}$ ).
- Leurs sensibilités aux attaques des bactériophages et lysozymes (**Hawker et Linton, 1971**).
- Leurs sensibilités aux antibiotiques antibactériens (**Rangaswami et al., 2004; Winn et Koneman, 2006**).

Les *Actinomycètes* sont généralement plus nombreux que les champignons, mais moins abondants que les autres bactéries. Les *Actinomycètes* préfèrent un pH neutre ou peu alcalin, ils sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérants des températures avoisinant 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C (**Goodfellow et Williams, 1983**). Leur temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures (**Ottow et Glathe, 1968; Larpen et Sanglier, 1989**).

### I.3. La morphologie

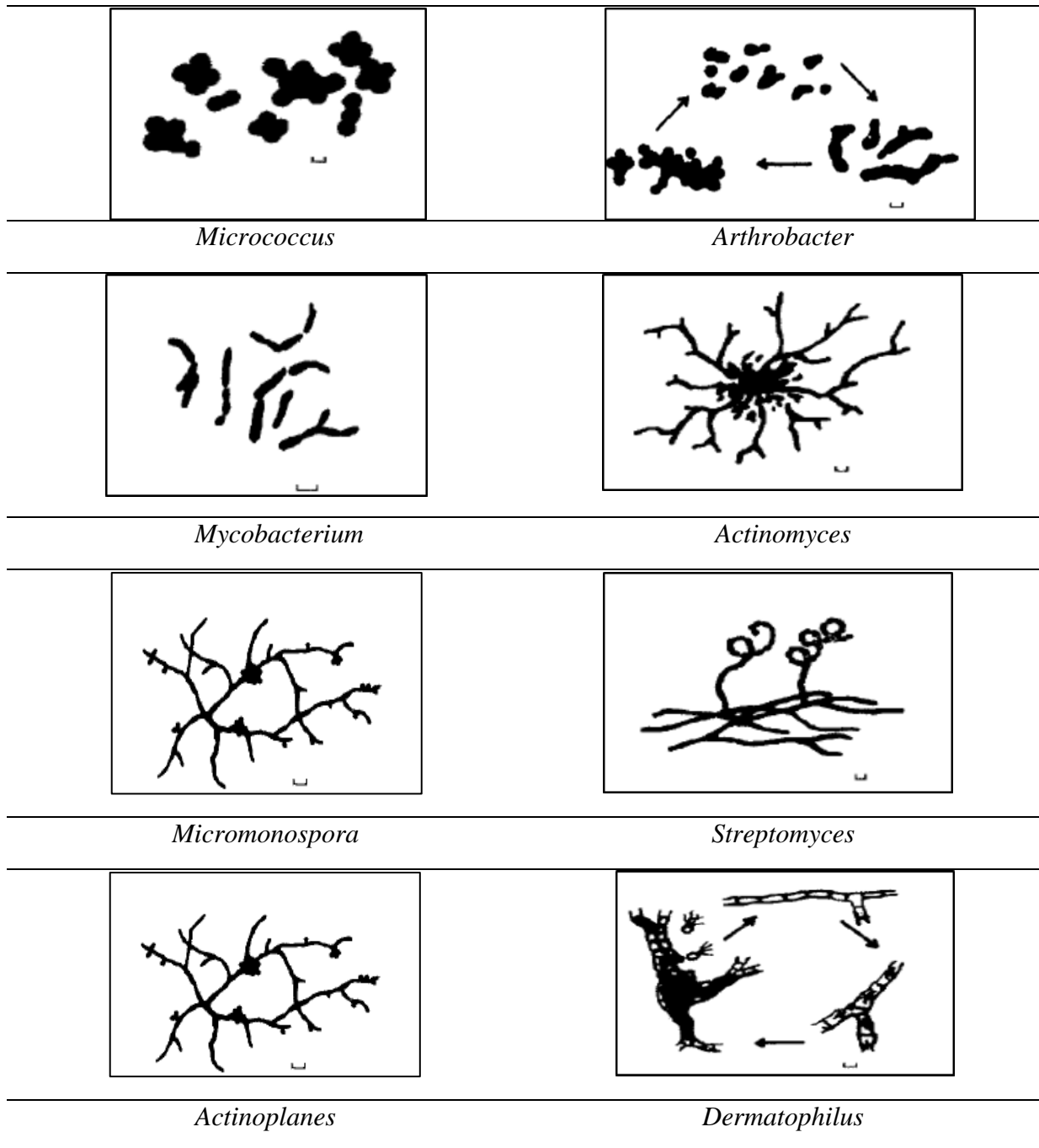
La morphologie des différents groupes d'*Actinomycètes* est très variable (**Gottlieb, 1973**). Ils vont des organismes coccoïdes à d'autres avec des cycles de coccus, des tiges non-branchement, des tiges légèrement ramifiées, des hyphes fragmentées et des mycéliums ramifiés permanents et hautement différenciés avec des hyphes aériennes porteurs de spores, des spores mobiles et des sporanges multiloculaires (plusieurs compartiments) (**Niall A., Logan, 1994**).



**Figure 1.** Coupe transversale d'une colonie d'*Actinomycètes* avec des hyphes vivants (bleu et vert) et morts (blancs) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores (**Prescott, 2010**).

Les *Actinomycètes* ont longtemps été considérés comme des champignons primitifs, du fait de leur mycélium, souvent à la fois aérien et pénétrant dans le substrat nutritif, du fait également de la fructification par sporanges libérant des spores chez nombre d'entre eux (**Hasley et Leclerc, 1993; Horinouchi, 2002**). Les principaux critères utilisés pour l'étude des *Actinomycètes* vivants sont les suivants :

- Formation d'un mycélium, ramifié ou non, forme et diamètre des filaments, morphologie de la ramification.
- Formation d'un mycélium du substrat (c'est-à-dire dans le milieu de culture), dit « végétatif », et d'un mycélium aérien (au-dessus du milieu de culture) dit « reproductif ». Différenciation morphologique entre ces deux mycéliums.
- Fragmentation de l'un ou l'autre (ou des deux) mycélium, en unités de propagation, morphologie et dimensions de ces éléments.
- Formations de spores, sessiles ou portées par un sporophore ; morphologie et dimensions des spores; groupement et organisation des spores ; morphologie et dimensions des sporophores, présence de sacs spécialisés ou sporanges et endosporulation (**Lechevalier M. P., 1989**).



**Figure 2.** Quelques exemples pour illustrer la grande diversité morphologique des *Actinomycètes* (Niall A., Logan, 1994).

#### I.4. Ecologie des *Actinomycètes*

Les *Actinomycètes* sont retrouvés presque partout dans la nature. Outre les sols cultivés, ils sont présents dans des sols polaires gelés en permanence, tout comme dans des sols désertiques chauds et secs, dans le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec des métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins, les lacs salés et même dans des sédiments

océaniques situés à plus de 4000 m de profondeur (**Goodfellow et Williams, 1983**). L'air constitue pour les actinomycètes, non pas un habitat, mais un moyen de transport (**Gazengo et al., 1998, Reponen et al., 1998**).

La majorité des genres *Actinomycètes* sont communs et largement répartis dans le sol, surtout dans les sols qui sont secs, pas trop acides et riches en matière organique (**Waksman, 1959; Alexander, 1961**). Les *Actinomycètes* représentent environ 25% du sol complexe microbien lorsqu'ils sont énumérés par les méthodes de la plaque sur les milieux nutritifs standards (**Sorokina et al., 1991**). La plupart des *Actinomycètes* du sol se comportent également comme des neutrophiles en culture, la croissance entre pH 5.0 et 9.0 avec une position optimale proche de la neutralité. De nombreux sols sont acides, le pH est clairement un facteur déterminant de leur répartition et de leur activité; il sait depuis de nombreuses années que les sols acides produisent de faibles dénombrements de neutrophiles d'*Actinomycètes* (**Waksman S. A., 1959**).

La biodiversité des *Actinomycètes* a été étudiée à partir de différentes niches du domaine marin, par exemple : eaux profondes, eaux côtières et mangroves environnement (**Rathna Kala et al., 2001**)

**Tableau 1.** Habitat de certaines genres d'actinomycètes (**Goodfellow M. et Williams S. T., 1983**).

Genre	Habitat
<i>Actinomadura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau, litière végétale
<i>Frankia</i>	Nodules des racines
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, eau
<i>Nocardia</i>	Sol
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, litière végétale
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière végétale
<i>Streptosporallgium</i>	Sol

Au lieu de cela, il faut considérer les sites où la croissance des *Actinomycètes* se produit et ils seront donc la source des odeurs, par exemple :

- Sol : croissance des *Actinomycètes* dans le sol du bassin de drainage des rivières et les lacs aboutiront à l'accumulation de composés odoriférants qui éventuellement être lavé dans l'eau. Même le sol a été lavé dans la rivière et le lac servira de magasin des odeurs (**Putilina, 1940; Issatchenko et Egorova, 1944; Issatchenko, 1946; Masschelein, 1966**).
- Les marges du lac et de la rivière. Les communautés végétales en marge des lacs et des rivières, en particulier lorsque le niveau d'eau fluctue, fournira des substrats et des conditions pour la croissance et la sporulation des *Actinomycètes* (**Thaysen, 1936; Silvey et Roach, 1975**).

La plupart des *Actinomycètes* sont saprophytes mais quelques-uns peuvent être pathogènes ou symbiotes des plantes et des animaux (**Suzuki et al., 1994**). Durant les dix années (1995 - 2005), deux cas de mycétomes à *Actinomadura madurae* et à *Streptomyces* ont été observés chez deux patientes originaires de Tamanrasset et d'Ain defla en Algérie (**Zait et al., 2008**). En générale, les *Actinomycètes* sont des hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimio-autotrophe (**Ensign et al., 1993**).

**Tableau 2.** Certaines maladies causées par les *Actinomycètes* pathogènes.

Maladie	Agents causale	Organes cibles	Références
Actinomycétome	<i>Actinomadura</i> <i>rnadurae</i> , <i>Nocardia</i> <i>asteraides</i> , <i>N.brasiliensis</i> , <i>Streptomyces</i> <i>somaliensis</i>	Pieds,jambes, extrémités supérieur, et autres sites.	(Pulverer G. et Schaal, K. P., 1978 ; Schaal, K. P., 1977 ; Slack J. M. et Gerencser M. A., 1975).
Actinomycose	<i>Actinomyces bovis</i> , <i>A.Israélien</i> , <i>Arachnia propionica</i>	Cervico-facial, thoracique, abdominal, et régions utérines	(Pulverer G. et Schaal, K. P., 1978 ; Schaal, K. P., 1977 ; Slack J. M. et Gerencser M. A., 1975).
Tuberculose	<i>Mycrobacterium</i> <i>tuberculosis</i>	Poumons	(Barksdale L. et Kim K. S., 1977 ; Goodfellow M. et Wayne L. G., 1972 ; Jenkins P. A., 1982 ; Kubica, G. P. et Good R. C., 1981).
Infections purulentes	<i>Actinomyces</i> ( <i>Corynebacterium</i> ) <i>pyogenes</i> , <i>Corynebacterium</i> <i>pseudotuberculosis</i>	Abcès dans divers organes (Cerveau, moelle épineière, les articulations)	(Barksdale L. <i>et al.</i> , 1970 et Saragea A. <i>et</i> <i>al.</i> , 1979 ; Slack, J. M. et Gerencser M. A., 1975).
Endocardite	<i>Oerskovia turbata</i> , <i>Rothia</i> <i>dentocariosa</i>	Endocarde	(Pape F. <i>et al.</i> , 1979 ; Reller, L. B. <i>et al.</i> , 1975 ; Sottnek, F. O. <i>et al.</i> , 1977).

Le rôle joué par les *Actinomycètes* dans la nature, où ils sont impliqués dans la dégradation complexe et récalcitrante des composés organiques, dans la formation des sols et la fertilité du sol et la bio-remédiation de l'environnement (**Zvyagintsev et Zenova, 2001**).

### I.5. Taxonomie des *Actinomycètes*

Le phylum des *Actinobacteria* est grand et complexe (**Stackebrandt, 1997**) il regroupe 5 ordres, 13 sous-ordres, 48 familles, et plus de 200 genres bactériens.

**Stanier (1966)** subdivise les *Actinomycètes* en quatre familles :

#### I.5.1. Les *Mycobactériacées*

Ce sont les *Actinomycètes* dont la morphologie est la plus voisine de celle des bactéries: le mycélium formé en début de développement se rompt rapidement pour libérer des bâtonnets ramifiés ou irréguliers. Les *Mycobactériacées* présentent des affinités marquées avec les corynébactériacées et les bactéries lactiques.

Ils se différencient des autres bactéries et *Actinomycètes*, à l'exception de certains *Nocardia*, par leur acido-résistance. Cette famille est représentée par le seul genre *Mycobacterium* qui comprend des espèces pathogènes dont la plus connue est *M.tuberculosis*, agent de la tuberculose (**Stanier, 1966**).

#### I.5.2. Les *Actinomycétacées* (ou *Proactinomycètes*)

Cette famille représentée par les genres *Nocardia* et *Actinomyces* occupe une position intermédiaire entre les mycobactériacées caractérisées par une structure bactérienne et les streptomycétacées caractérisées par une structure pseudo mycélienne. Elle diffère des mycobactériacées par sa croissance presque entièrement mycélienne avec toutefois une tendance variable à la segmentation. Elle diffère des *Streptomycétacées* par l'absence de conidies (**Stanier, 1966**).

#### I.5.3. Les *Streptomycétacées*

Cette famille est caractérisée par une structure mycélienne permanente. La reproduction se fait par conidies et rappelle, pour cette raison, celle des champignons. Le genre *Streptomyces* est très répandu dans le sol où il représente souvent 70 à 90 % des actinomycètes. Il se distingue des *Nocardia* par leur mycélium végétatif persistant quel que soit le stade de développement et une reproduction par des conidies en chaîne. Les colonies de *Streptomyces*

comprennent un mycélium végétatif très serré, implanté dans le milieu et un mycélium aérien, plus lâche, d'aspect poudreux, formé d'hyphes terminés par des conidies en chaînes. Le genre *Micromonospora* est caractérisé par un développement faible ou nul du mycélium aérien; les conidies, isolées ou en grappes, sont portées directement par le mycélium végétatif. Les différentes espèces, pour la plupart thermophiles, se développent surtout dans les fumiers et les composts (Fig. 3) (Stanier, 1966).

#### I.5.4 Les Actinoplanacées

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

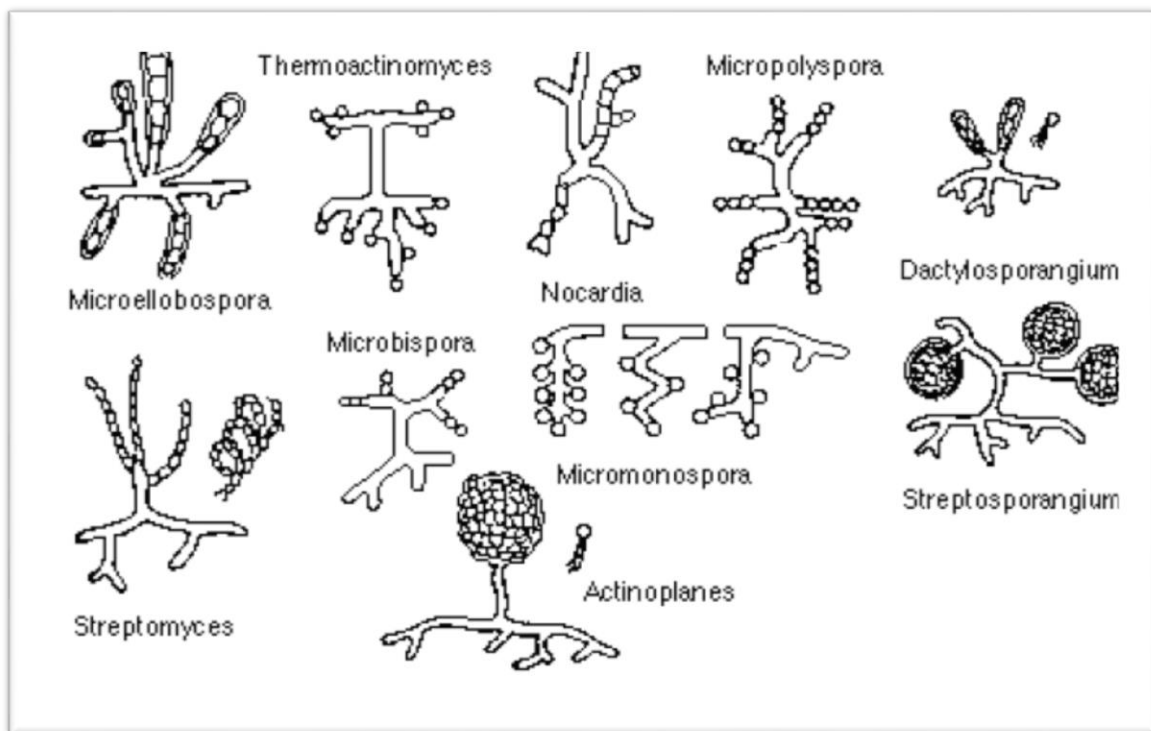


Figure 3. Principaux groupes d'Actinomycètes (Stanier, 1966).

#### I.6. Cycle de développement des Actinomycètes (exemple type : *Streptomyces spp*)

Les Actinomycètes possèdent une structure de procaryotes mais un cycle biologique semblable à certains champignons (Floyd et al., 1997; Sanglier et Trujillo, 1997).

Le genre *Streptomyces*, c'est le genre d'Actinomycètes le plus abondant et surtout le plus performant dans la production de métabolites secondaires importants. Les *Streptomyces* sont donc des organismes procaryotes qui possèdent une structure filamenteuse. Cela explique leur

dénomination : Du Grec Strepto.myces : *Streptos* : tordu ou courbe et *myces* : champignons (Williams *et al.*, 1989).

A cause de leur structure filamenteuse, les *Actinomycetes* y compris les *Streptomyces* ont longtemps été sujets à controverse a propos de leur nature : certains les considérant comme des bactéries filamenteuses, d'autres comme des champignons. Aujourd'hui, ce problème est résolu et ce groupe est définitivement classe parmi les bactéries.

Le genre *Streptomyces* possède un cycle de développement complexe.

- sur milieu solide :

Il débute par la germination d'une spore qui donne naissance a un mycelium primaire forme d'hyphes non septes et plurinucléés, ramifie et ancre dans le milieu solide (Hodgson, 1992). La germination de spores comprend quatre étapes : l'activation, l'initiation, l'émergence du tube germinatif et sa croissance (Fig. 4), pour lesquelles le degré hygrométrique joue un rôle important. Parfois, l'activation peut être déclenchée par un choc thermique, par exemple un traitement de 5 minutes à 50°C pour les spores de *Streptomyces viridochromogenes*. Puis le tube de germination croit et donne des hyphes qui se ramifient de manière apicale, l'ensemble de la colonie se développe de manière radiale. Le mycélium primaire est ancre dans le support solide dans lequel il puise ses nutriments. C'est cette morphologie qui lui permet l'utilisation des substances solides dans les sols, ce qui permet aux *Streptomyces* la colonisation des substrats solides en comparaison avec les microorganismes unicellulaires et immobiles (Miguel *et al.*, 2000).

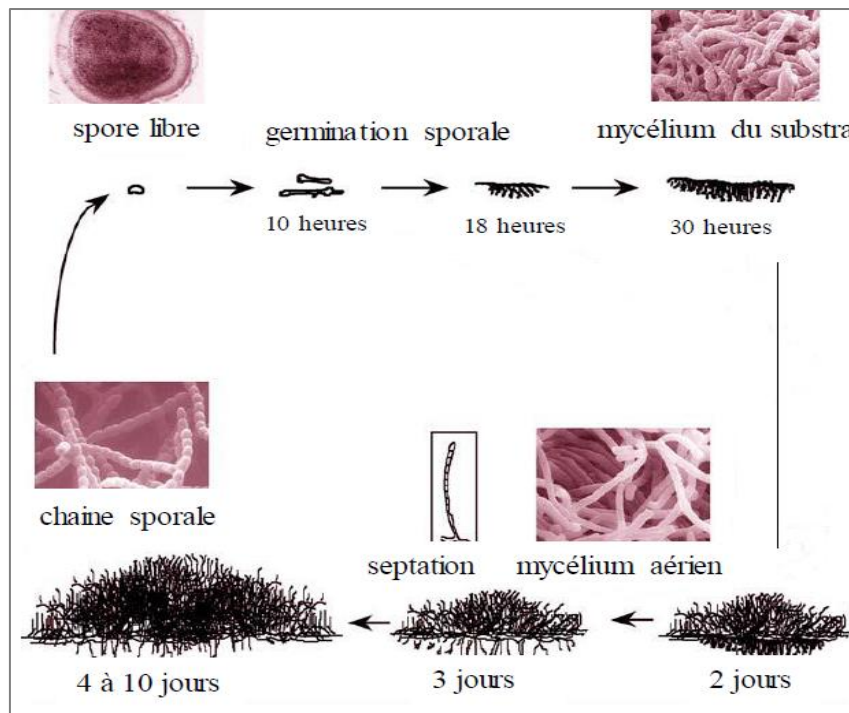
Une fois les nutriments épuisés, des branches spécialisées émergent a la surface des colonies formant le mycélium aérien qui se développe verticalement dans la partie aérienne. Une fois développé, le mycélium aérien couvre les colonies de surface en leur donnant un aspect poudreux, compact, poilu ou en chou fleur. C'est a cette étape la que la production de métabolites secondaire est généralement déclenchée (Viollier *et al.*, 2001).

La formation du mycélium aérien est influencée par plusieurs facteurs, notamment : la composition du milieu de croissance, la température d'incubation et la présence de composés stimulant spécifiquement le mycélium aérien (Pine, 1970; Madigan et Martinko, 2007). Généralement, le mycélium aérien est plus épais et moins ramifié que le mycélium de substrat (Silvey et Roach, 1975), hydrophobe et contenant des pigments qu'on ne retrouve pas dans le mycélium végétatif. Le mycélium aérien se développe sur un milieu épuisé, ainsi pour croître, les cellules utilisent les éléments issus de la dégradation du mycélium végétatif. Cependant,

les hyphes morts ne disparaissent pas complètement mais restent comme une partie de la structure coloniale ou elle joue un double rôle : support mécanique pour le mycélium aérien et conducteur d'eau et de solutés à travers la colonie (**Miguelé et al., 2000 ; Fernandez et Sanchez, 2002**). Les extrémités des hyphes aériens se cloisonnent et se différencient pour former de chaînes de spores uni nucléées ; ces spores sont des agents de résistance et surtout de dissémination (**Hodgson, 1992**), ce qui règle le problème de l'immobilité du mycélium de substrat (**Miguelé et al., 2000**). Les conidies peuvent, suivant les espèces, être produites en courtes ou longues chainettes qui peuvent être ramifiées ou non, droite ou en spirales. Elles contiennent la plupart des éléments du mycélium primaire : Des ribosomes dissociables en sous-unités 30S et 50S, un système membranaire intracytoplasmique, des vacuoles, une membrane cytoplasmique, une paroi plus épaisse qui peut contenir jusqu'à trois couches mais leur contenu du génome est plus riche en ADN et moins en ARN que celui du mycélium de substrat. Ces spores contiennent des quantités plus importantes de potassium, de calcium et de manganèse que dans le mycélium de substrat et englobent souvent des pigments. Leur contenu en tréhalose, relativement abondant, aurait un rôle dans la dormance et la résistance des spores (**Mc Bride et Ensign, 1986**).

- En milieu liquide :

Les cellules se développent uniquement sous forme de mycélium primaire, même si certaines souches peuvent sporuler dans cet environnement (**Madigan et Martinko, 2007**). En milieu solide, une différenciation morphologique est donc observée tandis qu'en milieu liquide la différenciation est généralement physiologique (Activation d'un métabolisme secondaire dans le cas d'un stress nutritionnel ou environnemental ralentissant significativement la croissance) (**Hodgson, 2000**).



**Figure 4.** Cycle de développement de *Streptomyces griseus* (Horinouchi, 2002).

### I.7. Génétique et structure de l'ADN des Actinomycètes

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. Les bactéries Actinomycétales possèdent un remarquable degré de variabilité génétique due à des réarrangements du génome à cause de plusieurs types de mutations essentiellement chromosomiques, les plasmides peuvent aussi être sujets à des réarrangements. A la suite de croisements des Actinomycètes, des parties du chromosome de la souche donneuse peuvent devenir plasmides dans la souche receveuse. Ces derniers jouent un rôle de régulation dans la synthèse des antibiotiques. Il est rare de trouver des gènes codant pour la biosynthèse d'antibiotiques localisés sur le plasmide. Ils sont normalement chromosomiques, regroupés en plusieurs unités de transcription, ils ont pour voisinage des gènes de régulation spécifiques (Larpent et Sanglier, 1989).

Les genres d'Actinomycètes peuvent être définies par l'étude du coefficient de Chargaff ou GC % (tableau 3), qui représente le nombre de paires de base Guanine Cytosine pour 100 paires de base dans l'ADN, les espèces ne sont pas identifiées par cette technique. Historiquement, la classification des bactéries était basée sur la similarité des caractères phénotypiques. Bien que cette méthode ait donné toute satisfaction, elle est coûteuse, lente et

pas assez précise pour permettre la distinction entre les organismes les plus proches. L'étude des acides nucléiques a apporté des renseignements plus précis (Williams *et al.*, 1989). Des auteurs insistent cependant, sur la nécessité de jumeler les études phénotypiques et moléculaires pour une identification encore plus précise (Goodfellow *et al.*, 2004).

**Tableau 3.** Différentes valeurs de GC % rencontrées dans le groupe d'Actinomycètes (Williams *et al.*, 1989).

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



*CHAPITRE II*

*Intérêts des*

*Actinomycètes*



### Intérêts des *Actinomycètes*

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

#### II.1. *Actinomycètes* en biotechnologie

Leur importance et leur utilisation en biotechnologie relève du fait de leur capacité de synthétiser différents métabolites secondaires biologiquement actifs (**Mincer et al., 2002; Behal, 2003; Overbye et Barrett, 2005; Baltz, 2008**) comme les antibiotiques, les herbicides (phénitricine), les pesticides (antimycine A), les insecticides (mikkomycine), les anti-parasites, anti-tumoraux, des antiviraux et des agents immunosuppresseurs. Parmi ces composés, les antibiotiques tiennent une place importante en nombre et en importance thérapeutique et commerciale (**Oskay et al., 2004**). Les *Actinomycètes* ont de grands génomes et utilisent 5 à 10% de leur ADN pour la production de métabolites secondaires (**Baltz, 2008**).

##### II.1.1. Les antibiotiques

Parmi les espèces appartenant aux différents genres d'*Actinomycètes*, les *Streptomyces* sont les plus importants producteurs d'antibiotiques et autres métabolites secondaires (**Sanglier et al., 1993; Anderson et Willington, 2001**), parmi les antibiotiques synthétisés par les *Actinomycètes* : les b-lactamines, les tétracyclines, les macrolides, les polypeptides, ansamycines, les polyènes.

**Tableau 4.** Quelques exemples d'antibiotiques produits par les *Actinomycètes*.

<i>Actinomycètes</i> producteurs	Antibiotiques	Références
<b>1. Les agents antibactériens</b>		
<i>Micromonosporasp.</i>	Clostomycine	<b>Takahashi et al., 2003</b>
<i>Streptomycesgriseus</i>	Candicine	<b>Jinenez et al., 2009</b>
<i>Streptomyceslydicus</i>	Streptolydigne	<b>Liu et al., 2007</b>
<i>Streptomycelindensis</i>	Rétamycine	<b>Inoue et al., 2007</b>
<i>Marinisorasp.</i>	Marinomycine	<b>Sturdikova et Sturdik, 2009</b>
<i>Verrucosisorasp.</i>	Abyssomycine	<b>Sturdikova et Sturdik, 2009</b>
<b>2. Les agents antifongiques</b>		
<i>Streptomycesgriseochromogenes</i>	Blasticidine	<b>Fukunagak et al., 2008</b>
<i>Streptomyceshumidus</i>	Phénylacétate	<b>Hwang et al., 2001</b>
<i>Nocardiatransvalensis</i>	Transvalencine	<b>Mukai et al., 2006</b>
<i>Streptomycesnodosus</i>	Amphotéricine B	<b>Carle et al., 2003</b>
<b>3. Les bioherbicides et bioinsecticides produits par les <i>Actinomycètes</i></b>		
<i>Saccharopolysporaspinosa</i>	<b>Insecticide neurotoxique :</b> Spinosad.	<b>Williamson et al., 2006</b>
<i>Actinomadurasp.</i>	<b>Herbicides :</b> 2,4-Dihydro-4-( $\beta$ -D- ribofuranosyl)-1,2,4(3H)- triazol-3-one	<b>Schmitzer et al., 2000</b>
<i>Streptomyceshygroscopicus.</i>	Herbimycine	<b>Omura et al., 2006</b>

### II.1.3. Agents immunosuppresseurs

La cyclosporine a été découverte à l'origine comme un peptide antifongique à spectre étroit (**Borel et al., 1976**). La découverte de son activité immunosuppressive a conduit à son utilisation dans les transplantations d'organe soit cardiaques, hépatiques, rénales ou autres. Bien que la cyclosporine A soit le seul produit sur le marché depuis de nombreuses années, deux autres produits par des actinomycètes, il s'agit de FK-506 (tacrolimus) (**Kino et al., 1987**) et de la rapamycine (**Vezina et al., 1975**), les deux agents antifongiques à spectre étroit qui, comme immunosuppresseurs, sont 100 fois plus puissants que la cyclosporine et moins toxiques. Ces agents agissent en interagissant avec une protéine intracellulaire (une immunophiline), formant ainsi un nouveau complexe qui perturbe sélectivement les événements de transduction du signal de l'activation des lymphocytes (**Arnold L., 2016**).

### II.1.4. Les anti-tumoraux

Les *Actinomycètes* sont connues pour être des producteurs d'un grand nombre de médicaments antitumoraux cliniquement utiles tels que les anthracyclines (aclarubicine, daunomycine et doxorubicine), les glycopeptides (bléomycine et actinomycine D), les acides auréliques (mithramycine), les enediynes (néocarzinostatine), les antimétabolites (pentostatine), la carzinophiline, les mitomycines et autres. Depuis le développement de la technologie de l'ADN recombinant, un certain nombre de grappes de gènes biosynthétiques antitumoraux ont été isolés et caractérisés par des actinomycètes (**Carlos Olano et al., 2009**).

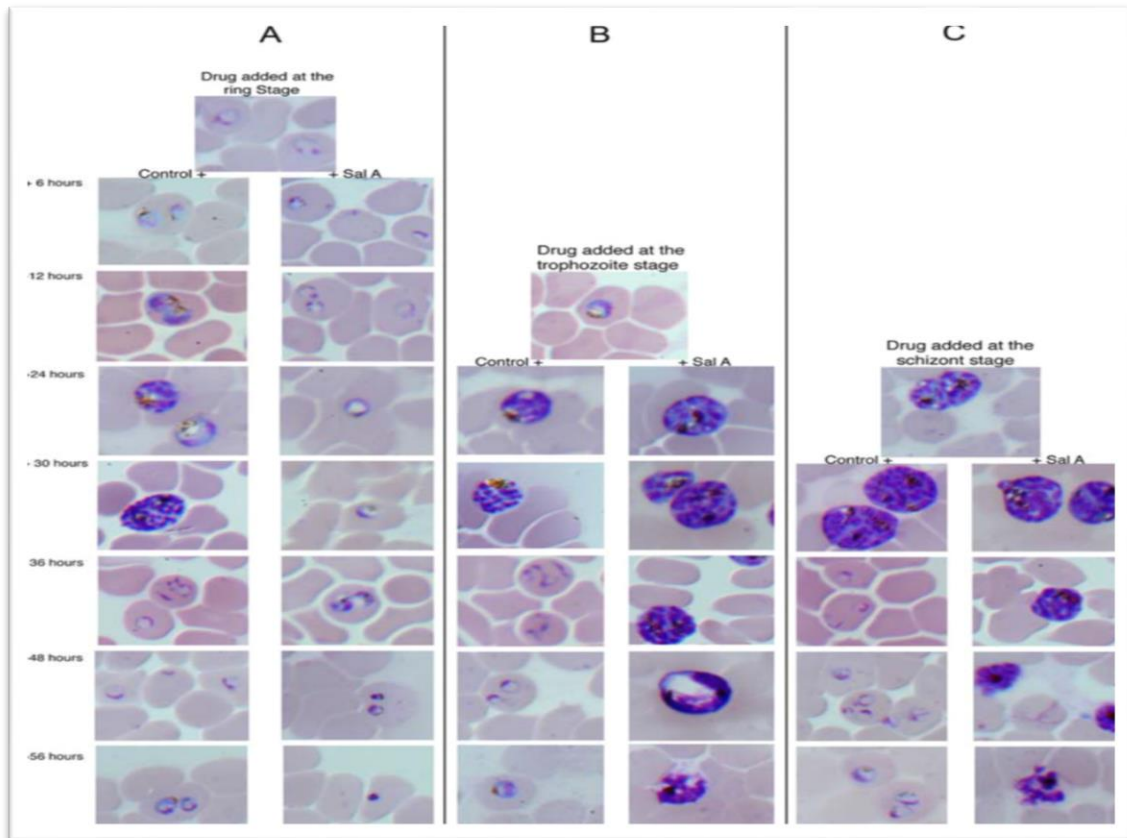
Il s'agit notamment du salinosporamide A anticancéreux isolé de *Salinispora tropica*, qui est en phase clinique II pour le traitement du cancer (**Maldonado et al., 2005; Fenical et al., 2009**).

**Tableau 5.** Quelques exemples d'antitumoraux produits par les *Actinomycètes*.

<i>Actinomycètes producteur</i>	<i>Antitumoraux</i>	<i>Références</i>
<i>Asterobactine</i>	<i>Nocardiaasteroides</i>	<b>Nemoto et al., 2002</b>
<i>Salinosporamide A</i>	<i>Salinisporatropica</i>	<b>Fenical et al., 2006</b>
<i>Mechercharmycine</i>	<i>Thermoactinomycessp</i>	<b>Kanoh et al., 2005</b>
<i>Marinomycine</i>	<i>Marinosporasp</i>	<b>Kwon et al., 2006</b>
<i>Borrelidine</i>	<i>Streptomycessp</i>	<b>Vino et Lokesh, 2008</b>
<i>IB-00208</i>	<i>Actinomadurasp</i>	<b>Malet-Cascon et al., 2009</b>

### II.1.5. Les anti-parasites

Les résistances aux médicaments dans le parasite du paludisme humain, *P. falciparum*, ont également été observées in vitro. Il s'agit notamment du salinosporamide A, est un composés antitumoraux et immunosuppresseurs isolé de *Salinispora tropica* (**Maldonado et al., 2005; Fenical et al., 2009**).



**Figure 5.** Effet du salinosporamide A sur la morphologie du parasite. Les parasites ont été synchronisés deux fois à l'aide de la méthode du sorbitol. Le salinosporamide A a été ajouté au cycle IC80 à l'anneau (A), au trophozoïte (B) ou au schizont (C). Les changements morphologiques ont été observés toutes les 6 ou 12 heures par examen microscopique (Jacques Prudhomme, 2008).

## II.2. Actinomycètes en agronomie

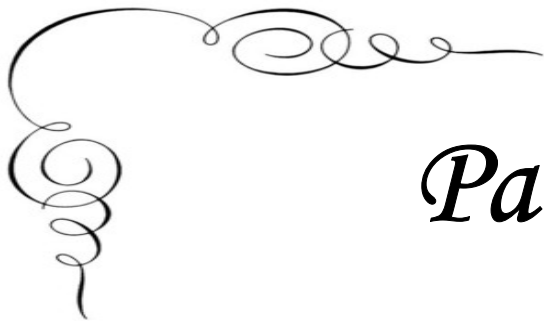
Les *Actinomycètes* ont été et restent la source la plus fructueuse de microorganismes pour tous les types de métabolites bioactifs, y compris le type agroactif. Le nombre énorme de métabolites agro-actifs produits par les *Actinomycètes*, jouent un rôle important dans l'agriculture en tant qu'agents de lutte contre une grande variété de pathogènes végétaux et la fixation d'azote atmosphérique.

Un microorganisme qui colonise les racines est idéal pour être utilisé comme agent de lutte biologique contre les maladies transmises par le sol (Weller D. M., 1988). Les *Actinomycètes*, en particulier *Streptomyces*, sont qualitativement et quantitativement importants dans la rhizosphère où ils colonisent activement les racines végétales (Crawford et al., 1993; Doumbou et al., 2001) La rhizosphère des plantes comprend des quantités variables

d'actinomycètes. On peut supposer que la sécrétion de composés antibactériens et antifongiques joue un rôle important dans les habitats naturels (**Kutzner, 1981**).

La compétence de Rhizosphère a été utilisée par **Schmidt (1979)** en relation avec le rhizobium, analysent les microorganismes du sol qui présentent une croissance accrue en réponse au développement des racines végétales. Dans ce contexte, les microorganismes compétents en rhizosphère sont ceux qui montrent l'effet classique de la rhizosphère. Le terme «rhizosphère» a été utilisé par rapport aux agents de lutte biologique, et **Baker (1991)** l'a redéfini comme la capacité d'un microorganisme, appliqué par traitement des semences, à coloniser la rhizosphère des racines en développement, une définition qui ne diffère pas sensiblement de celle-ci Proposé par **Schmidt (1979)**.

Les rôles biologiques des enzymes oxydatives peuvent être similaires à ceux qui se trouvent dans les champignons. Ces rôles sont principalement dans la dégradation des composés phénoliques pour soutenir un cycle de vie saprophyte ainsi que certaines enzymes oxydantes jouant un rôle dans la morphogenèse ou la production d'antibiotiques (**Le Roes-Hill M. et al., 2009**).



*Partie*

*Expérimentale*





# CHAPITRE III

*Matériel et*

*méthodes*

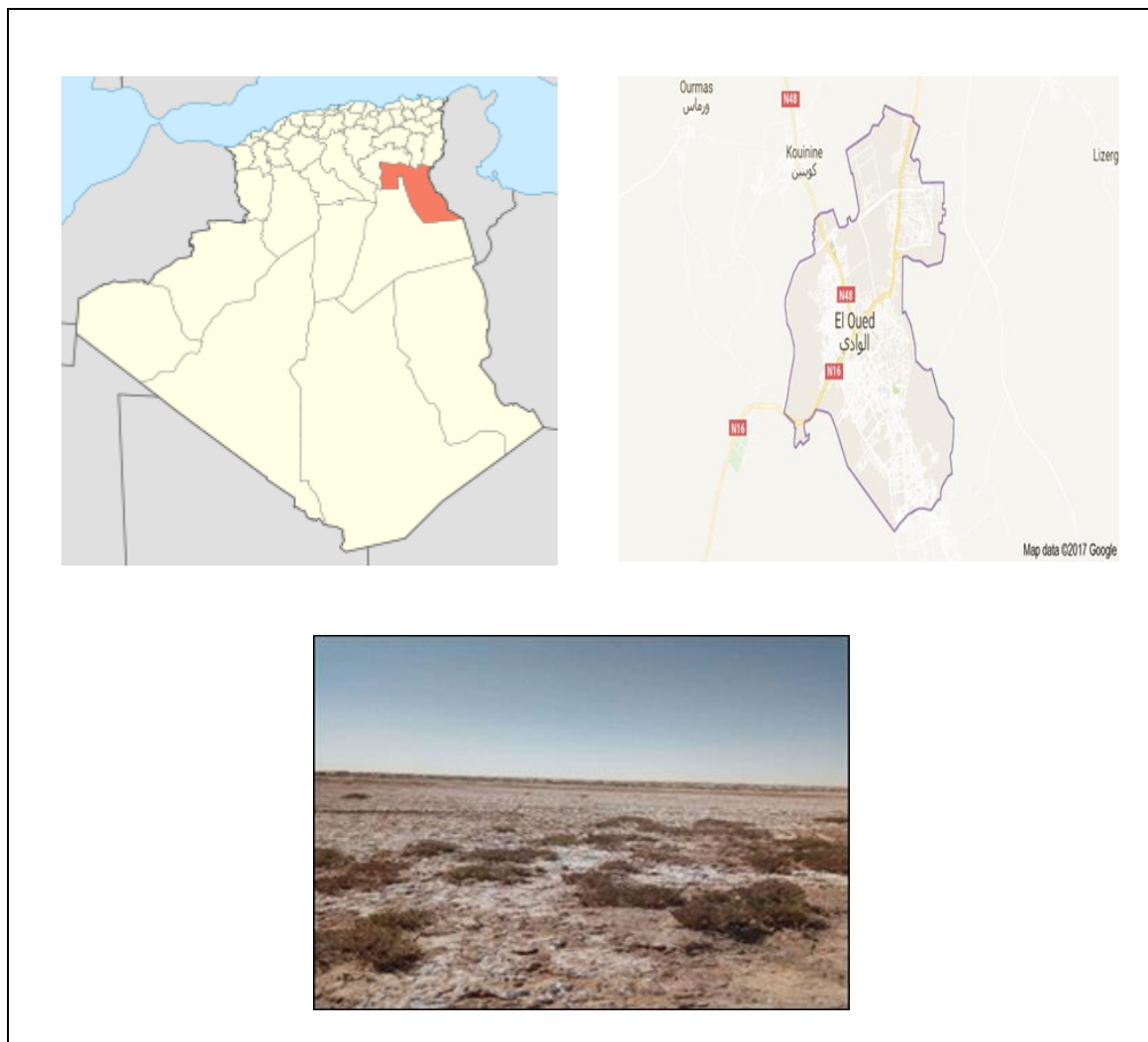


## Matériel et méthodes

### III.1. Echantillonnage

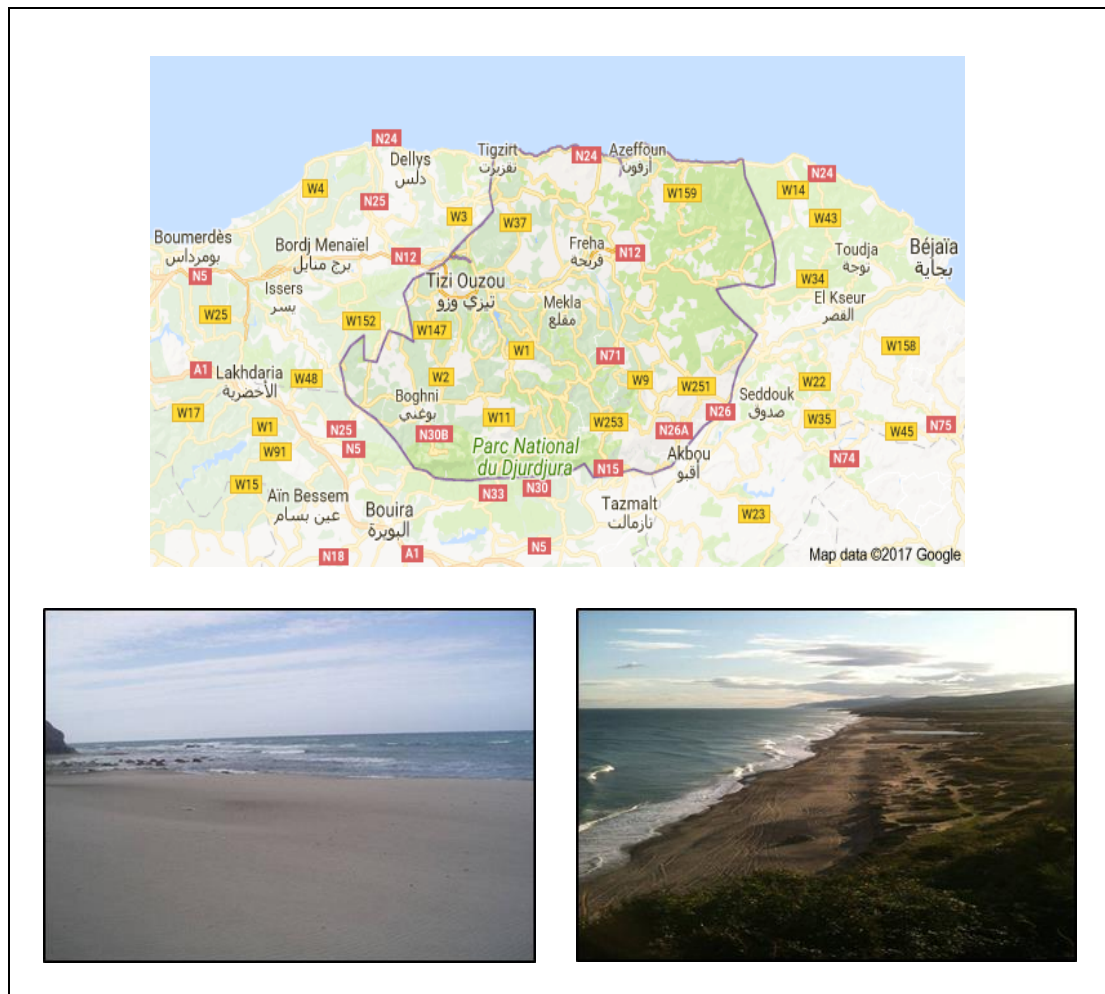
Les échantillons utilisés dans ce travail pour l'isolement des *Actinomycètes* ont été prélevés à partir de différents biotope (sol et eau marin). Le prélèvement des échantillons ont été réalisé dans des flacons préalablement stériles.

➤ Le sol saharien de la willaya d'El Oued, prélevé dans le mois de février 2017. Elle est située au sud-est de l'Algérie, à 620 km au sud-est d'Alger et à 260 km au nord-est d'Ouargla



**Figure 6.** Site de prélèvement du sol d'El Oued.

➤ L'eau marine de Tizi Ouzou, prélevé dans le mois de mars 2017. Elle est située à 100 km à l'est de la capitale Alger, à 125 km à l'ouest de Béjaïa et à 30 km au sud des côtes méditerranéennes.



**Figure 7.** Site de prélèvement de l'eau marine de Tzi Ouzou.

- L'eau marine de la Tunisie, ville de Sousse (une ville côtière située au nord-est de la Tunisie), prélevé dans le mois de mars 2017.
- L'eau marine de la wilaya de Jijel (une ville située sur la côte méditerranéenne, à 360 km à l'Est d'Alger et à 144 km au nord-ouest de Constantine), prélevé dans le mois d'Avril 2017.
- L'eau marine de la wilaya de Boumerdès (une ville côtière située à 45 km à l'est de la capitale Alger), prélevé dans le mois d'Avril 2017.

### III.2. L'isolement des *Actinomycètes*

#### III.2.1. Préparation du milieu d'isolement

Les deux milieux d'isolement utilisés sont :

- le milieu Olson (Annexe 1) additionnés aseptiquement d'un antifongique : Nystatine a une dose de 50 mg/ml (Cavala et Eberlin, 1994).
- le milieu YMEA (Yeast Malt Extract Agar) (Annexe 1) sans antifongique.

#### III.2.2. Dilution et mise en culture

##### III.2.2.1. Préparation des dilutions

###### ➤ Le sol

10g de sol est introduit dans un 100ml d'eau physiologique stérile ( $\text{Na Cl } 9\text{g.l}^{-1}$ ). Une agitation importante est nécessaire.

Par la suite, 1 ml de cette solution mère est inoculé dans une série de dilution décimale (Fig. 8) de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  d'eau physiologique stérile, à chaque fois l'agitation au vortex est nécessaire. (Hilali et al., 2002).

###### ➤ L'eau de mer

Pour chaque échantillon; 1 ml de solution mère est inoculées dans une série de dilution décimale (Fig. 8) de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  d'eau physiologique stérile, à chaque dilution, une agitation est nécessaire (Hilali et al., 2002).

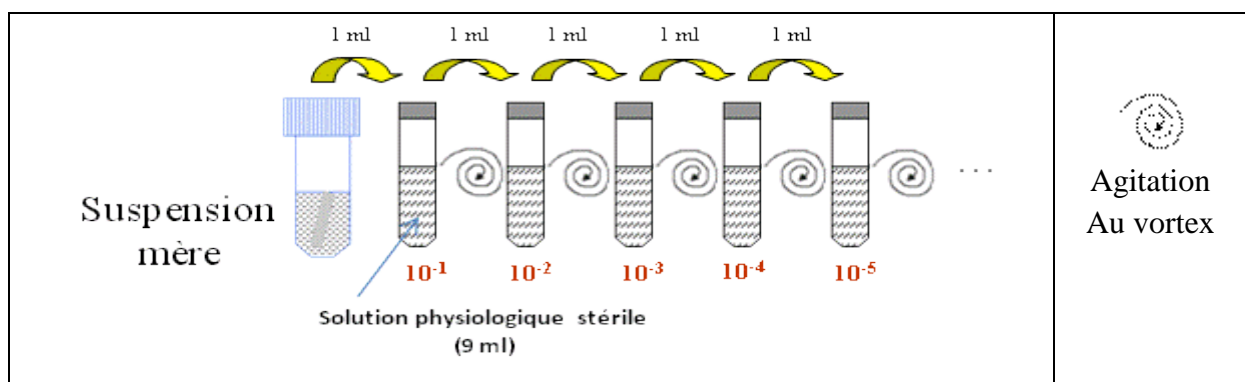


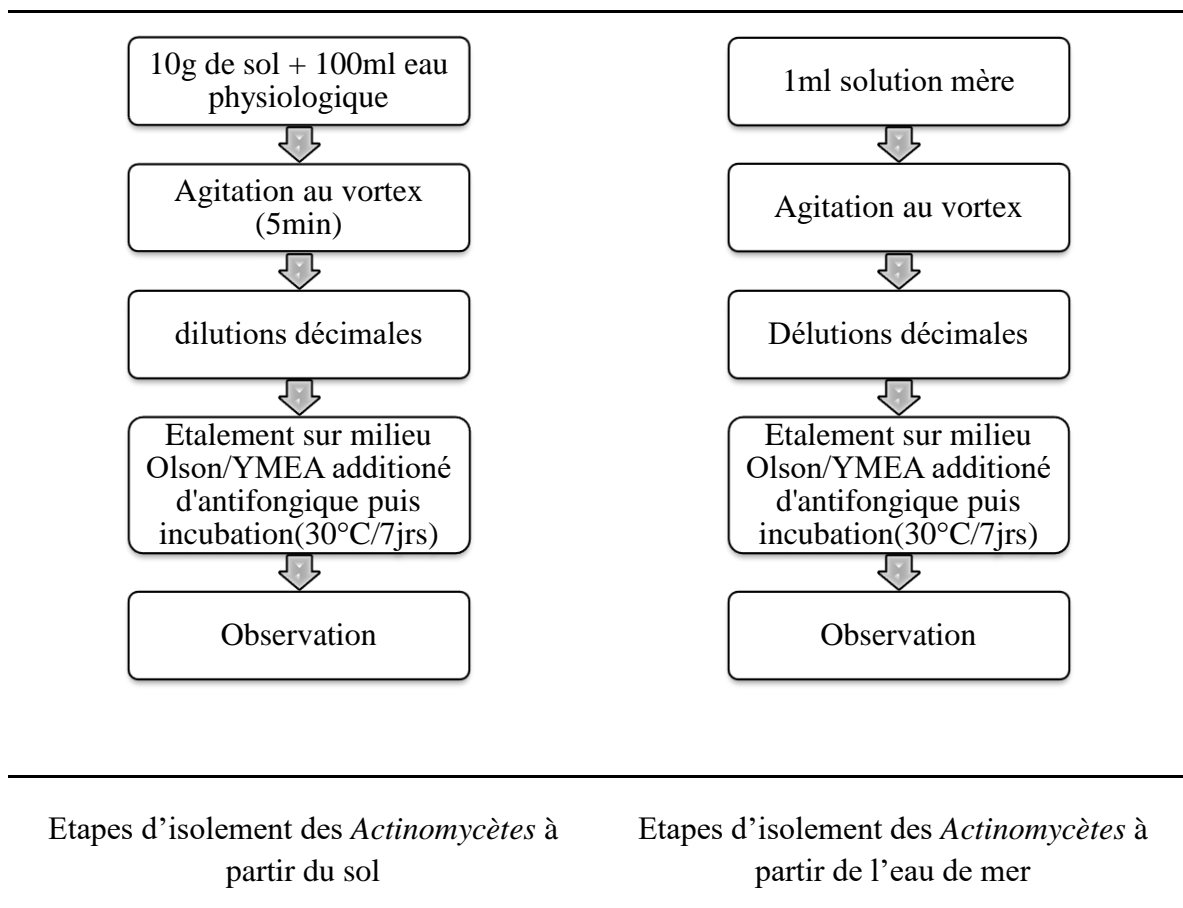
Figure 8. Dilution en série de l'échantillon

### III.2.3. Ensemencement et incubation

Après solidification de la gélose (Olson et YMEA) sur les boîtes de Petri, 0,1 ml de chaque dilution est ensemencé aseptiquement sur toute la surface de la gélose à l'aide d'un râteau en verre. L'incubation des cinq cultures se fait à 30°C pendant une semaine.

### III.3. Lecture et dénombrement

Après une semaine d'incubation, les différentes colonies d'actinomycètes obtenues à partir de deux milieux d'isolement sont reconnues par leur aspect morphologique caractéristique à l'œil nu ; caractéristique macroscopique (colonies dures incrustées dans la gélose, présentant un aspect farineux corné au bord frangé au centre proéminent) (**Girard et Rougieux, 1967**) et confirmé au microscope optique (grossissement×10) selon les normes ISP (*International Streptomyces Project*) (**Shirling et Gottlieb, 1966**) ; caractéristique microscopique (colonies circulaires constituées d'hyphes) (**Williams et Cross, 1971**) (fig.9)



**Figure 9.** Etapes relatives de l'isolement des *Actinomycètes*.

#### III.4. Coloration du Gram

La coloration de Gram est une technique mise au point en 1884 par Hans Christian Gram, un bactériologiste danois. Cette technique permet de diviser les bactéries en deux grands groupes distincts et mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne en but de préciser la morphologie et le mode de groupement des cellules.

Le colorant utilisé est le violet de gentiane qui colore l'intérieur des bactéries. Celles-ci sont ensuite décolorées à l'alcool-acétone. En raison de leur paroi de structure plus épaisse et de composition chimique particulière, les bactéries Gram positives garde la coloration violette. Les bactéries Gram négatives, avec une paroi plus fine et plus perméable à la décoloration, perdent la couleur violette. De manière à visualiser les bactéries Gram négatives, on recolore avec de la fuschine (rose). Les bactéries Gram positives resteront violettes alors que les Gram- seront maintenant teintées en rose.

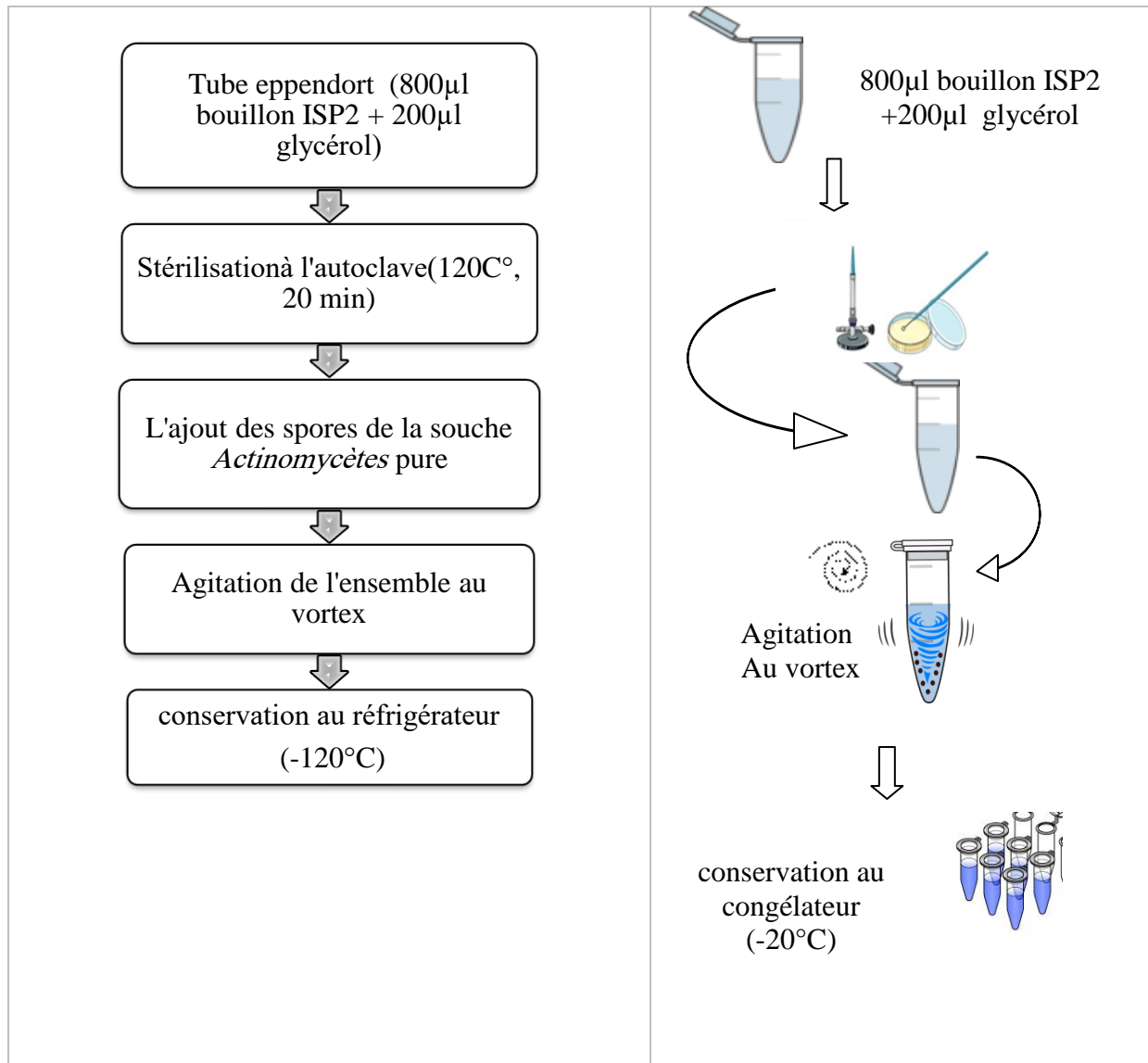
Les *Actinomycètes* sont des bactéries Gram positives, pour cela prennent la coloration violette (**Larpen et Larpen-Gouraud, 1985**).

#### III.5. Purification des isolats d'*Actinomycètes*

Les colonies obtenues sont purifiées par leur repiquage sur milieu d'isolement YMEA additionné de CaCO<sub>3</sub> selon la méthode de stries serrés jusqu'à l'obtention des souches pure à l'aide d'une anse de platine.

#### III.6. Conservation

Il s'agit de conservation à long duré qui consiste a conservé les isolats d'*Actinomycètes*. Chaque isolat pure est inoculée dans un tube d'éppendorf contenant 800 µl de milieu ISP2 (Annexe 1) et 200 µl de glycérol préalablement stérile. L'ensemble est conservé au - 20°C (fig.10).



**Figure 10.** Etapes de conservation des souches pures des *Actinomycètes*.

### III.7. Etude de potentialité antagoniste des isolats d'*Actinomycètes*

La mise en évidence des activités antibactériennes et antifongiques de quelques isolats d'*actinomycètes* isolés à partir de 3 échantillons (sol d'El Oued, l'eau marine de Tizi Ouzou et l'eau marine de Tunisie), a été effectuée par la méthode des cylindres d'agar, préconisée par **Patel et Brown (1969)**.

#### III.7.1. Les souches tests

L'activité antibactérienne des 22 *Actinomycètes* isolés a été réalisé vis-à-vis des six bactéries tests et qui sont : *salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeroginosa*, *Listeria monocytogenese*, *Staphylococcus aureus*, *Acenetobacter pneumonia*. Ce pouvoir

pathogènes contre les bactéries tests a été effectué par la méthode des cylindres d'agar (Ichikawa *et al.*, 1971; Lee et Hwang, 2002) sur le milieu Mueller Hinton (Annexe 1).

**Tableaux 6.** Les souches bactériennes tests

Les Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
	<i>Listeria monocytogenese</i>
Les Gram négatif	<i>Acenetobacter pneumonia</i> ATCC 19606
	Escherichia coli ATCC 25922
	<i>Selmonella</i> sp
	<i>Pseudomonas aeroginosa</i>

### III.7.2. Technique des cylindres d'Agar

Les 22 isolats *Actinomycètes* testées ont étéensemencées en stries très serrées à la surface du milieu YMEA, coulé en boîte de Pétri. Après une bonne croissance à 30°C pendant 07 à 14 jours, des disques d'agar de 06 mm de diamètre contenant l'Actinomycète, sont découpés avec un emporte-pièce et testés contre les bactéries testes.

Les disques d'agar sont déposés à la surface du milieu Mueller Hinton (Annexe1) préalablementensemencé par écouvillonnage avec la souche-cible. Les boîtes de Pétris sont ensuite placées à 4 °C pendant quatre heure permettant une pré-diffusion des substances antibactériennes élaborées par les isolats *Actinomycètes*. Par la suite, les boîtes sont incubées à une température de 37 °C pendant 24 heures (Gungi *et al.*, 1983).

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été effectuée par la mesure du diamètre de zone d'inhibition entre les colonies d'*Actinomycètes* et les bactéries tests.

### III.7.3.Recherche de l'activité antibactérienne

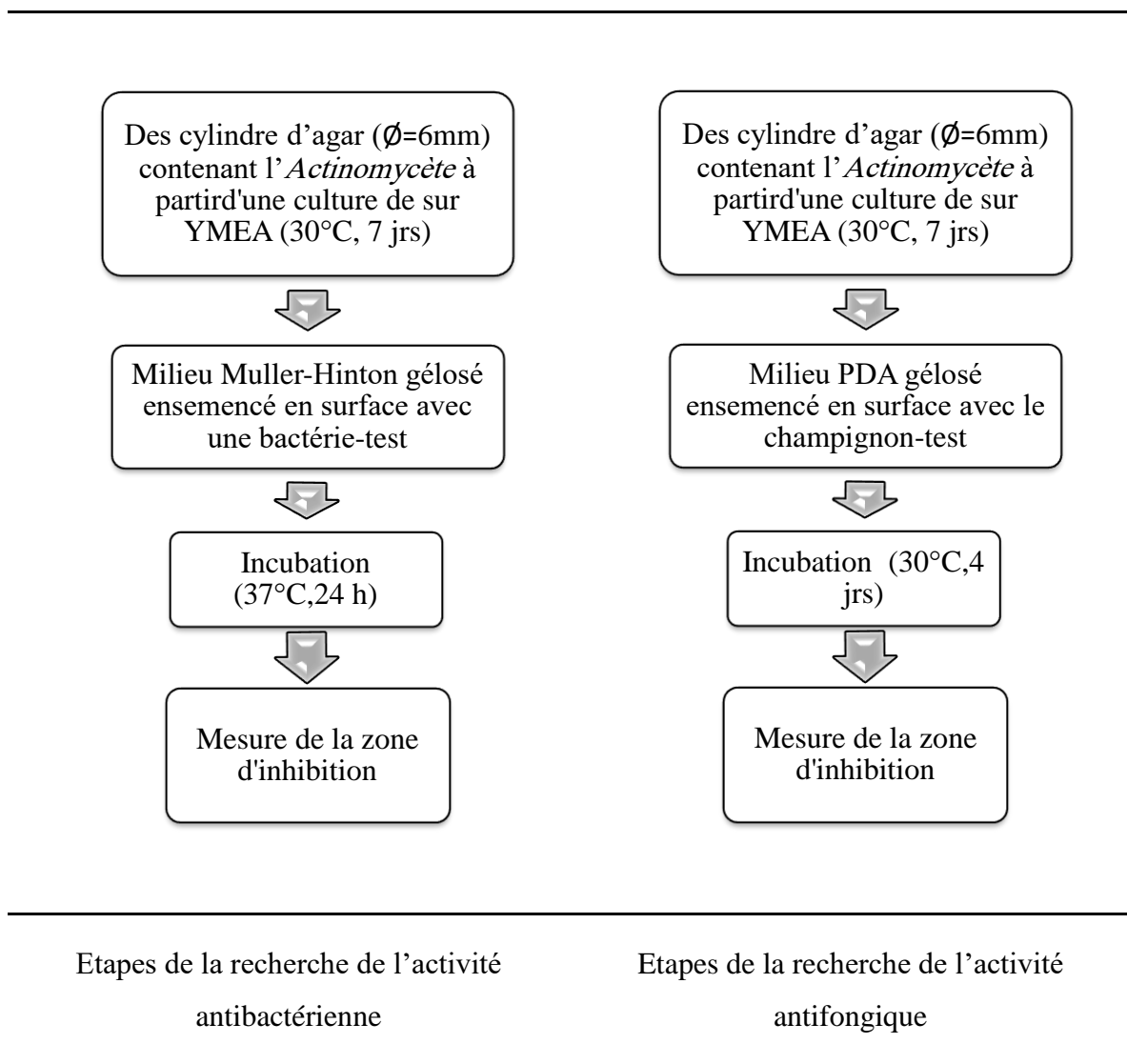
Pour chaque isolat, un inoculum a été préparé à partir d'une culture de 24 heures sur gélose nutritive (Annexe 1). La densité cellulaire de cet inoculum a été ajustée par dilution dans de l'eau physiologique stérile 5 ml, et en comparaison avec la solution Mc Farland (Annexe 2). Ces suspensions bactériennes sontensemencées par écouvillonnage sur toute la surface du milieu de Mueller Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile. Les zones d'inhibition ont été prises après incubation de 24h à 37 ° C (fig.11).

### III.7.4. Recherche de l'activité antifongique

Le test d'activité antifongique est réalisé contre la souche fongique *Aspergillus flavus*. Pour cela, les disques des *Actinomycètes* testés sont déposés intérieur des boites Pétri contenant le milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Annexe 1). Par la suite, des spores de notre champignon ont été prélevées et ensemencé par touche au centre de la boite.

Après un pré -diffusion à 4°C pendant 4 heures. Les boites de Pétri sont ensuite incubées à 30C pendant 4 jours d'incubation (**Thibodeau et al., 2002**).

Le diamètre des zones d'inhibition sont mesurés en millimètre du bord de la souche *Actinomycétale* ou du cylindre d'agar à la limite de la zone où il n'y a pas inhibition du microorganisme cible (**Badji et al., 2005; Boughachiche et al., 2005**) (fig.11).



**Figure 11.** Etapes relatives d'étude de potentialité antagoniste des isolats d'*Actinomycètes*.



# CHAPITRE IV

*Résultats et*

*discussion*



## Résultats et discussion

### IV.1. Isolement et purification des *Actinomycètes*

Ce travail a été réalisé dans le but d'isoler des *Actinomycètes*, doués d'activité antimicrobienne, à partir du sol et eau de mer. Nos échantillons ont été prélevés de différentes régions.

Plusieurs techniques ont été utilisées par des chercheurs pour l'isolement sélectif des *Actinomycètes*. Elles reposent essentiellement sur l'addition aux milieux d'isolement des substances inhibitrices, stoppant la croissance des germes envahisseurs (**Larpent et Sanglier, 1989; Hilali et al., 2002**). C'est cette méthode que nous avons adoptée au cours de notre travail en utilisant la nystatine à une concentration de 50 mg/ml comme antifongique.

Deux milieux de culture ont été utilisés pour l'isolement des *Actinomycètes* (Olson et YMEA) qui sont des milieux appropriés pour l'isolement de ces bactéries.

Le comptage s'effectue à chaque semaine d'incubation à 30°C (Tableau 7). Un total de 132 *Actinomycètes* a été isolé sont purifiés après plusieurs repiquages sur milieu YMEA, conservés sur ISP2 à -120 °C.

**Tableau 7.** Nombre des isolats d'*Actinomycètes* isolés.

Echantillons	Site de prélèvement	Nombre d'isolats	
		Olson	YMEA
01	Sol d'El Oued	09	11
02	Eau de mer Tizi Ouzou	19	18
03	Eau de mer de Tunis	17	09
04	Eau de mer de Jijel	0	26
05	Eau de mer de Boumerdes	0	23
<b>Total</b>		<b>45</b>	<b>87</b>

D'après le tableau 7, un totale de 132 d'isolats d'*Actinomycètes* ont été isolés, parmi les 45 isolats (34.09%) ont été isolé de milieu Olson et 87 isolats (65.9%) ont été isolé de milieu YMEA. Ces résultats ont révélé que le milieu YMEA est le milieu le plus approprié pour l'isolement des *Actinomycètes*. Cette variation due à la composition des milieux, le milieu Olson est moins riche en substances organiques et contient du Propionate de sodium qui agit comme antifongique (**Hilali, 2006**), ce qui favorise la croissance des bactéries parmi lesquelles se trouvent les actinomycètes, par contre le milieu YMEA est additionné de le bicarbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) et plus riche par les substrats carbonés (le glucose) et azotés (extrait de levure), ce qui stimule la croissance des actinomycètes et facilite leurs isolements.. Ceci est corroboré avec plusieurs travaux (**Hayakawa et al., 1988. George et al., 2010**).

D'après nos résultats, on remarque que la plupart des isolats sont apparus après un temps d'incubation d'environ 72 h, ce qui montre que ces isolats pourraient appartenir, entre autre, au genre *Streptomyces*. En effet, les espèces de ce genre ont une croissance relativement rapide (**Goodfellow, 1983**) ; alors que les autres isolats qui ont poussé après 4 et 18 jours ont une forte chance d'être des genres non-*Streptomyces* selon les études menées par **Cross (1982)**.

Dans notre étude, l'eau marine de Tizi Ouzou semblent être le plus riche en bactéries d'*Actinomycètes* 37 isolats (35%) par rapport au reste des régions qui ont été étudiées; Sol d'El Oued 20 isolats (18%), Eau de mer de Tunisie et Jijel 26 isolats (25%) et eau de mer de Boumerdes 23 isolats (22%).

D'après **Tian et al., (2004)** et ainsi **Zitouni et al., (2005)** la variation de nombre d'*Actinomycètes* d'une région à une autre, probablement due à l'influence des différents facteurs environnementale et de la composition chimique du sol et l'eau de mer.

La salinité, le pH, la température, le pourcentage en matière minérale et organique et la nature du l'écosystème influencent largement l'abondance des actinomycètes et affectent la dominance de certains genres par rapport à autres. Ceci a été également constaté dans les travaux de (**Jiang et Xu, 1990; Saadoun et Al Moumani, 1997; Norovsuren et al., 2007**).

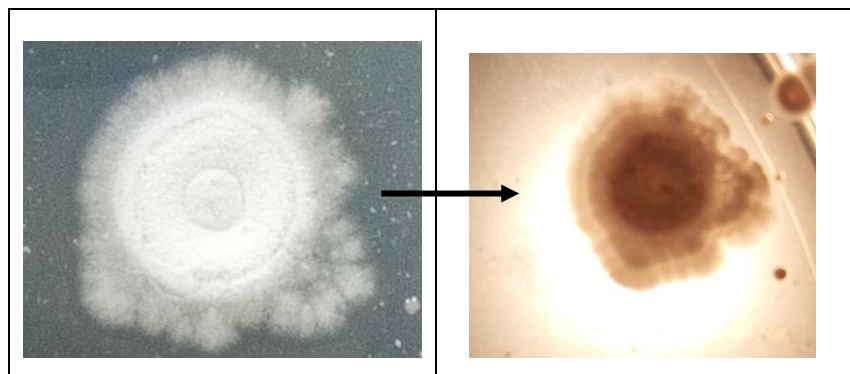
L'azote et le carbone sont les principaux éléments nutritifs présents dans la nature, leur interaction joue un rôle important dans la survie, la croissance et le métabolisme secondaire des microorganismes. C'est ce qui a été rapportés par (**Da Silva et al., 2001**) dans leur travaux.

On constate que le nombre d'isolats d'*Actinomycètes* isolées à partir de l'eau de mer des quatre échantillons (Tizi Ouzou, Tunisie, Jijel et Boumerdes) est 112 isolats inférieur à celui isolé par (Mohan Remya et Ramasamy Vijayakumar, 2008) (173 isolats) en ouest de l'Inde et (Pornpan Ruttanasutja et Wasu Pathom-aree, 2014) (209 isolats) de sédiments marins côtiers de Thaïlande. Mais supérieur à celui obtenu par (Aparanji Poosarla *et al.*, 2011) (6 isolats) des sédiments marins des îles Andaman en Inde.

En ce qui concerne l'échantillon du sol saharien (d'El Oued), un total de 20 *Actinomycètes* a été isolé dont, 09 isolat (45%) et 11 isolat (55%) sur deux milieu Olson et YMEA respectivement. Nos résultats sont supérieur a ceux qui mentionné par Allaoueddine Boudemagh (2007) qui a isoler 05 actinomycètes a partir de trois milieux de culture WYE, Bennett, GLM d'ordre de 00, 02 et 03 isolats.

#### IV.1.1. Etude de l'aspect macroscopique des colonies bactériennes *Actinomycétales*

Les colonies d'*Actinomycètes* ont été reconnues par leur aspect morphologique caractéristique ont été purifiées par repiquage dans le milieu YMEA et incubées à 28 °C pendant 7 jours. Les colonies d'*Actinomycètes* apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, adhérent à la gélose et présentent un mycélium végétatif et aérien, certaines montrent seulement un mycélium du substrat (Boudemagh, 2007).



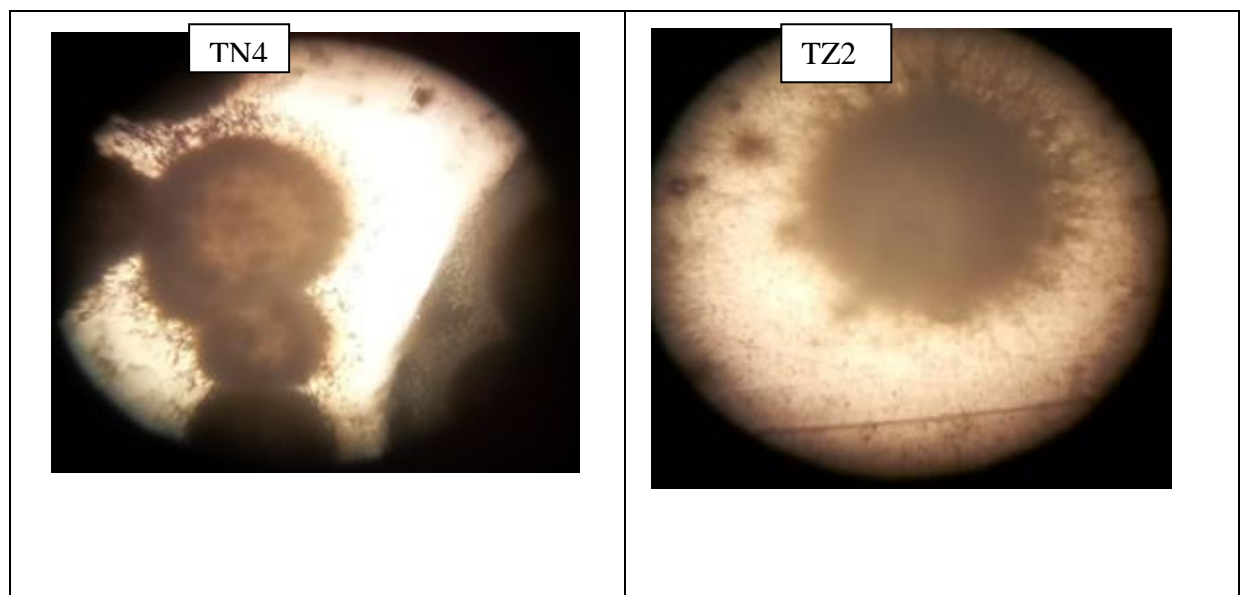
**Figure 12.** Aspect macroscopique d'une colonie d'*Actinomycète* isolé d'échantillon de l'eau de mer de Tunis (grossissement  $\times 10$ ).

On constate que la pluparts des colonies isolées sont sèches, poudreuses et à bords plats. Cette forme est caractéristique des colonies du genre *Streptomyces* d'après **Petrosyan et al. (2003)**, et qui a été confirmé également par **Lechevalier et Lechevalier (1967)**.

#### IV.1.2. Etude de l'aspect microscopique des isolats d'*Actinomycètes*

- **Observation direct d'une colonie au microscope photonique**

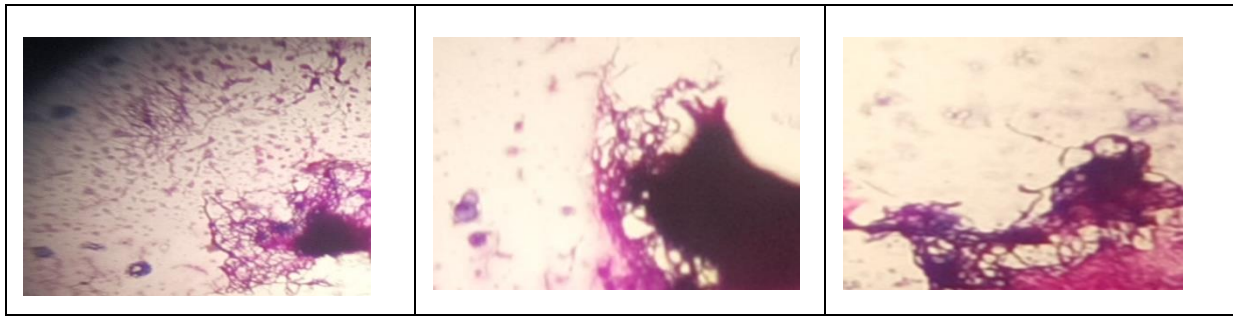
Toutes les isolats d'*Actinomycètes* purifiées se présentent sous forme de filaments fins, ramifiés et enchevêtrés, ces filaments se fragmentent pour certaines ou pas pour d'autres en éléments bacillaires ou ovoïdes. Ils sont regroupés quelques fois en masse pour former des thalles denses.



**Figure 13.** Aspect microscopique de colonies d'*Actinomycètes* constitués d'hyphe sous microscope photonique (Grossissement  $\times 10$ ).

- **Observation après coloration du Gram**

Après observation des frottis colorés avec coloration de Gram au microscope optique à l'objectif à immersion (Grossissement  $\times 100$ ). Il s'est révélé la présence des filaments de forme droite ou spirale, positifs à la coloration de Gram et très fins par rapport à ceux observées chez la plupart des champignons (Fig. 14).



**Figure 14.** Coloration du Gram d'un isolat d'*Actinomycète* (G× 100).

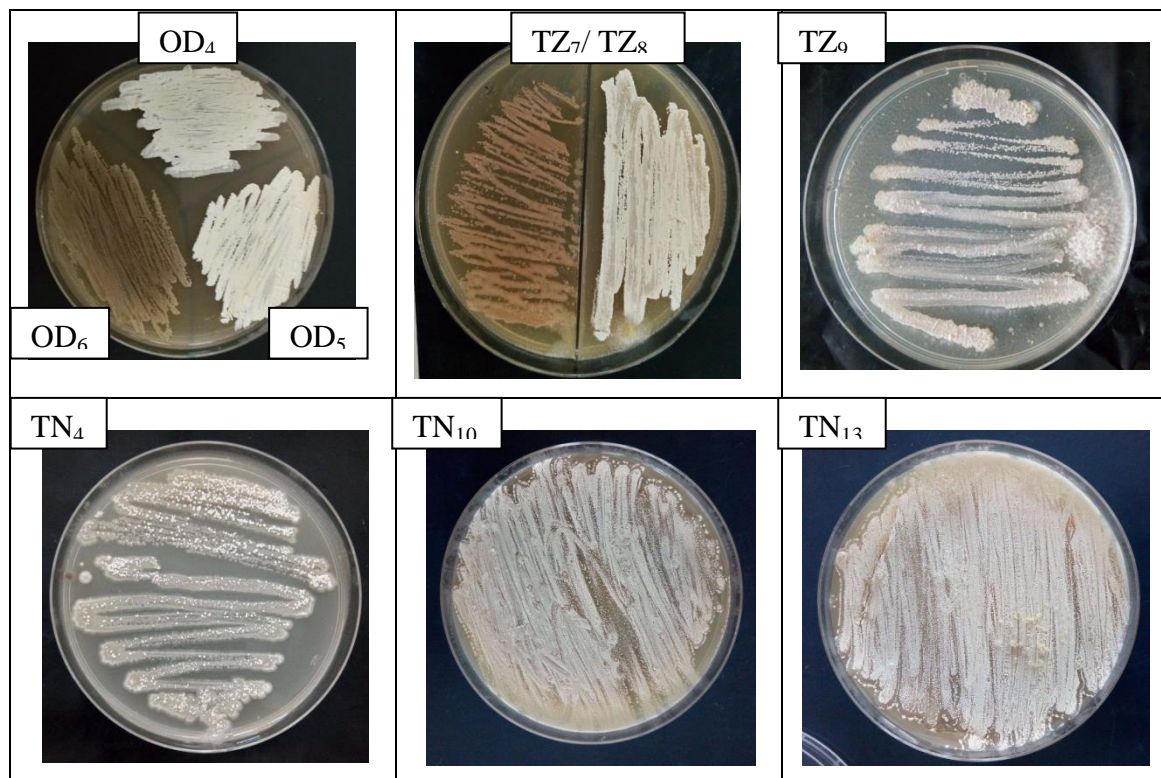
#### IV.1.4. Purification des isolats d'*Actinomycètes*

La purification des Actinomycètes a été réalisée après une période d'incubation de 7 jours à 28°C sur le milieu YMEA additionné de CaCO<sub>3</sub> par la méthode de stries serrés.

L'ajout de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) au milieu choisi pour la purification YMEA, d'après **Lamari (2006)** a pour but d'un agent tampon, neutralise toute acidification du milieu conduisant à une meilleure croissance et stimulation de production d'antibiotique nécessaire à la suite à notre étude de l'activité antimicrobienne de nos isolats.

La reconnaissance des souches d'Actinomycètes a été bien confirmé par leur morphologie caractéristique qui les distingue des autres microorganismes, elles donnent souvent des colonies pigmentées et d'aspect sec. La présence du mycélium aérien rend leur surface poudreuse. Les colonies adhèrent fortement au substrat gélosé.

Leur contour est échancré et parfois porte des fructifications. Leur développement non envahissant et leur taille relativement petite les différencient des champignons (fig. 15).



**Figure 15.** Croissance des souches *Actinomycètes* après purification sur YMEA.

#### IV.2. Etude des activités antimicrobiennes (Méthode de cylindres d'agar)

L'activité antimicrobienne de nos souches a été mise en évidence par la technique des cylindres d'agar. D'après **Tortora et al. (1979)**; cette technique est une méthode de diffusion en milieu gélosé qui permet de détecter l'effet inhibiteur des isolats d'*Actinomycètes* envers les bactéries-tests ainsi que le champignon utilisées.

L'activité antimicrobienne de 22 actinomycètes isolés de l'eau de mer de la Tunisie et de la wilaya de Tizi Ouzou (13 et 6 isolats respectivement) et du sol d'Oued (7 isolats) contre les microorganismes cibles est présente dans le tableau 8.

- **L'activité antibactérienne**

La recherche de l'activité antibactérienne des 22 isolats a été réalisée sur le milieu Muller Hinton. Le choix de ce milieu a été dicté par sa formule, son pH, sa composition notamment la concentration en magnésium et en calcium, ainsi que son épaisseur standardisée permettant une bonne croissance des bactéries-tests et offrant des résultats clairs grâce à sa limpidité.

La concentration de l'inoculum est reconnue comme un des facteurs intervenant dans l'augmentation de la sensibilité de la technique de cylindre d'agar (Brook *et al.*, 1995) et pour cela la comparaison par rapport à la solution de McFarland sera nécessaire.

Dans le but d'accroître encore la sensibilité de la détection, une pré-diffusion des molécules actives dans la gélose ensemencée, a été favorisée par un séjour de 4 heures à 4°C avant l'incubation comme le préconise (Titora *et al.*, 1979).

Le tableau 8 qui représente nos résultats de l'activité antimicrobienne, montre que les *Actinomycètes* isolés à partir de l'eau marine de la Tunisie (TN<sub>10</sub>, TN<sub>13</sub> et TN<sub>12</sub>) qui égale 14% d'*Actinomycètes* actives parmi les 22 isolats testés. Ces trois souches sont les seules qui ont une activité antibactérienne par rapport aux autres isolats qui n'ont aucune activité antibactérienne.

Ce pourcentage (14%) est inférieur de lequel obtenu par Hanan Abd-Elnaby *et al.* (2015) qui ont isolés 17 isolats d'*Actinomycètes* marins parmi lesquels 7 isolats (41%) présentaient une activité antibactérienne.

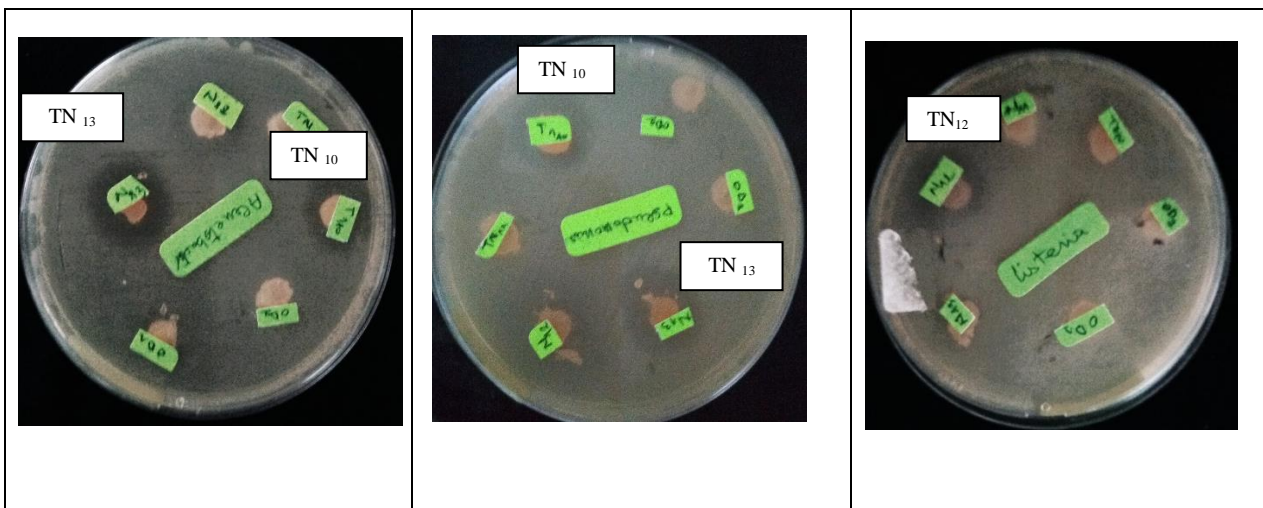
Ce nombre faible des isolats *Actinomycétales* actives pourrait être expliqué par le choix du milieu (YMEA) qui ne semble pas le meilleur pour la production des antibiotiques. En effet, la nature et la concentration des composants du milieu de culture ont un effet remarquable sur la capacité et la quantité de métabolites secondaires produits par le microorganisme producteur (Aharonowitz et Demain, 1978; Omura et Tanaka, 1986; Cheng *et al.*, 1995; Sanchez et Demain, 2002).

D'après le tableau 8, il est très clair que l'activité antibactérienne diffère d'une bactérie test à une autre. L'isolat (TN<sub>12</sub>) inhibe la croissance de bactérie Gram positives seulement avec une zone de 21mm contre la souche *Listeria monocytogenese* et les isolats (TN<sub>10</sub>) et (TN<sub>13</sub>) apparaissent actives uniquement contre les bactéries à coloration de Gram négatives (*Pseudomonas aerogenosa* et *Acinetobacter pneumonia*) en donnant une zone d'inhibition de 13 et 20 mm de diamètre respectivement pour (TN<sub>10</sub>) et de 12 et 20 mm de diamètre

respectivement pour (TN<sub>13</sub>). En effet, la sensibilité vis-à-vis deux différentes bactéries-tests à un même souche active pourrait être expliquée par la production de plusieurs types de molécules antibactériennes d'après **Boughachiche et al., (2005)**. D'autre part, cette activité montrée par ces isolats (TN<sub>10</sub> et TN<sub>13</sub>) était très similaire, probablement en raison du fait qu'elles produisent des antibiotiques de la même famille (**Faviola Cardoso-Martínez1 et al., 2015**).

Egalement, plusieurs travaux ont montré que la nature de la source de carbone, d'azote, et de la source minérale des milieux de culture influence énormément la capacité de production des antibiotiques chez les *Actinomycètes*. Pour cette raison **Mesbah Amina et Mensouri Ahlem (2015)** sont testés, dans leurs études, l'activité antibactérienne des 04 isolats d'*Actinomycètes* sur quatre milieux de culture différents, préconisés pour la détection de métabolites antibactériens et qui ont constaté une grande différence de l'activité en changeant les milieux de culture.

La raison de la sensibilité différentielle entre les bactéries Gram positives et Gram négatives pourrait être attribuée aux différences morphologiques entre ces microorganismes; les bactéries Gram négatives ont une membrane de polysaccharide externe portant les composants structurels des lipopolysaccharides. Cela rend la paroi cellulaire imperméable aux composés lipophiles, d'autre part, seront plus susceptibles, contrairement à les bactéries Gram positives qui n'ont qu'une couche externe de peptidoglycane qui n'est pas une barrière de perméabilité efficace (**Scherrer R. et Gerhardt P., 1971**) (fig.16).



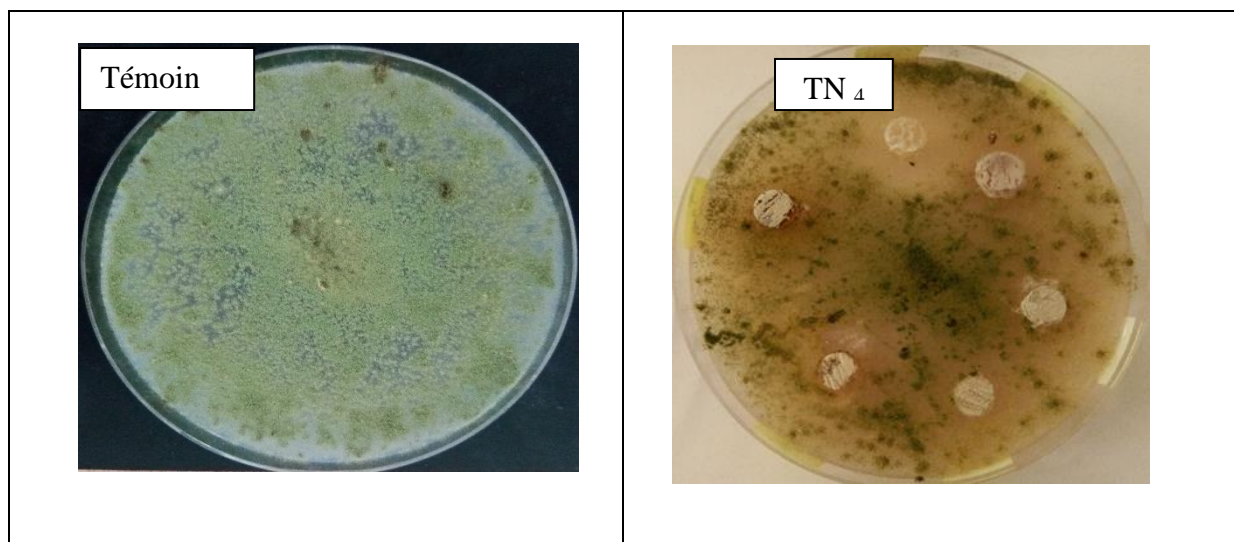
**Figure 16.** Mise en évidence de l'activité antibactérienne des isolats TN<sub>10</sub>, TN<sub>12</sub>, TN<sub>13</sub>.

- **L'activité antifongique**

L'activité antifongique des 22 isolats d'*Actinomycètes* isolée a été mise en évidence sur le milieu de culture PDA par la technique des cylindres d'agar.

Les résultats du dépistage réalisé sur 22 *Actinomycètes* isolés des 03 échantillons (Eau marine de Tunis, Tizi Ouzou et sol d'El Oud) (Tableau 8) ont révélé que seulement une souche isolée (4%) de l'eau marine de Tunis (TN<sub>4</sub>) présente une activité antifongique contre le champignon *Aspergillus flavus* avec une zone d'inhibition de diamètre 20 mm (Fig. 17).

Par rapport aux travaux d'Arulappan Jayaprakash Priya<sup>1</sup> et al (2012), qui ont isolés 84 isolats d'*Actinomycètes* marins, seulement 6 (7%) isolats présentaient une activité antifongique qui concorde ce que nous avons obtenu, au nombre faible de souches productrices d'antifongique uniquement 1 (4%) isolat (fig.17).



**Figure 17.** Sensibilité de champignon *Aspergillus flavus* vis-à-vis l'activité antifongique d'isolats d'*Actinomycète* TN<sub>4</sub>.

**Tableau 8.** Activité antimicrobienne des isolats *Actinomycétales* évalués par la méthode des cylindres d'agar.

Isolats	Bactéries Gram négatif				Bactéries Gram positif		Champignon
	<i>E.coli</i>	<i>Selmonella</i> <i>sp</i>	<i>Pseudomonas</i> <i>aerogenosa</i>	<i>Acinetobacter</i> <i>pneumonia</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Listeria</i> <i>monocytogenese</i>	<i>Aspergillus</i> <i>flavus</i>
TN <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TN <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TN <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-	20
TN <sub>5</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TN <sub>6</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TN <sub>7</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TN <sub>8</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TN <sub>9</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TN <sub>10</sub>	-	-	13	20	-	-	-
TN <sub>11</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TN <sub>12</sub>	-	-	-	-	-	21	-
TN <sub>13</sub>	-	-	12	20	-	-	-
TN <sub>14</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TZ <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TZ <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TZ <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-
TZ <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-	-
OD <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-
OD <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-
OD <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-
OD <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-	-
OD <sub>5</sub>	-	-	-	-	-	-	-



*Conclusion*

*et*

*perspectives*



### Conclusion et perspectives

De nouveaux antibactériens sont absolument nécessaires pour lutter contre le nombre croissant de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques. Les produits naturels demeurent la source la plus propice de ces molécules bioactives.

Les *Actinomycètes* sont bien connues pour leur capacité à bio-synthétiser des métabolites secondaires biologiquement actifs tels que les antibiotiques, les substances favorisant la croissance pour les plantes et les animaux, les inhibiteurs enzymatiques et de nombreux autres composés d'usage pour l'homme qui peuvent avoir plusieurs fonctions dans la nature.

Les *Actinomycètes* marins constituent une source importante et potentielle de nouveaux composés bioactifs (Colwell R. R. et Hill R. T., 1992). Étant donné que les conditions environnementales de la mer sont extrêmement différentes des conditions terrestres, elles produisent différents types d'antibiotiques. Plusieurs antibiotiques ont été isolés des actinomycètes marins par de nombreux chercheurs. Les antibiotiques sont entièrement nouveaux et uniques par rapport à ceux des appareils terrestres (Kokare C. R., 2004).

Au bilan, les résultats obtenus dans la présente étude montrent que :

Cette étude a consisté à isoler les actinomycètes à partir des différents biotopes (le sol et l'eau de mer) et région (Algérie et Tunisie) sur deux milieux de culture (Olson et YMEA). **132 souches *Actinomycétales*** ont été isolées et 22 souches sont purifiées dans cette étude. Parmi cette microflore, 45 souches soit 34 % de cette population ont été isolés à partir de milieu Olson, 87 souches soit 66 % ont été isolés à partir de milieu YMEA. Le milieu YMEA est le milieu de choix pour l'isolement des actinomycètes à partir de ce travail.


L'ensemble des actinomycètes considérés a été testé afin de mettre en évidence l'activité antimicrobienne permise à tester 22 isolats, dont les deux isolats (TN<sub>10</sub>, TN<sub>13</sub>) présentant une activité antibactérienne contre les bactéries Gram négatif *Acinetobacter pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* avec des zones d'inhibition 13, 12, 20 et 20 mm d'ordre respecté. L'isolat (TN<sub>12</sub>) présente une activité antibactérienne contre bactérie Gram positif (*Listeria monocytogenese*) avec une zone d'inhibition 21 mm.

L'activité antifongique des différents isolats d'actinomycètes a été mise en évidence par la technique des cylindres d'agar. Les résultats montrent que sur 22 isolats d'actinomycètes,


seulement une souche (TN<sub>4</sub>) représente une activité antifongique contre un champignon phytopathogène test *Aspergillus flavus* avec une zone d'inhibition de 20 mm.

Les perspectives de nos recherches futures sont les suivants :

- Identifier complètement les isolats d'*Actinomycètes* sélectionnés par une étude taxonomiques, phylogénétiques, et moléculaire.
- Nous projetons à compléter l'extraction de molécules bioactives et de pouvoir les purifier et les caractériser par des techniques chromatographique et spectroscopiques.
- Compléter la purification d'un grand nombre des isolats afin de testé le maximum des isolats d'*Actinomycètes* contre des microorganismes cibles.
- L'élargissement des études des activités de l'activité antimicrobienne des autres échantillons (l'eau marine de Jijel et Boumerdes) pour explorer de nouvelles substances bioactives.



*Références*  
*bibliographiques*



### Références bibliographique

#### A

**Aharonowitz Y., Demain A.L.** (1978). Carbon catabolite regulation of cephalosporin production in *Streptomyces clavuligerus*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 14: 159-164.

**Alexander M.** (1961). Introduction to Soil Microbiology. John Wiley and Sons Inc., New York.

**Anderson, A.L. et Wellington, E.** (2001). The taxonomy of Streptomyces and related genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51, 797–814.

**Aparanji Poosarla, Venkata Ramana L. et R. Murali Krishna (2011).** Isolation of potent antibiotic producing Actinomycetes from marine sediments of Andaman and Nicobar Marine Islands. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*. Vol. 5(1), pp. 6-12, January 2013.

**Arnold L. Demain<sup>1</sup> and Evan Martens** (2016). Production of valuable compounds by molds and yeasts. *The Journal of Antibiotics*.14.pp.2.

**Arulappan Jayaprakash Priya<sup>1</sup>, Elumalai Sagadevan<sup>1</sup>, Perumal Dhanalakshmi<sup>1</sup>, Sivaji Sathish Kumar, Vijayan Karthikeyan and Perumal Arumugam** ( 2012). Detection of Antioxidant and Antimicrobial Activities in Marine Actinomycetes Isolated from Puducherry Coastal Region. *JOURNAL OF MODERN BIOTECHNOLOGY*, VOL. 1, NO. 2, pp 63–69.

#### B

**Badji B , Riba A , Mathieu F, Lebrihi A, Sabaou N.** (2005). Activité antifongique d'une souche d'Actinomadura d'origine Saharienne sur divers champignons pathogènes et toxigènes. *J.Mycol.Méd.* 15(4), 211-219.

**Baker R.,** (1991). Induction of rhizosphere competence in the biocontrol fungus *Trichoderma*. In D.L. Keister and P.B. Cregan (eds.), *Rhizosphere and plant growth*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. Pages 221-228.

**Baltz, R.H.** (2008). Renaissance in antibacterial discovery from actinomycetes. *Curr Opin Pharmacol* 8: 557–563.

**Barksdale L.,** (1970). *Bacteriol. Rev.* 34:378-422.

**Barksdale L., Kim K. S.** (1977). *Bacterial. Rev.* 41 :217-372.

**Borel J.F., Feurer C., Gabler H.U., Stae helin H.** (1976). Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 6: 468-475.

**Boudemagh, A.** (2007). Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine. Algérie. 132 p.

**Boughachiche F, Reghioua S, Oulmi L, Zerizer H, Kitouni M, Boudemagh A, Boulahrouf A.** (2005). Isolement d'actinomycétales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha d'Ain Mlila, *Sci. Technol.* 23, 5-10.

### C

**Carle S., Pharm B.** (2003). Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmactuel.* 36: 25-41. Cavala, M. et T. Eberlin. 1994. Isolement des streptomycètes du sol. L'opéron.

**Carlos Olano, Carmen Mèndez and Jose A. Salas** (2009). Antitumor compounds from actinomycetes: from gene clusters to new derivatives by combinatorial biosynthesis. This journal is the Royal Society of Chemistry, 666, pp.628-628.

**Cavala M. et Eberlin T.** (1994). Isolement des streptomycetes de sol. *L'opéron* 19, 13-17.

**Challis., Hopwood.** (2003). Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species. *Int. Colloquium .vol. 100 suppl. 2 .14555–14561.*

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

**Chun J., Youn H.D., Yim Y. I., Lee H., Kim M. Y., Hah Y.C., and Kang S.O.** (1997). *Streptomyces seoulensis* sp. Nov. *Int., J. Syst. Bacteriol.* 47, 492-498.

**Cowell R.R., Takizawa M. and Hill R.T.** (1992). Isolation and diversity of Actinomycetes in the Chesapeake Bay. *Appl. Environm. Microbiol.* 144, 647-651.

**Crawford., D. L., J. M. Lynch., J. M. Whipps., and M. A. Ousley.** (1993). Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. *Appl Environ Microbiol* 59:3899-3905.

**Cross T.** (1982). Actinomycetes a continuing source of new metabolites. *Development in industrial Microbiology.* 23, 1-8.

### D

**Da Silva Sousa, C., A. C. Fermino Soares et M. da Silva Garrido** (2008). Characterization of streptomycetes with potential to promote plant growth and biocontrol. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* 65 (1): 50-55.

**Djaballah C.** (2010). biodiversité des actinomycetes halophiles et halotolerants isolés de la sebkha d'Ain M' lila. Thèse de magistere. Constantine : université de mentouri, pp 73.

**Doubou., C.-L., V. Akimov., M. Cote., P. M. Charest., and C. Beaulieu.** (2001). Taxonomic study on nonpathogenic streptomycetes isolated from common scab lesions on

potato tubers. *Syst. Appl. Microbiol.* 24, 451-456.

### E

**Ensign J.C.** (1978). Formation, properties and germination of actinomycetes spores. *Annus. Rev. Microbiol.* 32, 185-219.

**Ensign J.C., Normand p., Burden J.P. and Yallop C.A.** (1993). Physiology of some actinomycetes genera. *Rev. Microbiol.* 144, 657-660.

**Eunice J.A. and Prosser J. I.** (1983). Mycelial growth and branching of streptomyces coelicolor.A3 (2) on solid medium. *J. gen. Microbiol.* 129, 2029-2036.

### F

**Faviola Cardoso-Martínez1., Amayaly Becerril-Espinosa1., Celso Barrila-Ortíz1., Mónica Torres-Beltrán., Héctor Ocampo-Alvarez., Ana M. Iñiguez-Martínez1., Irma E. and Soria-Mercado1.** (2015). Antibacterial and cytotoxic bioactivity of marine Actinobacteria from Loreto Bay National Park, Mexico. *Hidrobiológica*, 25 (2), 223-229, pp : 226.

**Fernandez M. et Sanchez J.** (2002) Nuclease activity and cell death processes associated with development of surface culture of *Streptomyces antibioticus* ETH7451. *Microbiology.* 148: 405-412.

**Fenical W, Jensen PR, Palladino MA, Lam KS, Lloyd GK, Potts BC.** (2009). Discovery and development of the anticancer agent salinosporamide A (NPI-0052). *Bioorgan. Med. Chem.* 17: 2175–2180.

**Floyd M. H., Pieper R. L. and Mertz F. P.** (1997). Sporulation of *streptomyces roseosporus* in submerged culture. *J. Ind. Microbiol.* 2, 235-241.

**Fukunagak K., Misatot T., Asakawa M. Blastocidin** (2014). A new Anti-Phytopathogenic Fungal Substance.Part I. *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan.* 19: 181-188.

### G

**Gazenko S. V., Reponen T. A., Grinshpun S. A., Willeke K.** (1998). Analysis of airborne actinomycete spores with flurogenic substrates. *Applied and Environmental Microbiology.* 64: 4410-4415.

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

**Girard H., Rougieux R.** (1967). *Technique de microbiologie agricole*. Ed. Dunod, Paris. pp 216.

**Goodfellow M., and S. T. Williams.** (1983). *Ecology of Actinomycetes*, pp :193.

**Goodfellow, M., and Wayne L. G.** (1972). In *Biology of Mycobacteria: Volume 1 Physiology, Identification and Classification*, ed. C. Ratledge, J. L. Stanford, pp. 472-521. London: Academic.

**Goodfellow M, Jones AL, Maldonado LA, Salanito J.** (2004). *Rodococcus aethrivorans* sp. Nov., a new species that contains methyl-t-butyl etherdegrading actinomycetes. *Syst. Appl. Microbiol.* 27:61-5.

**Goodfellow M., and Williams ST.** (1983). *Ecology of actinomycetes*. *Ann. Rev. Microbiol.* 37, 189-216.

**Gottlieb D.** (1973). General consideration and implication of the actinomycetales. In: *Actinomycetales characteristics and practical importance*. Eds : G. Sykes and F.A. Skinner. Academic press, London, New York.

**Gungi S., Arima K., Beppy T.** (1983). Screening of antifungal antibiotics according to activities inducing morphological abnormalities. *Agricultural and Biological Chemistry.* 47: 2061-2069.

### *H*

**Hanan Abd-Elnaby, Gehan Abo-Elala, Usama Abdel-Raouf, Abeer Abdelwahab & Moaz Hamed** (2015). Antibacterial and anticancer activity of marine *Streptomyces parvus*: optimization and application, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, DOI: 10.1080/13102818.2015.1086280.

**Haslay C., Leclerc H.** (1993). *Microbiologie des eaux d'alimentation*. LGoodfellow M.

**Hawker. L.E., Linton A.H.** (1971). *Mico-organismes*. pp : 325-333.

**Hayakawa, M., Ishizawa, K., and Nonomura, H.** (1988). Distribution of rare actinomycetes in Japanese soils. *J. Ferment. Technol.* Vol: 66. Pp: 367–373.

**Hilali L., Khattabi A., Nssarllah N., Malki N., Finance C.** (2002). Isolement de nouvelles souches d'actinomycetes productrices de substances antifongiques à partir de milieu naturel marocain. *Rev Biol Biotech.* 2: 49-53.

**Hilali L.** (2006). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. Production, extraction, purification de métabolite active et étude taxonomique. Thèse de doctorat: Université Hassa II- Faculté des sciences (Maroc).

**Hodgson D.A.** (1992). Differentiation in actinomycete, dans : Mohan S., Dow C. et Cole J.A. *Prokaryotic structure and function*. Society of General Microbiology Symposium 47.

Cambridge University Press Edition: 407-440.

**Hodgson D.A.** (2000) Primary metabolism and its control in Streptomycetes: a most unusual group of bacteria. *Adv Microb Physiol.* 42:47-238.

**Horinouchi S.** (2002). Antimicrobial hormone, A-factor, as a master switch for morphological differentiation and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*. *Frontiers in Biosciences.* 7: 2045-2057.

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

### I

**Inoue O. O., Netto W., S., Padilla G., Facciotti M.C.R.** (2007). Carbon catabolite repression of retamycin production by *Streptomyces olindensis* ICB20. *Brazilian Journal of Microbiology.* 38: 58-61.

**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.

**Issatchenko et Egorova** (1944). Advances in Taste-and-odor Treatment and Control. livre, p24.

### J

**Jacques Prudhomme<sup>1</sup>, Eric McDaniel<sup>1</sup>, Nadia Ponts<sup>1</sup>, Stéphane Bertani<sup>2</sup>, William Fenical<sup>3</sup>, Paul Jensen<sup>3</sup>, Karine Le Roch** (2008). Marine Actinomycetes: A New Source of Compounds against the Human Malaria Parasite. 9, pp.4.

**Jenkins P. A., Pattyn S. R., Portaels F.** (1982). See Ref. 106, pp. 441-70.

**Jiang, C. L. et Xu, L. H.** (1990). Characteristics of the populations of soil actinomycetes in Yunnan. *Actinomycetes.* 01: 67- 74.

**Jinenez J. T., Sturdikova M., Sturdik E.** (2009). Natural products of marine origin and their perspectives in the discovery of new anticancer drugs. *Acta chimica Slovaca.* 2: 63-74.

### K

**Kanoh K., Matsuo Y., Adashi K.** (2005). Mechercharmycin A et B cytotoxic substance from marine derived *Thermoactinomyces* sp. YM3- 251. *The Journal of Antibiotics.* 58: 289-92.

**Kino T., Hatanaka H., Hashimoto M., Nishiyama M., Goto T., Okuhara M., Kohsaka**

**M., Aoki H., Imanaka M.** (1987). FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces*. Fermentation, isolation and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibiot* 40: 1249-1255.

**Khanna., M., R. Solanki and R. Lal.** (2011). Selective isolation of rare actinomycetes producing novel antimicrobial compounds. *Int. J. Adv. Biotechnol. Res.*, 2: 357-375.

**Kubica G. P., Good R. C.** (1981). See Ref. 104, pp. 1 962-84.

**Kwon H.C., Kauffman C. A., Jensen P.R.** (2006). Marinomycins a-d, antitumor antibiotics of a new structure class from a marine actinomycete of the recently discovered genus *Marinospora*. *Journal of the American Chemical Society*. 128: 1622- 1632.

**Kutzner H. J.** (1981) The family Streptomycetaceae. In the prokaryotes : a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Starr M.P., Stolp H., Truper H.G., Balows A., and Schegel.H. (eds). Berlin : Springer-Verlag KG,pp.

### Ł

**Lamari L.** (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

**Larpent J.P. et Larpent-Gouraud M.** (1985). Manuel pratique de Microbiologie.*Herman. Paris.*

**Larpent J.P., Sanglier J.J.** (1989). Biotechnologie des antibiotiques. Ed. Masson. Paris, 481.

**Lechevalier H.A., Lechevalier M.P.** (1981). Introduction to the order Actinomycetales. In: The prokaryotes, Eds : Starr M. P., H. Stolp, H. G. Truper, A. Ballows and H. G. Schlegel. Springer-Verlag. Berlin. 2, 1915-1922.

**Lechevalier, H.A., Lechevalier, M.P.** (1967). Biologie of actinomycetes. *Ann Rev Microbiol*, 21: 71–100.

**Lechevalier M. P.** (1989). Actinomycetes with multilocular sporangia, 2405 – 2417 in HOLT J G (editor-in-chief), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Volume 4. Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.A.

**Leminor L., Veron M.** (1989). Bacteriologie médicale. 2 ème édition. pp 335-349.

**Le Roes-Hill M., Goodwin C., Burton S.** (2009). Phenoxazinone synthase: what's in a name? *Trends Biotechnol* 27(4):248–258.

**Liu S., Liu S. Y., Lu Z. X.** (2007). Antibacterial activity and property of the fermentation product of marine *Streptomyces* sp GB-2. *Chinese Journal of Biotechnology*. 23: 1077-1081

### M

- M. Goodfellow S. T. Williams** (1983). Ecology of Actinomycetes, pp :193.
- Madigan M. T et Martinko J.M.** (2007) Biologie des microorganismes. *Pearson Education France*, 11e edition : 331-423, 686-718.
- Maldonado L, Stach J, Pathom-aree W, Ward A, Bull A, Goodfellow M.** (2005b). Diversity of cultivable actinobacteria in geographically widespread marine sediments. *Antonie Van Leeuwenhoek* 87: 11–18.
- Malet-Gason L., Romero F., Espliego-Vazquez F., Gravalos D., Fernandez-Puentes J.L.** (2009). IB-00208, anew cytotoxic polycyclic xanthone produced by a marine-derived *Actinomadura*. *The journal of Antibiotics*. 56: 219-225.
- Mariat F., Sebald M.** (1990). Les actinomycètes. In: Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.935-949.
- Mesbah Amina et Mensouri Ahlem** (2015). Étude de l'activité antibactérienne de quatre souches actinomycétales d'origine saharienne. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Spécialité : microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Soutenu Le : 02 /07/2015.
- Mc Bride M.J. et Ensign J.C.** (1986) Effect of intracellular trehalose content on *Streptomyces griseus* spores. *J Bacteriol.* 169(11): 4995-5001.
- Miguel E.M., Hardisson C. et Manzanal M.B.** (2000). Streptomycete : a new model to study cell death. *Inter Microbiol.* 3: 153-158.
- Mincer TJ, Jensen PR, Kauffman CA, Fenical W.** (2002). Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *Appl Environ Microbiol.* 68:5005–5011. doi: 10.1128/AEM.68.10.5005-5011.2002.
- Mohan Remya et Ramasamy Vijayakumar** (2008). Isolation and characterization of marine antagonistic Actinomycetes from west coast of India. *FACTA UNIVERSITATIS. Series: Medicine and Biology* Vol.15, No 1, 2008, pp. 13 – 19.
- Mukai A., Fukai T., Matsumoto Y., Ishakawa J., Hoshino Y., Yazawa K et al.** (2006). Transvalencin Z, a new antimicrobial compound with salicylic acid residue from *Nocardia transvalensis* IFM 10065. *The Journal of Antibiotics*. 59: 366-9.

### N

**Nemoto A., Hoshino Y., Yasawa K., Ando A., Mikami Y., Komkaki H et al.** (2002). Asterobactin, a new siderophore group from *Nocardia asteroides*. *The Journal of Antibiotics*.55: 593-7.

**Niall A., Logan.** (1994). Bacterial Systematics. Pub from Wiley Online Library:30 Jul 2009.

**Norovsuren, Z., G. V. Oborotov, G. M zenova, R. A. Aliev et D. G Znyagintsev** (2007). Haloalkaliphilic actinomycetes in soils of Mongolian desert steppes. *Biol.Bull.* 34 (4): 417-422.

### 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.

**Omura S., Iwai Y., Takahashi Y., Sadakane N., Nakagawa A., Oiwa H et al.**(2006). Herbimycine, a new antibiotics produced by a strain of *Streptomyces*. *The journal of Antibiotics*. 32: 255-261.

**Omura S., Tanaka J.** (1986). Biosynthesis of tylosine and its regulation by ammonium and phosphate. In: Kleinkauf H., Von Dohren. H, Dormaner H., Nesmann G (Eds), Regulation of secondary metabolites. VCH Publishers Inc. Berlin. 306-332pp.

**Osada H.** (1998). Bioprobes for investigating mammalian cell cycle control. *J. Antibiot.* 51:973-981.

**Oskay Mustapha., A. Üsame Tamer., Cem Azeri.** (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Int. African Journal of Biotechnology* Vol. 3 (9), pp. 441-446.

**Ottow J. C.G., Glathe H.** (1968). Rose Bengal-malt extract-agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Appl. Microbiol.* 16,170-171.

### P

**Pape F., Singer C., Kiehn T.E., Lee B. J., Armstrong D.** (1979). *Ann. Intern. Med.* 91 :746-47.

**Patel J.J. and Brown M.E.** (1969). - Interactions of *Azotobacter* with rhizosphere and root-surface microflora. *Plant and soil*, 31, 273-281.

**Patil R., Jeyasekaran G., Shanmugam SA., et al** (2001). Control of bacterial pathogens, associated with fish diseases, by antagonistic marine actinomycetes isolated from marine sediments. *Indian J Mar Sci.*;30(4):264\_267.

**Petrosan, P., M. Garcia-Varela, M. Luz-Madrigal. C. Huitron et M. E. Flores.** (2003).

*Streptomyces mexicans* sp. Nov. Inter. J. Syst. Evol. Microbiol. 53: 269-273.

**Pine L.** (1970). Classification and phylogenetic relationship of microaerophilic actinomycetes. *Int J Bacteriol.* 20: 445-474.

**Pornpan Ruttanasutja et Wasu Pathom-aree** (2014). Selective Isolation of Cultivable Actinomycetes from Thai Coastal Marine Sediment. *Chiang Mai J. Sci.* 2015; 42(1) : 88-103.

**Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A.** (2010). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme edition Pp 589.

**Pulverer, G., Schaal, K. P.** (1978). See Ref. 2. pp. 4 1 7-27.

### R

**Rangaswami G., Bagyaraj. D. J., Bagyaraj D.G.** (2004). Agricultural Microbiology. PHI : New Delhi. Pp : 440.

**Rathna Kala, R. R. and Chandrika, V.,** (1993). Effect of different media for isolation, growth and maintenance of actinomycetes from mangrove sediments. *Indian. J. Mar. Sci.,* 22, 297–299.

**Reller L. B., Maddoux G. L., Eckman, M. R., Pappas G.** (1975). *Ann. Intern. Med.* 83:664-66.

### S

**Saadoun L. et F. Al Moumani** (1997). Streptomycetes from Jordan soils active against *Agrobacterium tumefaciens*. *Actino. B* (1 et 2): 29- 36.

**Sanchez S., Demain A. L.** (2002). Metabolic regulation of fermentation processes. *Enzymes Microbiology Technology.* 31: 895-906.

**Sanglier, J.J., Wellington, E.M.H., Behal, V., Fiedler, H.P., Ellouz Ghorbel, R., Finance, C., Hacene, M., Kamoun, A., Kelly, C., Mercer, D.K., Prinzis, S. & Trigo, C.** (1993). Novel bioactive compounds from actinomycetes. *Research on Microbiology* 144, 661–663.

**Saragea A., Maximescu P., Meitert E.** (1979). In *Methods in Microbiology*, ed. T. Bergan, J. R. Norris, 13:61-176. New York: Academic.

**Sanglier J.J., Trujillo M.** (1997). Substances bioactives produites par les actinomycetes et stratégie de sélection de souches. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* 12, 13.

**Schaal K. P.,** (1977). In *CRC Handbook Series in Chemical Laboratory Science, Section E: Clinical Microbiology*, ed. A. von Graevenitz, 1 : 1 3 1-44. Cleveland: CRC

**Schaal K. P., Pulverer G.** (1981). See .Ref. 104, pp. 1 923-50.

**Scherrer R., Gerhardt P.** (1971). Molecular sieving by the *Bacillus megaterium* cell wall

and protoplast. *J Bacteriol*, 107:718–735.

**Schmidt, E.L.** (1979). Initiation of plant rootmicrobe interactions. *Annu. Rev. Microbiol.* 33 : 355-376.

**Schmitzer P.R., Graupner R.R., Chapin E.L., Fields S.C., Gilbert J.R., Gray J.A et al.,** (2000). Ribofuranosyl Adenylosuccinate Synthetase Following Phosphorylation. *Natural Products*.63: 777-781.

**Silveyj. K. G. et Roacha W.** (1975). The taste and odor producing aquatic actinomycetes. *CRC Crirical Reviews in Encironmetital Control* 5, 233-273.

**Shukla. G.** (2010). *Soil Enzymology*. Springer: Berlin. pp: 384.

**Slack J. M., Gerencser M. A.** (1975). *Actinomycetes. Filamentous Bacteria: Biology and Pathogenicity*. Minneapolis: Burgess. 158 pp.

**Sorokina, L.E., Zenova, G.M., and Kozhevin, P.A.,** (1991). Successional Changes in the Taxonomic Composition of Actinomycetes in Soddy Podzolic Soil, *Mikrobiologiya*, vol. 60, no. 60, pp. 165–171.

**Sottnek, F. O. , Brown, J. M., Weaver, R. E., Carroll, G. F.** (1977). *Int. 1. Sys. Bacterial.* 27:263-70.

**Stackebrandt, E., Rainey, F.A., Ward-Rainey, N.L.** (1997). Proposal for a new hierarchic Classification system, *Actinobacteria* classis Nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 47(2): 479–491.

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

**Sturdikova M., Sturdik E.** (2009). Natural products of marine origin and their perspectives in the discovery of new anticancer. *Acta Chgimica Slovaca.* 2: 63-74.

**Suzuki K., Nagai K., Shimizu Y. and Suzuki Y.** (1994). Search for actinomycetes in screening for new bioactive compounds. *Actinomycetologica.* 8 : 122–127.

### T

**Takahashi Y., Omura S.** (2003). Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *Journal of Genetic Applied Microbiology.* 49: 141-154.

**Thaysewa., C.** (1936). The origin of an earthy or muddy taint in fish, I. The nature and isolation of the taint. *Annals of Applied Biology* 23, 99-104.

**Thibodeau P.O., Twagirayesa P., Charrier F.** (2002). Evaluation de 15 fongicides contre la moisissure chevelue (*Rhizopus stolonifer* et *Mucor sp.*) de la fraise et de la framboise. *Agrosol*, 13(1), 75-80.

**Tian S., Yang Y., Liu K., Xu L., Zhao L.** (2004). Antimicrobial metabolites from a novel halophilic actinomycete *Nocadiopsis terrae* YIM 90022. *Nat Pord Res* ;28(5) : 344-346.

Doi : 10.1080/14786419.2013.858341.

**Tотора, A. M., E. Cabrini et M. A. Viviani** (1979). Sensibility in vitro des levure à cinq antibiotiques. Comparaison de deux méthodes C.M.I. en gélose et méthode des disques. Bull. Soc. Fr. Myc. Med. 8: 69-74.

### V

**Vezina D., Kudelski A., Sehgal S.N.** (1975). Rapamycin (AY 22,989), a new antifungal antibiotic. 1. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. J Antibiot 28: 721-726.

**Vino S., Lokesh K.R.** (2008). Borrelidin: A promising anticancer agent from *Streptomyces* species. *Journal of advanced Biotechnolog Reviews*. 22-26.

**Viollier P., Minas W., Dele G., Folcher M. et Thompson C.** (2001). Role of acid metabolism in *Streptomyces coelicolor* : Morphological differentiation and antibiotic biosynthesis. *J Bacteriol*. 183(10): 3184-3192.

### W

**Waksman S. A.,** (1959). The Actinomycetes, Volume I, Nature, Occurrence and Activities. Baltimore: Williams & Wilkins.

**Weller., D. M.** (1988). Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 26:379-407.

**Williamson N. R., Fineran C. P., Leeper F.j., Salmon P. C.** (2006). The biosynthesis and regulation of bacterial prodiginin. *Nature Microbiology Review*. Vol 4.

**Williams S.T., Cross T.** (1971). Actinomycetes. In Methods in microbiology. Booth C. Ed., Academic Press. London. 4, 295-334.

**Williams., S. T., M. Goodfellow., G. Anderson., E. M. H. Wellington., P. H. A. Sneath., M. J. Sackin.** (1984). Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. J. Gen. Microbiol : 1743-1813.

**Williams S.T., Goodfellow M. et Alderson G.** (1989) Genus *Streptomyces*, dans: Williams S.T., Sharpe M.E. et Holt J.H. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (volume 4). *Williams & Wilkins, USA*: 2452-2492.

**Williams S. T., Locci R., Beswick A., Kurtboke D. I., Kuznetsov V. D., Le Monnier F. J., Long P. F., Maycroft K. A., palma R. A., Petrolini B., Quaroni S., Todd J.I. and West.M.** (1993). Detection and identification of novel actinomycetes. Microbiol. 144, 653-656.

### Z

**Zait H., Madani K., Abed-Benamara M., Achir I., Hamrioui B.** (2008). Les mycétomes en Algérie. *Journal de Mycologie Médicale*. 18: 116-122.

**Zitouni A., Boudjella H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N.**, (2005). *Nocardiopsis and saccharothrix genera* in saharan soils in Algeria : Isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *research in Microbiology*.

**Zvyagintsev D.G. and G.M. Zenova** (2001). *The Ecology of Actinomycetes*, Moscow: GEOS, pp :2,p :1



*Résumé*



### Résumé

Cette étude a pour but d'isoler des Actinomycètes productrice des molécules antimicrobiennes. Un total de 132 isolats a été isolé de cinq différentes régions de l'Algérie (wilaya d'El Oued, Tizi Ouzou, Boumerdes et Jijel) et de la Tunisie (ville de Sousse), les échantillons ont été prélevés à partir de différents biotope (sol et eau marin). L'isolement se fait sur deux milieux (Olson et YMEA). Le nombre des isolats sur milieu YMEA est plus élevé par rapport au milieu Olson, 87 et 45 isolats respectivement.

La reconnaissance des *Actinomycètes* est basée sur leur aspect morphologique caractéristique (colonies sèches, rugueuses, blanches et poudreuses, adhérent à la gélose et présentent un mycélium végétatif et aérien).

Le screening des activités antimicrobiennes a été effectué en utilisant la méthode de cylindre d'agar. 22 isolats sont testés sur six bactéries-tests et un champignon, la positivité de l'activité est observée sauf chez les isolats prélevés d'échantillon de la Tunisie, trois souches (TN<sub>10</sub>, TN<sub>12</sub> et TN<sub>13</sub>) qui ont une activité antimicrobienne et une seule souche (TN<sub>4</sub>) a une activité antifongique.

Mots clés : Actinomycètes, Isolement, Activité antimicrobienne.

### Abstract

This study aims to isolate the *Actinomycetes* strains producing antimicrobial molecules. A total of 132 isolates were isolated from five different regions of Algeria (wilaya of El Oued, Tizi Ouzou, Boumerdes and Jijel) and Tunisia (city of Sousse), samples were taken from different biotope (Soil and marine water). Isolation is carried out on two media (Olson and YMEA). The number of isolates on YMEA medium is higher compared to Olson medium, 87 and 45 isolates, respectively.

The recognition of the *Actinomycetes* strains is based on their characteristic morphological aspect (dry, rough, white and powdery colonies, adhere to the agar and present a vegetative and aerial mycelium).

The screening of the antimicrobial activity was carried out using the agar cylinder method. 22 isolates were tested on six bacteria-tests and one fungus, the positivity of the activity was observed except in Tunisia sample isolates, three strains (TN<sub>10</sub>, TN<sub>12</sub> and TN<sub>13</sub>) which had antimicrobial activity and a single strain (TN<sub>4</sub>) has antifungal activity.

Key words: *Actinomycetes*, Isolation, Antimicrobial activity.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة الى عزل سلالات من البكتيريا الخيطية *Actinomycètes* منتجة للجزيئات المضادة للميكروبات. تم عزل 132 عزلة من خمس مناطق مختلفة من الجزائر (ولاية الواد، تيزي وزو، بومرداس وجيجل) وتونس (سوسة)، تم أخذ عينات من مختلف الاوساط الحية (التربة والمياه البحرية). العزل تم على نوعين من الاوساط المساعدة على النمو (YMEA و Olson). عدد العزل في الوسط YMEA مرتفع مقارنة بالوسط Olson، 87 و 45 على التوالي .

معرفة سلالات البكتيريا الخيطية يستند على الشكل (مستعمرات جافة، خشنة، بيضاء، على شكل مسحوق وتمسكة في أجار و تعرض عزل).

تم تنفيذ الأنشطة المضادة للميكروبات باستخدام طريقة اسطوانة أجار. تم اختبار 22 عزلة في ستة بكتيريات وفطر، لوحظ إيجابية النشاط إلا في العزلات التي تم جمعها من عينة تونس، ثلاث سلالات (TN<sub>10</sub>، TN<sub>12</sub> و TN<sub>13</sub>) التي لها نشاط مضاد للميكروبات وسلالة واحدة (TN<sub>4</sub>) لديها نشاط مضاد للفطريات.

كلمات المفتاحية : البكتيريا الخيطية *Actinomycètes*، عزل ، النشاط المضاد للميكروبات.



*Annexes*



Annexe 01

**Milieu Olson**

- Sodium caséine = 2 g
- L-Asparagine = 0,1 g
- Sodium propionate = 4 g
- $K_2HPO_4$  = 0,5 g
- $FeSO_4$  = 0,01 g
- Agar = 15 g
- L'eau distillé = 1000 ml
- pH = 7,2

**Milieu YMEA**

*(Yeast Malt Extrat Agar)*

- Extrait de levure = 4 g
- Extrait de Malt = 10 g
- Glucose = 4 g
- Agar = 20 g
- $CaCO_3$  = 2 g
- L'eau distillé = 1000 ml
- pH = 7,3

**Milieu Mueller Hinton**

- Mueller Hinton poudre = 21 g
- Agar = 20 g
- Eau distillée = 1000 ml

**Milieu ISP2**

*(International Streptomyces Project)*

- Extrait de levure = 4 g
- Extrait de Malt = 10 g
- Glucose = 4 g
- Agar = 20 g
- Eau distillée = 1000 ml

**Milieu PDA**

*(Potatoes Dextrose Agar)*

- Pomme de terre = 200 g
- Eau distillée = 700 ml
- Chauffage et filtration
- Succrose = 10 g
- Agar = 15 g
- Eaux distillée = 1000 ml

**Gélose nutritive**

- Extrait de viande = 3 g
- Peptone = 5 g
- Agar = 15 g
- Eau distillée = 1000 ml
- pH = 7,4

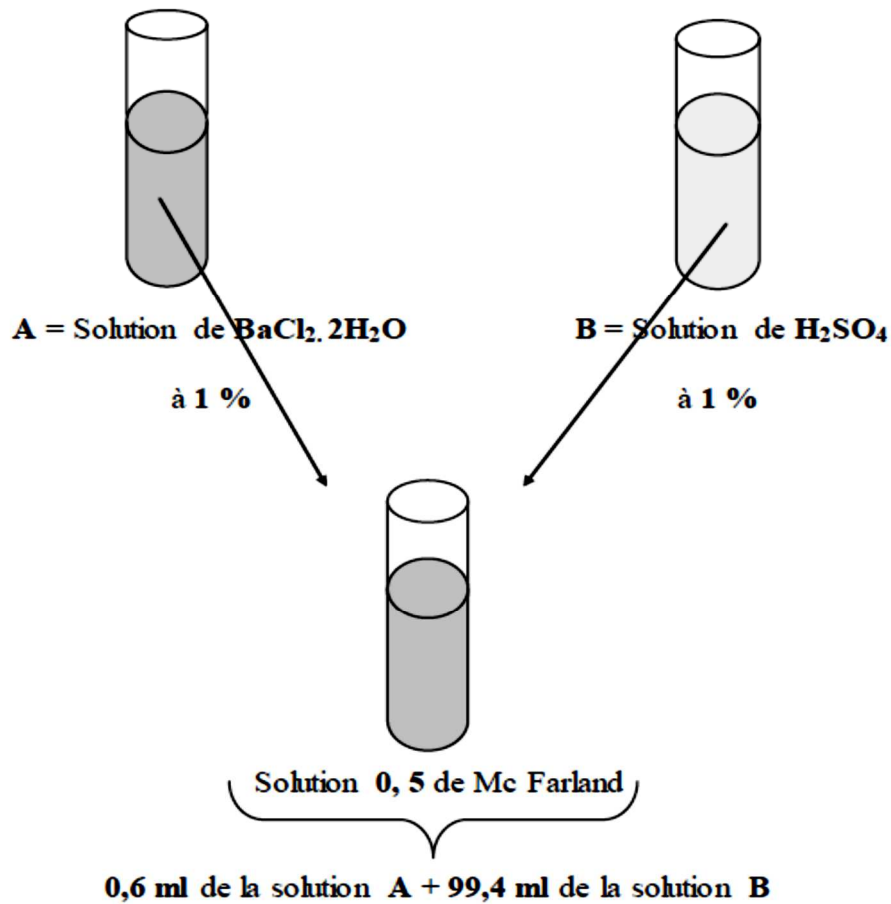
**Eau physiologie**

- Chlorure de sodium 9 g
- Eau distillée 1000 ml

## Annexe 02

## Préparation de la solution 0,5 de Mc Farland

## 1 / Préparation de la solution de 0,5 de Mc Farland (Chessbrough, 2000)



## 2/ Conditions de conservation de la solution 0,5 de Mc Farland (Smibert et Kreig, 1994)

**Conditions de conservation de la solution 0,5 de Mc Farland**

1/ à l'obscurité

2/ Température de conservation : 20-25 °C

3/ Durée de conservation : 6 mois

<p><b>Réalisé par les étudiantes :</b></p> <p>*Aissaoui Nassima *Chebabhi Ahlem</p>	<p><b>Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique</b></p> <p><b>Filière de biologie</b></p> <p><b>Option : microbiologie.</b></p> <p><b>Thème :</b> Isolement des Actinomycètes et recherche des isolats productrices des substances antimicrobiennes.</p> <p style="text-align: right;">28 Juin, 2017</p>
<p><b>Résumé</b></p> <p>Cette étude a pour but d'isoler des Actinomycètes productrice des molécules antimicrobiennes. Un total de 132 isolats a été isolé de cinq différentes régions de l'Algérie (wilaya d'El Oued, Tizi Ouzou, Boumerdes et Jijel) et de la Tunisie (ville de Sousse), les échantillons ont été prélevés à partir de différents biotope (sol et eau marin). L'isolement se fait sur deux milieux (Olson et YMEA). Le nombre des isolats sur milieu YMEA est plus élevé par rapport au milieu Olson, 87 et 45 isolats respectivement.</p> <p>La reconnaissance des Actinomycètes est basée sur leur aspect morphologique caractéristique (colonies sèches, rugueuses, blanches et poudreuses, adhèrent à la gélose et présentent un mycélium végétatif et aérien).</p> <p>Le screening des activités antimicrobiennes a été effectué en utilisant la méthode de cylindre d'agar. 22 isolats sont testés sur six bactéries-tests et un champignon, la positivité de l'activité est observée sauf chez les isolats prélevés d'échantillon de la Tunisie, trois souches (TN<sub>10</sub>, TN<sub>12</sub> et TN<sub>13</sub>) qui ont une activité antimicrobienne et une seule souche (TN<sub>4</sub>) a une activité antifongique.</p> <p>Mots clés : Actinomycètes, Isolement, Activité antimicrobienne.</p>	
<p><b>Devant le jury :</b></p> <p><b>Présidente : M<sup>me</sup> DAROUICHE FOUZIA</b> (M.C.B) Univ. Abbes Laghrour -Khenchela-  <b>Examinatrice : M<sup>me</sup> MERABTI RIMA</b> (M.C.B) Univ. Abbes Laghrour -Khenchela-  <b>Promotrice : M<sup>me</sup> LEULMI NASSIMA</b> (M.A.A) Univ. Abbes Laghrour -Khenchela-</p>	