

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID --TLEMEN-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers  
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Département d'Ecologie Et Environnement

Laboratoire : Valorisation des actions de l'homme pour la protection de  
l'environnement et application en santé publique

Mémoire présenté par  
Melle SENHADJI Sarra

En vue de l'obtention du  
Diplôme de MASTER

Filière: Hydrobiologie marine et continentale  
Spécialité : Sciences de la Mer

Thème :

**Isolement et caractérisation des souches d'actinomycètes marines  
dotées d'une activité antimicrobienne**

Soutenu le : Septembre 2024, devant le jury composé de :

Président: Mr. REBIAHI Sid Ahmed	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice : Mme. BENHAMOU Fatiha	MAB	Université de Tlemcen
Encadreur: Mr. BENDIMERAD Med. El Amine	MCA	Université de Tlemcen
Co-encadreur: Mme BOUBLENTA Nesrine	MAB	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2023-2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي  
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ  
وَالَّذِي جَعَلَ الْمَوْتَ  
وَالْحَيَاةَ وَالَّذِي  
يُعِيدُ النَّاسَ  
وَالَّذِي يُعَذِّبُ  
وَالَّذِي يُرِيهِمْ  
وَالَّذِي يُعَذِّبُ  
وَالَّذِي يُرِيهِمْ

# Remerciement

*« Un travail même fait d'une seule main n'est jamais l'ouvrage d'un seul ».*

*J'adresse mes sincères remerciements et ma gratitude à mon cher superviseur **Mr. BENDIMERAD Mohammed El Amine** pour son soutien continu et ses précieux conseils lors de la préparation de ce mémorandum.*

*Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude et nos remerciements les plus sincères au Co-encadreur **Dr. Mme BOUBLEENZA Nessrine**, enseignante chercheur à l'Université de Tlemcen, de nous avoir accueilli au sein de son équipe de recherche et d'avoir dirigé ce modeste travail, à savoir de nombreuses discussions que nous avons entamé et en particulier la partie expérimentale malgré son temps chargé. Aussi nous n'oublions pas de mentionner sa sensibilité, son égard, son respect et sa sympathie dont nous fûmes témoin. Nous mentionnons aussi la très bonne humeur et l'ambiance au sein de ce groupe qui nous ont permis de mener nos travaux pratiques de façon très agréable.*

*Nous remercions vivement Monsieur **BELVAGOUBI Larbi**, Maître de Conférence à l'Université de Tlemcen, et ce pour nous avoir accepté gentiment dans travailler avec lui dans le laboratoire de microbiologie appliquée au laboratoire recherche biologique "produits naturels" leurs et aide-le pendant la réalisation de ce travail malgré leur chargé. Aussi que pour ces nombreux bénéfiques conseils qui ont contribué largement dans la réussite de ce mémoire et sa sympathie dont nous fûmes témoin.*

*Il m'est très agréable d'exprimer notre reconnaissance au **Dr. REBLAHI Sid Ahmed**, Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider notre jury, ainsi que **Mme. BENHAMOU Fatima** pour son intérêt à examiner notre travail et de ses jugements qui sont toujours réalistes, d'abord pour*

*l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail ainsi que pour les observations constructives faites pendant la lecture du mémoire .*

*Permettez-nous maintenant d'adresser notre vifs remerciements à tous nos collègues et amis pour leur soutien moral qui nous sommes été toujours soufflé. Maintenant, nous demandons votre pardon de nous excuser d'avoir laissé en dernier lieu pour remercier nos plus chères personnes de notre petite famille et en particulier nos très chers parents, pour leur soutien absolument inconditionnel tout au long de ces longues années d'études.*

# *Dédicace*

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU De m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail

Je dédie ce travail

Avant tout, je remercie 'Dieu' de m'avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail ; que je dédie :

À ceux que j'aime : Ma mère et mon père Allah yarhmah ; sans eux je n'aurai pas abouti à ce stade d'étude, que Dieu m'aide à les honorer, les servir et les combler.

À ceux que j'aime et que j'adore :

Mes sœurs Hanane et Mounira et Fatiha d'où je m'inspire le courage et leurs maris et tous leur enfance.

Mes frères Fathi et Mohammed à Leurs efforts pour m'aider dans ce travail.

Les poussins Fatima, Asia, Ayoub, Chaima, Hani, Kawtar, Malek, Farah, et Serine;

À tous mes amis,

À toute la promotion de Génie Biologique sans exception.

À tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, à tous ceux qui m'aiment.

À vous...

## Résumé

Le développement continu de la résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses justifient la nécessité de rechercher de nouvelles molécules antibiotiques. Les bactéries actiniques sont considérées parmi les micro-organismes les plus intéressants et les plus diversifiés du monde microbien, caractérisés par leur capacité supérieure à produire une large gamme de bactéries. Gamme de composés biologiques d'importance médicale et industrielle, ce qui en fait le centre d'attention des chercheurs et des scientifiques du monde entier. Les bactéries actiniques se trouvent dans divers environnements, du sol et de l'eau douce aux environnements marins et même aux environnements extrêmes tels que les déserts. Cette diversité environnementale reflète leur capacité à s'adapter et à vivre dans des conditions différentes.

En Algérie, la plupart des bactéries actinomycètes ont été isolées des sols fertiles et des déserts. Quant aux milieux marins, leur étude est toujours en cours. Grâce à cette étude, les actinomycètes marins ont été mis en lumière, car des échantillons ont été prélevés sur l'île de Rachgoun dans l'État. D'Ain Temouchent. Nous avons isolé trois souches EM1, SM3, S4 Et pour l'étudier, des milieux agricoles spécialisés ont été utilisés pour isoler des bactéries actiniques à partir d'échantillons marins. Les souches isolées ont été caractérisées sur la base de leurs caractéristiques morphologiques et physiologiques. La méthode du disque chargé d'échantillons et la méthode de diffusion sur rouleau de gélose ont été utilisées pour tester l'activité antimicrobienne contre les souches Gram-positives et Gram-négatives. L'activité antimicrobienne a été évaluée à l'aide de méthodes similaires. Les composés actifs ont été extraits en utilisant le solvant organique acétate d'éthyle. Certaines souches ont montré une activité significative contre les bactéries Gram-positives telles que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, alors qu'elles étaient inefficaces contre les bactéries Gram-négatives telles que *Escherichia coli*. Des études antérieures ont montré que l'extraction de composés actifs à l'aide d'acétate d'éthyle était la plus efficace, montrant la meilleure activité antimicrobienne par rapport à d'autres solvants.

**Mots clés :** Actinomycètes, antibiotiques, l'île de Rachgoun, la résistance bactérienne, caractéristiques morphologiques et physiologiques

## Abstract

The continued development of bacterial resistance to antibiotics and the emergence of new infectious diseases justify the need to search for new antibiotic molecules. Actinic bacteria are considered among the most interesting and diverse microorganisms in the microbial world, characterized by their superior ability to produce a wide range of biological compounds of medical and industrial importance, making it the focus of attention of researchers and scientists around the world. Actinic bacteria are found in a variety of environments, from soil and fresh water to marine environments and even extreme environments such as deserts.

In Algeria, most of the actinomycete bacteria were isolated from fertile soils and deserts. As for marine environments, the study on them is still under exploration. Through this study, marine actinomycetes were shed light, as samples were obtained from Rachgoun Island in the state of Ain Temouchent. We isolated three strains EM1, SM3, S4And to study it, specialized agricultural environments were used to isolate actinic bacteria from marine samples. The isolated strains were characterized based on their morphological and physiological characteristics. The sample-loaded disk method and the agar roller diffusion method were used to test antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative strains. Antimicrobial activity was evaluated using similar methods. The active compounds were extracted using the organic solvent ethyl acetate. Some strains showed significant activity against Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, while they were ineffective against Gram-negative bacteria such as *Escherichia coli*. Extraction of active compounds using ethyl acetate was found to be the most effective, showing the best antimicrobial activity compared to other solvents, by previous studies.

**Key-words:** Actinomycete, antibiotic, resistance to antibiotics, Rachgoun Island, morphological and physiological characteristics.

## ملخص

إن التطور المستمر لمقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وظهور أمراض معدية جديدة هذا ما يبرر ضرورة البحث عن جزيئات المضادات الحيوية الجديدة، تعتبر البكتيريا الأكتينية من بين أكثر الكائنات الدقيقة إثارة للاهتمام والتنوع في العالم الميكروبي تتميز بقدرتها الفائقة على إنتاج مجموعة واسعة من المركبات الحيوية ذات الأهمية الطبية والصناعية مما يجعلها محط أنظار الباحثين والعلماء حول العالم. البكتيريا الأكتينية موجودة في مختلف البيئات من التربة والمياه العذبة إلى البيئات البحرية وحتى البيئات القاسية مثل الصحاري. هذا التنوع البيئي يعكس قدرتها على التكيف والعيش في ظروف مختلفة.

في الجزائر تم عزل معظم البكتيريا الأكتينية من خلال التربة الخصبة والصحاري أما البيئات البحرية فالدراسة عليها لا تزال قيد الاستكشاف، من خلال هذه الدراسة تم تسليط الضوء على الأكتينومييسات البحرية حيث تم الحصول على العينات من جزيرة رشقون بولاية عين تموشنت قمنا بعزل ثلاث سلالات *S4*، *SM3*، *EM1* والدراسة عليها، تم استخدام بيئات زراعية متخصصة لعزل البكتيريا الأكتينية من عينات بحرية. تم توصيف السلالات المعزولة بناءً على خصائصها المورفولوجية والفيزيولوجية. تم استخدام طريقة الأقراص المحملة بالعينة وكذلك طريقة انتشار الأجار باستخدام الأسطوانات لاختبار النشاط المضاد للميكروبات ضد سلالات موجبة وسالبة الجرام. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طرق مشابهة. تم استخراج المركبات النشطة باستخدام مذيب عضوي أسيتات الإيثيل. أظهرت بعض السلالات نشاطاً ملحوظاً ضد البكتيريا الموجبة الجرام مثل *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis*، في حين كانت غير فعالة ضد البكتيريا السالبة الجرام مثل *Escherichia coli*. وجد أن استخراج المركبات النشطة باستخدام أسيتات الإيثيل هو الأكثر فعالية، حيث أظهر أفضل نشاط مضاد للميكروبات مقارنة بالمذيبات الأخرى، من خلال دراسات سابقة.

**الكلمات المفتاحية:** الأكتينومييسات، المضادات الحيوية، مقاومة البكتيريا، جزيرة رشقون، الخصائص المورفولوجية والفيزيولوجية.

# Sommaire

<b>Introduction</b>	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre1 : Généralité sur les actinomycètes</b>	4
<b>1. Historique</b>	4
<b>2. les caractères généraux des actinomycètes</b>	4
<b>3. Taxonomie et critère d'identification des actinomycètes</b>	8
<b>4. Milieux de culture des actinomycètes</b>	20
<b>5. Classification</b>	21
<b>6. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature</b>	22
<b>7. Cycle de développement des actinomycètes</b>	26
<b>Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques</b>	
<b>1. Origine des antibiotiques</b>	29
<b>2. Définition</b>	29
<b>3. Classification</b>	30
<b>4. Mode d'action des antibiotiques</b>	32
<b>5. Résistance bactérienne aux antibiotiques</b>	33
<b>6. Type de mécanismes de résistances</b>	35
<b>7. Les antibiotiques produits par les actinomycètes</b>	37
<i>Matériel et méthodes</i>	
<b>1. Le site d'échantillonnage</b>	39
<b>2. L'isolement des actinomycètes marins</b>	39
<b>3. Purification et conservation des souches</b>	40
<b>4. La caractérisation phénotypique des isolats</b>	41
<b>5. Screening primaire de l'activité antimicrobienne et la recherche du meilleur milieu pour la synthèse d'antibiotiques</b>	45
<b>6. Préparation de l'inoculum bactérien et levuriens</b>	45
<b>7. Extraction des métabolites secondaires à potentiel antimicrobien</b>	46
<b>8. Screening secondaire de l'activité antimicrobienne</b>	46

<b><i>RESULTALS</i></b>	
<b>1. L'isolement des actinomycètes marins</b>	48
<b>2. Les caractéristiques culturelles et microscopiques des actinomycètes marins</b>	49
<b>3. La coloration de Gram</b>	50
<b>4. Les caractéristiques biochimiques et physiologiques des actinobactéri</b>	50
<b>5. Résultats des tests biochimiques de quelques isolats d'actinomycètes</b>	51
<b>6. Le criblage primaire de l'activité antimicrobienne</b>	54
<b>7. Le screening secondaire de l'activité antimicrobienne</b>	55
<b><i>Discussion</i></b>	57
<b><i>Conclusion Et Perspectives</i></b>	63
<b>Référence bibliographique</b>	
<b>Annexe</b>	

## Liste des Abréviations

**μ** : micro.

**μg/ml** : Microgramme/ millilitre.

**μl** : microlitre.

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**ARN** : Acide ribonucléique.

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**AW** : Activity of water.

**BMR** : les bactéries multirésistantes.

**C. sp.** : Chaînes de spores.

**CIP** : Collection de l'Institut Pasteur.

**CMI** : concentration minimale inhibitrice.

**DAP** : l'acide diaminopimélique.

**DDH**: hybridation ADN-ADN.

**DL**: méso.

**DO**: densité optique.

**ESKAPE**: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Enterobacter*.

**FDA**: Food and Drug Administration.

**GC**: guanine-cytosine.

**GC/MS**: Gas chromatography-mass spectrometry.

**Gly** : glycine.

**H<sub>2</sub> O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène.

**H<sub>2</sub>O** : eau.

**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance.

**IBMC**: Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire.

**ICSB** : Comité international de bactériologie systématique.

**ISP** : l'International Streptomyces Project.

**Km<sup>2</sup>** : kilomètre carré.

**LAPRONA** : laboratoire des produits naturels.

**LC-MS**: Liquid chromatography–mass spectrometry.

**LL** : Levo.

**M2** : Amidon caséine agar.

**MA** : mycélium aérien.

**MH** : Muller Hinton.

**MK-10 (H2)** : ménaquinon.

**MLS** : macrolides, lincosamides, streptogramines.

**MNHN** : Muséum National d'Histoire Naturelle.

**MS** : mycélium du substrat.

**NaCl** : chlorure de sodium.

**nm** : nanomètre.

**O2** : oxygène.

**P/V** : pression / volume.

**PBP** : protéines de liaison à la pénicilline.

**PC** : phosphatidylcholine.

**PE** : phosphatidyléthanolamine.

**PG** : phospholipides contenant la glucosamine.

**PGLY** : phosphatidylglycérol.

**PH** : potentiel hydrogène.

**QNR** : pour quinolone resistance.

**RA** : Retinaculum-Apertum.

**RF** : Rectus-Flexibilis.

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire.

**S**: Spira.

**S** = sporophore.

**SG**: sporanges.

**Sp. m** : spores mobiles.

**Sp.i.** : spores isolées.

**V** : variable.

**µm** : micromètre.

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1</b> : Pourcentage de GC (guanine-cytosine) des différents genres d'actinomycètes	5
<b>Tableau 2</b> : Types de phospholipides membranaires présents chez les actinobactéries	15
<b>Tableau 3</b> : Classification des actinomycètes	21
<b>Tableau 4</b> : Habitats de certains actinomycètes	22
<b>Tableau 5</b> : Répartition des différents genres d'actinomycètes dans le sol	23
<b>Tableau 6</b> : Classification des antibiotiques selon leur structure chimique	30
<b>Tableau 7</b> : Caractéristiques morphologiques des trois souches isolées de l'île de Rachgoun	48
<b>Tableau 8</b> : les caractéristiques culturelles des isolats d'actinomycètes	49
<b>Tableau 9</b> : les caractéristiques biochimiques et physiologiques des isolats d'actinomycètes.	50
<b>Tableau 10</b> : Les résultats du screening primaire de l'activité antimicrobienne.	55
<b>Tableau 11</b> : Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits bruts par la méthode de diffusion des disques.	56

## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Observation microscopique des actinomycètes après coloration de Gram	6
<b>Figure 2</b> : l'aspect filamenteux des actinomycètes.	6
<b>Figure 3</b> : la forme des actinomycètes	7
<b>Figure 4</b> : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant des hyphes vivants	7
<b>Figure 5</b> : schéma illustrant la morphologie de <i>Streptomyces olindensis</i> cultivé en milieu liquide	9
<b>Figure 6</b> : Croissance d'un isolat d'actinobactéries sur milieu agar à la caséine et à l'amidon	10
<b>Figure 7</b> : La couleur des Actinomycètes sur milieu solide.	11
<b>Figure 8</b> . Micromorphologie des principaux genres d'actinomycètes	12
<b>Figure 9</b> : Micrographie montrant la production de spores en longues chaînes	13
<b>Figure 10</b> : Types chimiotypiques observés chez les Actinobactéries.	14
<b>Figure 11</b> : Schéma représentant la structure générale des ménaquinones	16
<b>Figure 12</b> : Organisation du gène codant pour l'ARNr 16S.	19
<b>Figure 13</b> : Cycle de développement de Streptomycètes	27
<b>Figure 14</b> : Principales cibles et modes d'action des antibiotiques	33
<b>Figure 15</b> : présente les divers types de résistance bactérienne aux antibiotiques	34
<b>Figure 16</b> : Mécanismes de résistance observés chez les bactéries Gram négatives	35
<b>Figure 17</b> : Répartition de la production d'antibiotiques entre les actinomycètes, les champignons, et d'autres bactéries non filamenteuses	38
<b>Figure 18</b> : Localisation et coordonnées du périmètre de l'île de Rachgoun	39
<b>Figure 19</b> : Principe de la technique suspension-dilution	40
<b>Figure 20</b> : coloration de Gram.	42
<b>Figure 21</b> : les étapes de la coloration de Gram	43
<b>Figure 22</b> : le colorimètre mesuré la densité optique des bactéries et des levures	46
<b>Figure 23</b> : l'agitation de l'extrait brut.	47
<b>Figure 24</b> : Evaporation du solvant par un rota vapeur.	47
<b>Figure 25</b> : Aspect microscopique des isolats d'actinomycètes (×100).	50
<b>Figure 26</b> : résultats de test citrate de Simmons.	51
<b>Figure 27</b> : résultat de test de gélatine	51
<b>Figure 28</b> : résultat de test de catalase	52
<b>Figure 29</b> : résultat de test de l'oxydase	52
<b>Figure 30</b> : résultat de l'action de lait écrémé	53
<b>Figure 31</b> : résultat de test amidon amylase de souche EM1.	53
<b>Figure 32</b> : Résultats des zones d'inhibition de quelques souches d'actinomycètes isolées.	54
<b>Figure 33</b> : Résultats des zones d'inhibition de quelques souches d'actinomycètes par la méthode de diffusion des disques.	56

# *Introduction*

# Introduction

---

L'évolution microbienne et le transfert génétique entre les espèces ont provoqué l'émergence de nouveaux agents pathogènes et une augmentation des souches résistantes aux antibiotiques, ce qui rend urgent la découverte de nouveaux agents thérapeutiques (**Demain & Sanchez, 2009**).

De plus, la recherche de nouveaux métabolites bioactifs est toujours stimulée par l'exigence de traitements efficaces contre le cancer et les maladies infectieuses (**Bérdy, 2005 ; Koehn, 2005**).

Les actinomycètes, bactéries à gram positif dont la plupart ont une structure mycélienne sont des producteurs prodigieux de substances bioactives, parmi l'arsenal thérapeutique d'origine microbienne 45% ont été isolées à partir de ce phylum (**Bérdy, 2005**), ces bactéries sont représentées par le genre *Streptomyces* puisque c'est le plus prépondérant grâce à son pouvoir à synthétiser un large éventail d'antibiotiques avec près de 80% des antibiotiques commercialisés à leur actif (**Aouiche et al, 2012**).

Les antibiotiques jouent un rôle crucial dans les stratégies thérapeutiques modernes. Depuis la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1929, ils ont éradiqué des infections causées par des micro-organismes pathogènes autrefois mortelles. (**Wise, 2002**).

Cependant, en raison de leur consommation excessive et inadéquate, plusieurs pathogènes résistants à l'antibiothérapie ont été émergés (**Okeke et al, 1999; Ventola, 2015**).

Cette antibiorésistance a pris un grand ampleur dont plusieurs bactéries sont devenues résistantes vis-à-vis plusieurs antibiotiques baptisées les bactéries multirésistantes (BMR) (**Muller, 2018**). Le principal danger posé par les BMR est qu'elles peuvent provoquer des échecs thérapeutiques (**Muller, 2018**). La multirésistance concerne les agents pathogènes ESKAPE (*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, et Enterobacter*), qui représentent une menace mondiale pour la santé humaine. Ces agents pathogènes peuvent provoquer des infections graves et difficiles à traiter, entraînant des maladies prolongées et, parfois, un risque accru de décès (**Quinn et al, 2020**).

Les antibiotiques de synthèse ont démontré leur efficacité thérapeutique en clinique, mais leur synthèse chimique, laborieuse et coûteuse a incité la recherche de nouveaux antibiotiques d'origine naturelle (**Fair & Tor, 2014**).

Depuis des millénaires, les êtres humains utilisent des microorganismes (bactéries, levures, et moisissures) pour fabriquer de nombreux produits. Ces microorganismes, omniprésents dans notre

# Introduction

---

environnement, jouent un rôle essentiel dans notre vie et sont à l'origine du développement de la biotechnologie. Parmi les microorganismes d'intérêt biotechnologique figurent les actinomycètes, (**Smaoui, 2010**). Ces actinobactéries sont des microorganismes procaryotes distingués par un pourcentage élevé de guanine-cytosine (supérieur à 55 %), ce qui les différencie des autres bactéries. Phylogénétiquement, elles forment une branche distincte et présentent une grande diversité morphologique, allant des formes coccidées aux formes mycéliennes parfaites (**Goodfellow, 2012**).

Les Actinomycètes sont les microorganismes les plus recherchés dans l'industrie pharmaceutique, car ils synthétisent de nombreuses molécules utilisées en antibiothérapie. Leur isolement et l'étude de leurs métabolites secondaires ont fait l'objet de nombreuses recherches (**Genilloud, 2017**). Ces microorganismes ont été abondamment isolés à partir du sol et des zones rhizosphériques. Cependant, l'isolement répété des mêmes souches au fil des années a incité les chercheurs à explorer de nouveaux écosystèmes, y compris les environnements marins (**Trenozhnikova & Azizan, 2018**).

Au cours des 50 dernières années, la bio-prospection des océans a dévoilé de nombreux composés nouveaux en provenance d'actinomycètes marins. Parmi ces découvertes, on trouve le salinosporamide A, produit par le genre *Salinispora*, l'abyssomycine C, un antibiotique polycyclique isolé à partir du genre *Verrucosispora*, et la lajollamycine, un antibiotique de lactame puissant synthétisé par une souche appartenant au genre *Streptomyces* (**Feling RH et al, 2003 ; Manam RR et al, 2005 ; Riedlinge J et al, 2004**).

L'actinobactériologie marine est récemment devenue l'un des principaux domaines de recherche émergents à travers le monde (**Sivakumar et al, 2007**). Les actinobactéries marines se trouvent dans les sédiments, dans l'eau, ainsi vivant en symbiose avec des vertébrés et invertébrés marins. Cependant, leur origine a été controversée depuis plusieurs années, des études antérieures ont suggéré que les actinomycètes marins ne sont qu'une forme terrestre transférée aux écosystèmes marins via leurs spores cette hypothèse a été soutenue jusqu'à l'isolement du premier genre d'actinomycète marin dépendant des eaux marines appelé *Salinispora* (**Larpent et Sanglier, 1989 ; Goodfellow et Haynes, 1984 ; Bull et al, 2000**)

Les océans couvrent 70 % de la surface terrestre et abritent une biodiversité riche, tant animale que végétale. Au cours des dernières décennies, de nombreux macro- et microorganismes marins ont été étudiés pour enrichir l'arsenal thérapeutique et pour atténuer le problème de résistance de

# Introduction

---

certaines bactéries pathogènes aux antibiotiques couramment utilisés en clinique (**Ameen et al, 2021**).

Les scientifiques ont commencé à découvrir les avantages des microorganismes marins lorsque Giuseppe Brotzu a isolé pour la première fois un champignon marin, *Cephalosporium acremonium* (aujourd'hui connu sous le nom *d'Acremonium chrysogenum*), à partir d'un échantillon d'eau de mer en 1945. Ce champignon synthétise la céphalosporine (**Abraham & Loder, 1972**). Ensuite, en 1966, Burkholder et ses collaborateurs ont isolé une molécule bioactive d'une souche marine de *Pseudomonas sp* (**Burkholder et al, 1966**). Ces découvertes ont mis en évidence les propriétés bactéricides des eaux marines et ont incité les scientifiques à explorer d'autres espèces marines. Parmi ces microorganismes, les cyanobactéries et les actinobactéries se sont révélées particulièrement prolifiques, contribuant à la production de 256 composés biologiquement actifs jusqu'en 2008 (**Williams, 2009**).

En Algérie, la majorité des études sur l'isolement des actinomycètes se sont principalement concentrées sur les zones telluriques fertiles ou sahariennes (sols et grottes) (**Meklat et al, 2015 ; Belyagoubi et al, 2018 ; Djinni et al, 2019**). En ce qui concerne l'environnement marin, seules les ressources hydriques continentales ont été explorées, en particulier quelques lacs et embouchures (**Benhadj et al, 2019 ; Djinni et al, 2019 ; Smati et al, 2019**). Dans ce contexte, notre étude a été menée. L'objectif principal était d'isoler des souches d'actinomycètes marins potentiellement bioactifs et de caractériser chimiquement et leurs métabolites secondaires dotés de propriétés antimicrobiennes (antibactériennes).

Le manuscrit est structuré selon le format classique IMRAD (Introduction, Méthodes, Résultats et discussion) et se divise en quatre parties principales :

- Première partie est une synthèse bibliographique qui récapitule les principales études et recherches réalisées sur les actinomycètes et leur intérêt biotechnologique
- Deuxième partie c'est la partie expérimentale qui regroupe la méthodologie adoptée durant notre investigation
- Troisième partie : Résultats et discussion : représentent les principaux résultats obtenus dans notre recherche
- Et à la fin de ce manuscrit une petite conclusion a été présentée et qui s'ouvre sur des perspectives

# *Synthèses Bibliographique*

## *Chapitre 1 :*

### *Généralité sur les actinomycètes*

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

## Généralité sur les actinomycètes

### 1. Historique

En 1827, le nom *Actinomyces* a été accepté comme désignation d'un genre bactérien pour deux raisons : d'abord, en raison de son orthographe distincte, et ensuite, parce qu'il n'a été utilisé que par son auteur, Meyen.

Les actinomycètes ont été isolés pour la première fois par Cohn en 1875 à partir de sources humaines (**Williams et al, 1984**). Pendant longtemps, ils ont été considérés comme des champignons (**Mariat, 1962**). L'histoire des actinomycètes se divise en cinq grandes périodes :

- ❖ La première période, de 1877 à 1890, pourrait être qualifiée de « période médicale », en raison de l'intérêt porté à ces microorganismes, principalement en raison de leurs propriétés pathogènes supposées (**Baldacci, 1962**).
- ❖ La seconde période (1900-1919) est marquée par la découverte et l'étude des actinomycètes du sol. En 1909, Orla-Jensen créa la famille des Actinomycetaceae, qui comprenait initialement un seul genre, *Actinomyces*. Par la suite, de nombreuses espèces telluriques furent isolées et décrites. Les espèces composant le genre *Actinomyces* étant très diverses, certains auteurs commencèrent à scinder ce genre en plusieurs autres (**Messaoudi, 2013**).
- ❖ La période suivante est marquée par la découverte des antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle débute en 1940 et est indissociablement liée au nom de Waksman, notamment grâce à la découverte de la *streptomycine* en 1944, produite par *Streptomyces griseus*. Cette époque a entraîné une augmentation rapide du nombre d'espèces décrites.
- ❖ Ainsi, la période suivante peut être caractérisée par le développement des critères morphologiques et biochimiques pour la classification des Actinomycètes. Cette période s'accompagne d'une meilleure compréhension de la physiologie de ces bactéries, de leur importance dans la production de métabolites secondaires et de leur potentiel pour la biodégradation de composés organiques.
- ❖ Enfin, depuis les années 1960, l'essor des méthodes génétiques, initiées par Hopwood, suivi par les avancées en génomique, a révolutionné la classification des espèces, ainsi que les méthodes de découverte de métabolites secondaires et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes (**Belyagoubi, 2014**).

### 2. les caractères généraux des actinomycètes

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

En étymologie, le terme Actinomycète provient des mots grecs Aktis, signifiant « rayon », et Mykes, signifiant « champignon à rayons » ou « champignon rayonnant » (Harir, 2018). Traditionnellement, les actinomycètes étaient considérés comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et les champignons. Ils sont désormais classés parmi les organismes procaryotes appartenant à l'ordre des Actinomycétales (Harir, 2018).

Ce sont des bactéries Gram positives chimio-organotrophes dont l'ADN contient plus de 50 % de GC. (Tableau N°1). Elles forment des filaments ramifiés qui se développent dans la gélose, créant un mycélium végétatif, et à la surface, un mycélium aérien. Ce dernier produit des conidies ou conidiospores. La différenciation des spores, leur regroupement et la composition en sucre de la paroi du mycélium constituent des critères de classification des différents genres de ce groupe (Larpent et Larpent Gourgau, 1997) (Figure 1 et 2).

**Tableau 1** : Pourcentage de GC (guanine-cytosine) des différents genres d'actinomycètes selon Larpent et Sanglier (1989).

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

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---



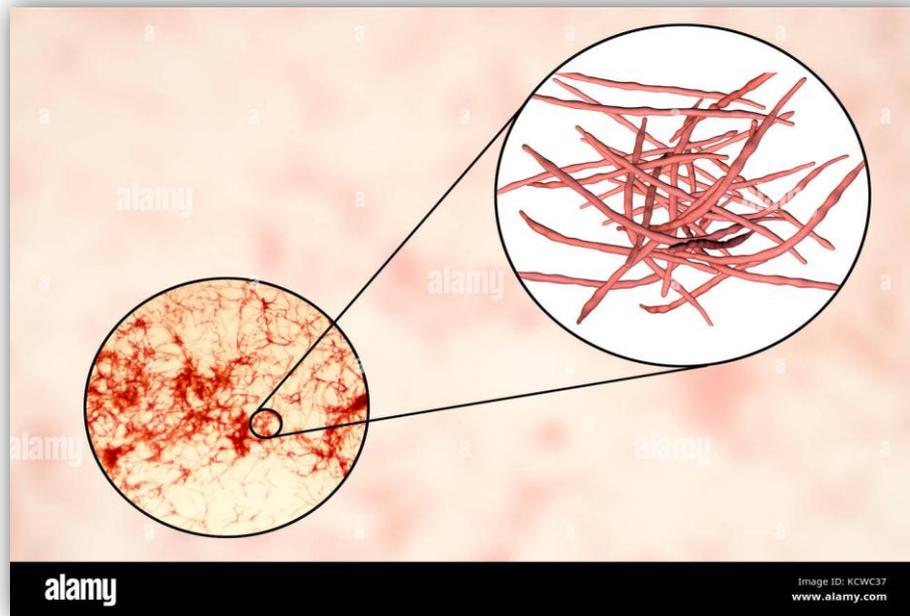
**Figure 1 :** Observation microscopique des actinomycètes après coloration de Gram (Bourée et al.,2009).



**Figure 2 :** l'aspect filamentueux des actinomycètes.

- ✚ Les actinomycètes sont des chimio-organotrophes qui exploitent une grande diversité de sources d'énergie, y compris les polymères complexes (Aouar, 2012).
- ✚ Le diamètre des actinomycètes, compris entre 1 et 2  $\mu\text{m}$ , est bien inférieur à celui des hyphes fongiques, qui varie de 5 à 10  $\mu\text{m}$  (Theilleux, 1993).
- ✚ Les actinobactéries sont généralement saprophytes, mais certaines, comme *Streptomyces scabies*, sont pathogènes pour les plantes (Bouaziz, 2018).
- ✚ Le diamètre de leur mycélium est environ un dixième de celui de la plupart des hyphes fongiques, se situant généralement entre 0,7 et 0,8  $\mu\text{m}$  (Bouterfa & Ibessaine, 2022).
- ✚ Les actinomycètes ne possèdent pas de membrane nucléaire et ont des organites flagellaires similaires à ceux des bactéries. La plupart sont sensibles aux Lysozymes et aux agents antibactériens (Harir, 2010).
- ✚ Ils se caractérisent par une croissance lente, avec un temps de génération moyen d'environ 2 à 3 heures (Messoudi, 2013).
- ✚ La sensibilité au chlorure de sodium et à certains agents chimiques, l'utilisation de sources de carbone et d'azote, la dégradation de polymères tels que l'amidon, la caséine et la gélatine, ainsi que la production de mélanine (Zerizer, 2014).

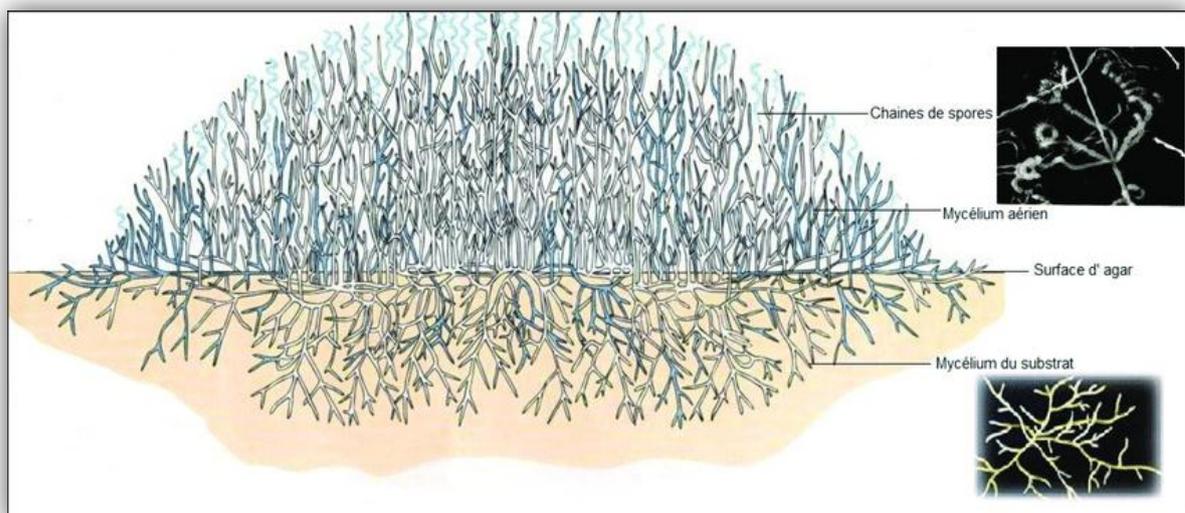
# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes



**Figure 3** : la forme des actinomycètes (kateryna, 2018)

Les Actinomycètes possèdent de nombreuses caractéristiques communes :

- Ils développent un réseau ramifié d'hyphes qui se développent à la surface et à l'intérieur du substrat, formant un tapis dense appelé mycélium végétatif.
- Les hyphes qui poussent vers le haut forment le mycélium aérien (figure 4).



**Figure 4** : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant des hyphes vivants (bleu-vert) et morts (blanc). Le mycélium végétatif et le mycélium aérien, avec des chaînes de conidiospores, sont représentés (Prescott et al., 2003).

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

- ✓ La plupart des actinomycètes ne sont pas mobiles ; lorsque la mobilité est présente, elle se limite aux spores flagellées.
- ✓ La paroi des actinomycètes ne contient ni chitine ni cellulose, mais se compose d'une glycoprotéine contenant de la lysine ou de l'acide diaminopimélique. Leur cytologie est similaire à celle des bactéries (**Lechevalier et Lechevalier, 1985**).
- ✓ Les spores d'actinomycètes se forment par septation des extrémités des filaments, généralement en réponse à la chaleur. Elles résistent bien à la dessiccation, ce qui leur confère une grande valeur adaptative.
- ✓ Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou alcalin et sont généralement mésophiles. Certains sont thermophiles, tolérant des températures avoisinant 50 °C et pouvant atteindre jusqu'à 60 °C (**Omura, 1992**).

### 3. Taxonomie et critère d'identification des actinomycètes

À l'origine, les méthodes classiques d'identification des actinobactéries reposaient sur des observations morphologiques, la chimio taxonomie, ainsi que des critères physiologiques et moléculaires. Les observations morphologiques permettaient d'identifier une souche inconnue au niveau du genre, notamment par la présence de mycélium aérien et de mycélium du substrat. Les critères chimio taxonomiques incluaient la détection des isomères de l'acide diaminopimélique (DAP), la détermination de la forme LL (Levo) des isomères DAP ou de la forme Méso étant généralement suffisante pour caractériser les groupes d'actinobactéries. Un large éventail de caractéristiques physiologiques était également évalué, incluant le profil d'utilisation des glucides et de l'azote, ainsi que la dégradation ou l'hydrolyse de nombreux substrats (**Barka et al., 2016 ; Amin et al., 2017**).

L'identification des actinobactéries par des méthodes traditionnelles, basées sur les caractéristiques phénotypiques, n'est pas aussi précise que les méthodes génotypiques. Les critères moléculaires ont été reconnus comme un outil puissant pour l'identification des actinobactéries (**Heuer et al., 1997 ; Busti et al., 2006**).

#### 3.1. Critères morphologiques :

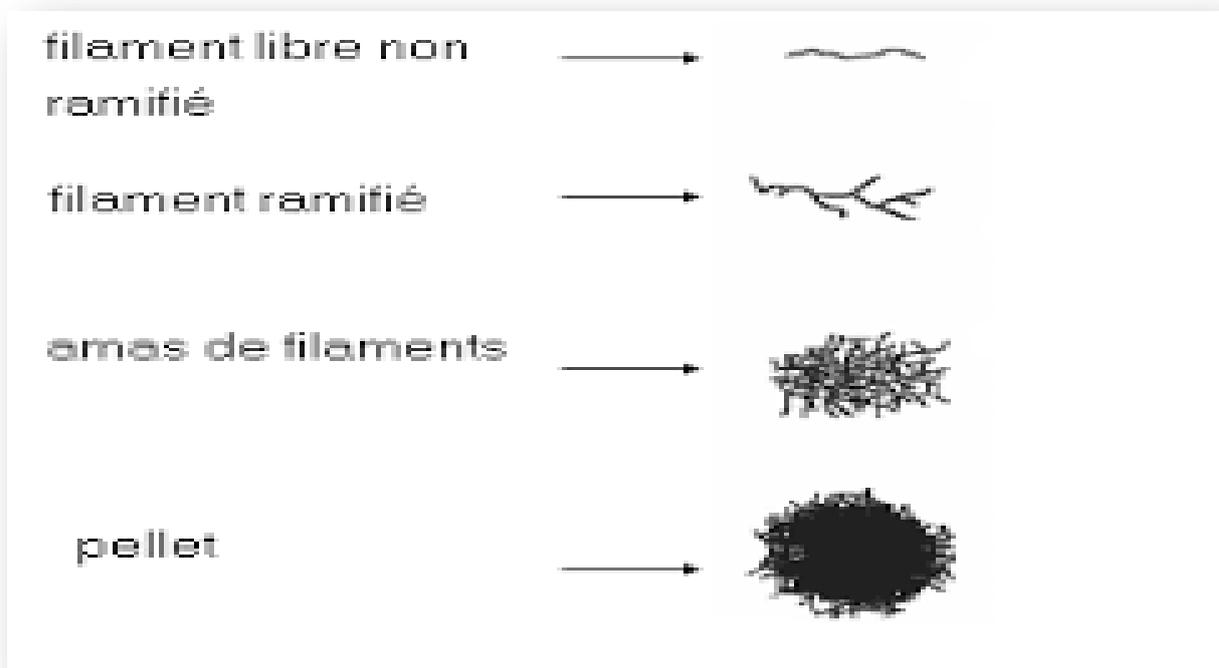
Les colonies formées par les actinomycètes présentent différents aspects macroscopiques sur des milieux solides et peuvent être regroupées en trois types : (**Aouar, 2006**)

- Colonies pâteuses pouvant être facilement détachées des milieux solides.
- Colonies poudreuses recouvertes d'hyphes aériens solidement attachés au milieu.

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

- Colonies exemptes de mycélium de substrat, composées d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons. (figure 4)

En culture liquide « sans agitation », les hyphes formés après la germination des spores montent à la surface pour croître en contact avec l'air. Cependant, en milieu liquide « avec agitation », il n'y a ni formation de mycélium aérien ni production de spores. Les *Streptomyces* initient la formation de filaments libres qui se ramifient et se regroupent pour former des agrégats (pellets) (Aouar, 2012). La figure ci-dessous montre les différentes classes morphologiques de filaments en culture liquide.



**Figure 5** : schéma illustrant la morphologie de *Streptomyces olindensis* cultivé en milieu liquide (Pamboukian et al., 2002).

Les caractères morphologiques importants permettant de différencier les différents genres d'Actinobactéries sont les suivants :

### 3.1.1. Caractéristiques culturelles ou macromorphologiques:

Les caractéristiques culturelles des actinobactéries sont déterminées par divers milieux de culture. Cela inclut la notation de la production de mycélium aérien (MA) et de la présence de mycélium du substrat (MS). Les couleurs du MA, du MS, ainsi que celles des pigments

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

diffusibles, si présents, sont déterminées à l'aide d'une charte de couleurs (Shirling et Gottlieb, 1966 ; Bouras et al., 2008).

## ❖ Mycélium aérien :

Le mycélium aérien est l'hyphe que le mycélium du substrat développe jusqu'à un certain stade et qui se développe dans l'air. Parfois, les hyphes aériens et le mycélium du substrat sont difficiles à distinguer. Cette distinction peut être facilitée par une préparation d'empreinte sur une lame de couverture, observée au microscope optique en mode sec (Warwick et al., 1994). La formation des hyphes aériens chez les Actinobactéries dépend des caractéristiques de l'espèce, des conditions nutritionnelles et des facteurs environnementaux. Le mycélium aérien de certains genres se développe à un certain stade en une chaîne de spores de forme supérieure, qui est un hyphe reproducteur produisant des spores (Li et al., 2016b) (figure 6 a).

## ❖ Mycélium de Substrat:

Le mycélium du substrat, également appelé mycélium végétatif ou primaire, se développe dans le milieu ou à sa surface. Sa fonction principale est l'absorption des nutriments nécessaires à la croissance des actinobactéries. Les actinosynnèmes se différencient en mycéliums de substrat avec des hyphes à longues ramifications qui pénètrent dans la gélose, se développent et forment des synnèmes. Les mycéliums du substrat peuvent être de diverses couleurs, y compris blanc, jaune,

orange, rouge, vert, et autres (Li et al., 2016). (Figure 6 b)



**Figure 6** : Croissance d'un isolat d'actinobactéries sur milieu agar à la caséine et à l'amidon (Ranjani et al., 2016). Note : A. Mycélium aérien. B. Mycélium de substrat.

Les colonies formées par les Actinomycètes sur des milieux solides présentent des caractéristiques distinctives. Elles résultent de l'accumulation d'hyphes ramifiés plutôt que de

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

cellules individuelles, contrairement aux colonies bactériennes. Ces colonies, d'un diamètre de 1 à 4 mm, ont un aspect compact et sont souvent pigmentées en jaune, orangé, blanc, crème, violet, rose, gris ou noir (figure 7) (Leclerc, 1977).



**Figure 7** : La couleur des Actinomycètes sur milieu solide. (Leclerc, 1977).

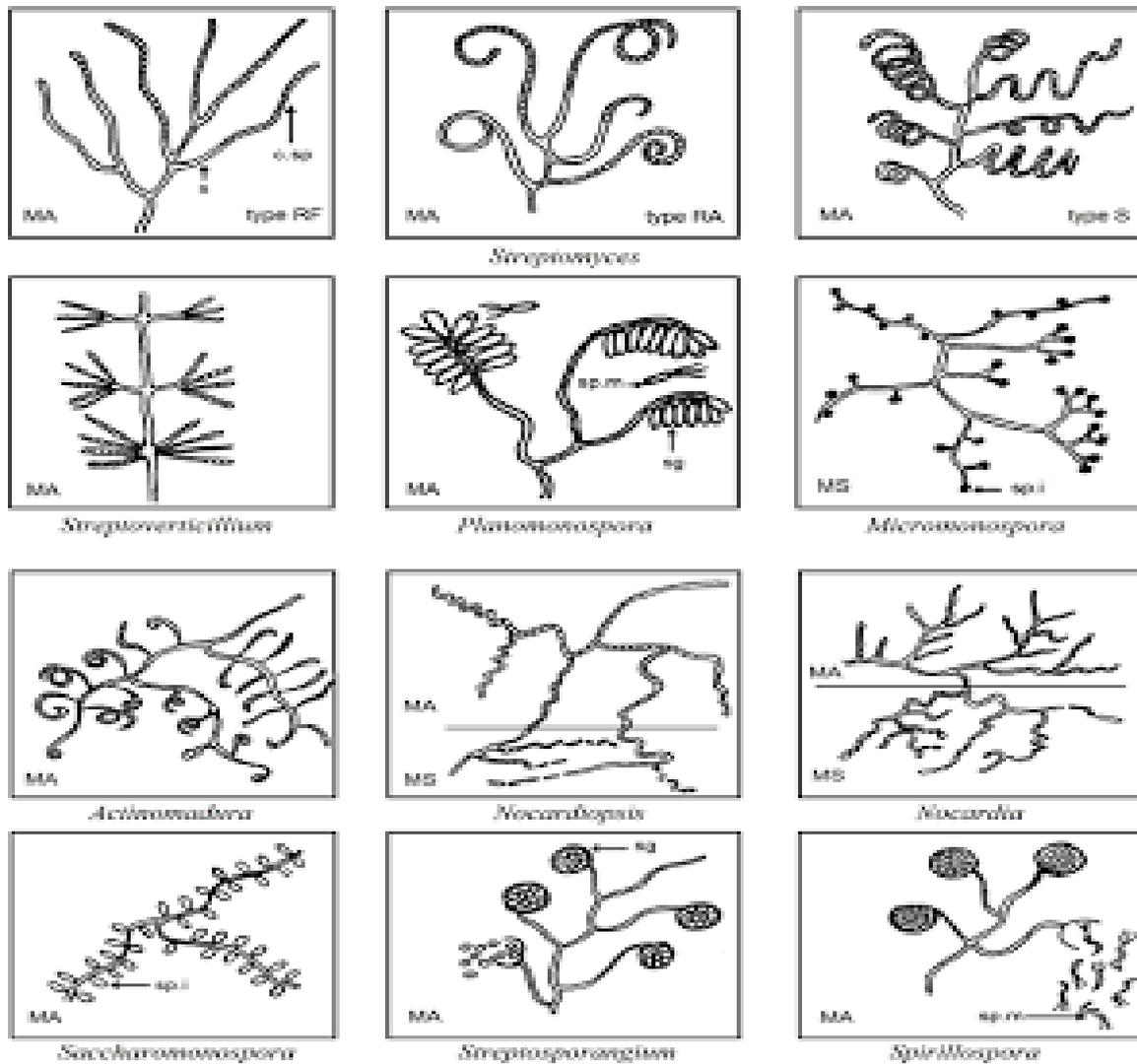
### 3.1.2. Caractères micromorphologiques :

Selon Boudjalal (2012), les critères micro-morphologiques importants sont :

- La fragmentation ou non du mycélium du substrat (MS).
- La présence de sporanges sur le mycélium aérien (MA) (*Streptosporangium*, *Spirillospora*, etc.) ou sur le MS (*Actinoplanes*, *Dactylosporangium*, etc.), ainsi que la forme et la taille des sporanges, le nombre de spores par sporange, et la longueur des sporangiophores.
- La formation de spores sur le MA et/ou sur le MS, leur forme, leur taille, et leur agencement : isolées (*Micromonospora*, *Saccharomonospora*), par deux (*Microbispora*), par quatre (*Microtetraspora*), ou en chaînes (*Actinomadura*, *Streptomyces*, etc.).
- Le mode de sporulation : spores portées par des sporophores (*Streptomyces*, *Actinomadura*, etc.) ou mycélium aérien se fragmentant de manière anarchique en spores (*Nocardiosis*, *Amycolatopsis*, *Saccharothrix*, etc.).
- La présence de spores mobiles (*Spirillospora*, *Actinoplanes*, etc.) ou non mobiles (*Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, etc.).
- L'ornementation de la surface des spores peut être lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue.
- La formation de structures particulières : synnemata (*Actinosynnema*), faux sporanges (*Kibdelosporangium*), etc.

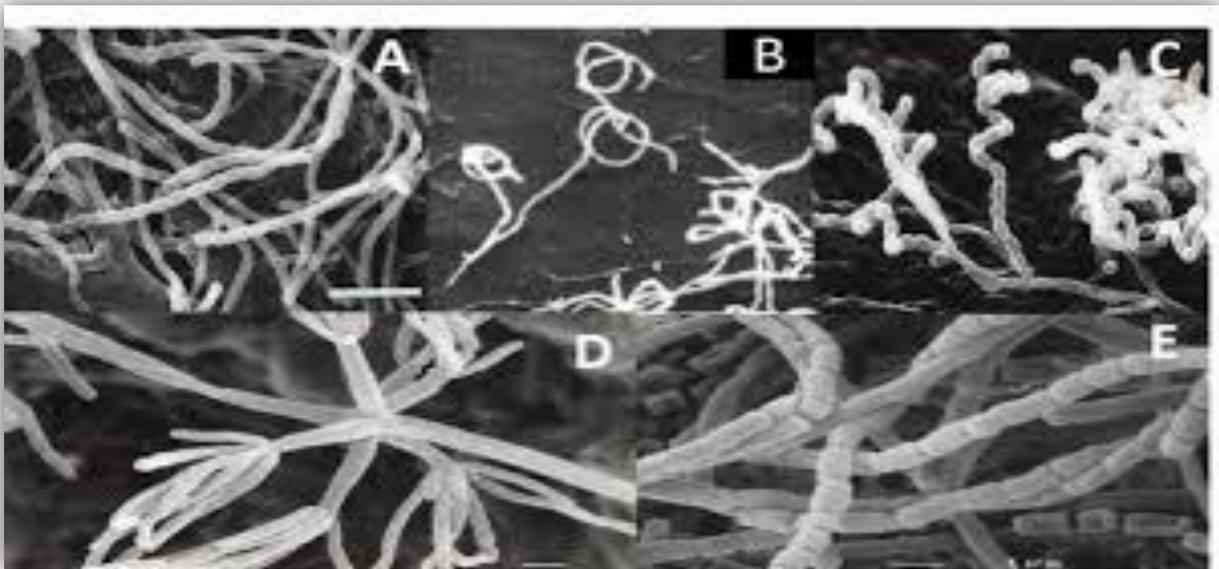
# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

La micromorphologie des principaux genres et quelques types de chaînes de spores sont illustrés respectivement dans les (Figures 8 et 9).



**Figure 8.** Micromorphologie des principaux genres d'actinomycètes (Sabaou, 1988). MA : mycélium aérien ; MS : mycélium du substrat ; RF : Rectus-Flexibilis (chaînes de spores droites à flexueuses). RA : Retinaculum-Apertum (chaînes en crochets ou en boucles). S : Spira (chaînes spiralées). S = sporophore. C. sp. : Chaînes de spores. Sp.i. : spores isolées. Sp. m. spores mobiles. SG : sporanges.

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes



**Figure 9** : Micrographie montrant la production de spores en longues chaînes. (A) Chaîne de spores rectiflexibles de *Streptomyces actuosus* U227, (B) Chaîne de spores en boucle chez *Streptomyces vinaceus*, (C) Chaîne de spores en spirale chez *Streptomyces sp.* SF2587, (D) Chaîne de spores verticillées chez *Streptomyces verticillus* AT291, (E) Hyphes aériennes fragmentées de *Nocardia lucentensis* IFO15854T.

## 3.2. Critères chimiques (chimiotaxonomie) :

Ces critères incluent la détermination de la composition cellulaire en acides aminés pariétaux, en glucides totaux, en phospholipides, en ménaquinones, en acides gras membranaires, ainsi qu'en acides mycoliques pariétaux (Toumatia, 2015).

### 3.2.1. Constituants pariétaux :

Isomères de l'acide diaminopimélique et acides aminés :

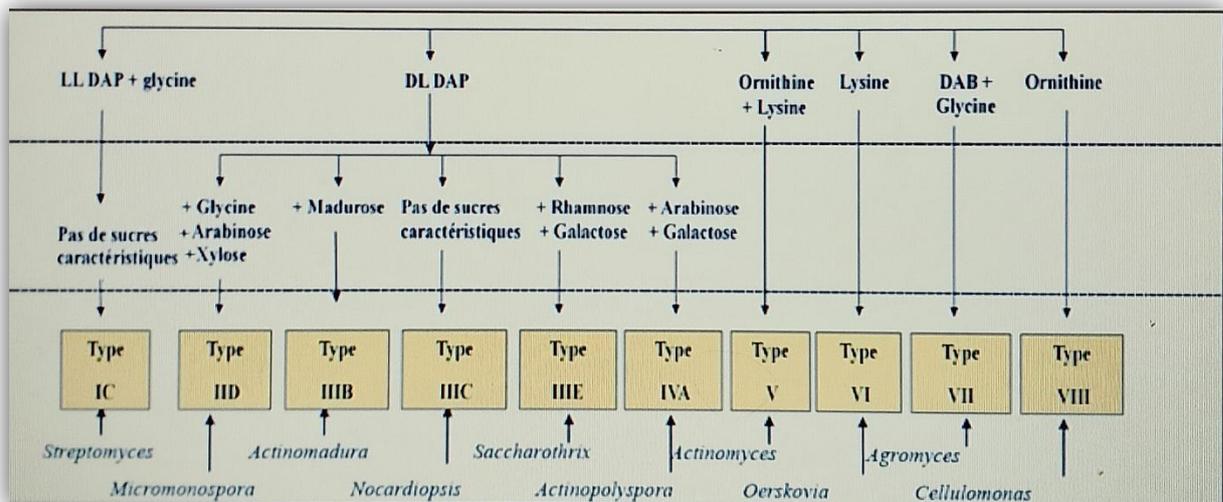
La muréine, ou peptidoglycane, constitue un élément clé de la paroi des bactéries à Gram positif, y compris les actinobactéries. L'analyse des acides aminés qui la composent est utilisée pour déterminer les chimiotypes. Deux acides aminés sont d'une importance taxonomique cruciale pour les actinobactéries mycéliennes : l'acide diaminopimélique (DAP), qui peut se présenter sous deux formes, LL ou DL (méso) selon les genres, et la glycine, qui peut être présente ou absente, facilitent la formation de liaisons « pont » entre les sous-unités peptidiques de la muréine (Becker et al., 1964 et 1965 ; Yamaguchi, 1965 ; Labeda et al., 1984). Chez certaines actinobactéries

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

non mycéliennes, le DAP peut être substitué par la lysine, l'ornithine ou l'acide diamino-butyrique (Saker, 2015).

## 3.2.2. Composition cellulaire en sucres :

Les glucides de la paroi cellulaire permettent une classification en quatre principaux groupes. Le profil de sucres A (arabinose + galactose) est spécifique aux genres *Nocardia* et *Saccharopolyspora*. Le spectre glucidique B (madurose) est trouvé chez les genres *Actinomadura* et *Streptosporangium*. Les *Streptomyces* et des genres similaires ne produisent aucun glucide en quantité caractéristique (spectre C), tout comme les genres *Thermomonospora* et *Thermoactinomyces*. La présence de xylose et d'arabinose (spectre D) est typique des *Actinoplanes* et du genre *Micromonospora* (Lechevalier et Lechevalier, 1970). La figure 10 illustre une clé d'identification basée sur la composition cellulaire en acides aminés et en sucres.



**Figure 10** : Types chimiotypiques observés chez les Actinobactéries. Note : + indique la présence, Gly : glycine, DAP : acide diamino-pimélique, DAB : acide diamino-butyrique.

- Les catégories I, II, III et IV sont définies par **Becker et al. (1965)**, **Yamaguchi (1965)** et **Lechevalier et Lechevalier (1970)**, en se basant sur la forme LL ou DL de l'acide diamino-pimélique et la présence ou absence de glycine.
- Les catégories A, B, C, D et E sont définies par **Lechevalier et Lechevalier (1970)**, **Labeda et al. (1989)** et **Stackebrandt et al. (1994)**, en se basant sur la présence ou absence des sucres mentionnés.

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

## 3.2.3. Constituants membranaires et pariétaux (Lipides) :

Pour identifier certains genres d'actinobactéries, la composition en acides aminés et en sucres peut s'avérer insuffisante. L'analyse des lipides est également cruciale, tout comme le type de paroi cellulaire, et fournit des informations précieuses pour la classification et l'identification microbienne. Les lipides taxonomiquement importants se répartissent en trois groupes : les lipides à partie polaire (phospholipides), les ménaquinones, les acides gras, et parfois les acides mycoliques (Lechevalier et Lechevalier, 1980 ; Collin et al., 1977). Les lipides taxonomiquement significatifs incluent les suivants :

### 3.2.3.1. Phospholipides

La composition en phospholipides de la membrane est l'un des critères les plus significatifs. Elle permet de distinguer les différents genres ayant le même chimiotype. En se basant sur cette composition, les actinobactéries ont été classées en cinq types de phospholipides : PI à PV (Lechevalier et al., 1977) (Tableau 2).

**Tableau 2** : Types de phospholipides membranaires présents chez les actinobactéries (Lechevalier et al., 1977)

Type de phospholipides	PE	PC	PG	PGI	Exemples
PI	-	-	-	V	<i>Actinomadura.</i>
PII	+	-	-	+	<i>Streptomyces,</i> <i>Pseudonocardia.</i>
PIII	-	+	-	V	<i>Nocardiosis,</i> <i>Amycolatopsis.</i>
PIV	+	-	+	-	<i>Nocardia,</i> <i>Nonomuraea.</i>
PV	-	-	+	+	<i>Oerskovia</i>

Note : PE : phosphatidyléthanoline, PC : phosphatidylcholine, PG : phospholipides contenant la glucosamine, PGLY : phosphatidylglycérol, V : variable :(+/-).

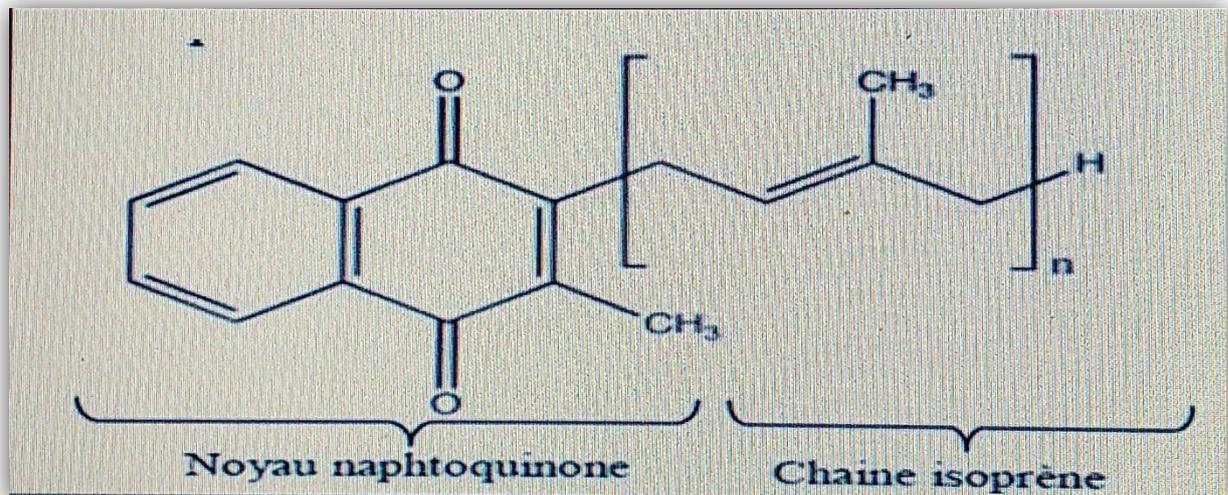
### 3.2.3.2. Acides gras :

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

Les acides gras les plus courants chez les actinobactéries appartiennent soit au groupe des molécules comportant de 12 à 20 atomes de carbone, soit au groupe des acides mycoliques avec 20 à 90 atomes de carbone. La présence d'acides mycoliques est caractéristique de genres comme *Nocardia*, *Mycobacterium*, et *Rhodococcus* (Larpen et Larpen Gourgaud, 1985). La composition membranaire en acides gras constitue également une donnée complémentaire permettant, dans certaines situations, de distinguer certains genres entre eux. Cette analyse est obligatoire lors de la description de nouvelles espèces (Minnikin et al., 1984 ; Kroppenstedt et al., 1990).

### 3.2.3.3. Ménaquinones :

Elles sont catégorisées selon le nombre d'unités isoprènes et le degré de saturation de la chaîne (Collins et al., 1980). La variation dans la longueur et le degré de saturation de la chaîne latérale des ménaquinones leur confère une signification particulière en chimiotaxonomie. Par exemple, la ménaquinon MK-10 (H<sub>2</sub>), présente chez *Nocardioopsis*, contient dix unités isoprènes avec deux d'entre elles hydrogénées.



**Figure 11** : Schéma représentant la structure générale des ménaquinones (Rodríguez Concepción et Boronat, 2013).

### 3.2.3.4. Acides mycoliques :

Les acides mycoliques sont des acides gras 2-alkyl 3-hydroxy de haut poids moléculaire à longue chaîne (pouvant aller jusqu'à 90 atomes de carbone) présents chez des genres tels que *Corynebacterium*, *Dietzia*, *Gordona*, *Myobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Turicella* et

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

*Tsukumurella* (Ruimy et al., 1995). La détection des acides mycoliques permet de restreindre considérablement les possibilités de classification (Wang et Jiang, 2016).

Ces acides sont particulièrement importants pour différencier certaines actinobactéries ayant le chimiotype IVA (Mordarska et al., 1972), telles que le genre *Nocardia* qui en possède de 46 à 64 atomes de carbone (Goodfellow et al., 2012).

### 3.3. Critère physiologique et taxonomie numérique

Les tests physiologiques utilisés comprennent la dégradation de divers composés organiques tels que les glucides, les lipides, les protéines, les polymères complexes, les stéroïdes, entre autres. Ils incluent également des tests de résistance à divers agents chimiques comme les antibiotiques, ainsi que la tolérance au pH, à la température et à la salinité. Cependant, la grande quantité de tests physiologiques rend souvent les résultats difficiles à exploiter. C'est pourquoi les systématiciens ont longtemps appliqué la taxonomie numérique aux actinobactéries (Goodfellow et al., 1990). Cette approche a permis d'apporter plus de clarté dans la reconnaissance des espèces, avec des résultats particulièrement remarquables pour le genre *Streptomyces*. En effet, le nombre d'espèces initialement estimé à 463 a été réduit à 142 (Williams et al., 1989).

#### 3.3.1. L'oxygène

Les actinomycètes peuvent être divisés en deux groupes selon leurs types respiratoires :

- **Formes fermentatives anaérobies** : Ces bactéries, exemplifiées par le genre type *Actinomyces*, sont des commensales obligatoires présentes dans les cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs. Elles font partie de la flore de Veillons (Avril et al., 1992).
- **Formes oxydatives aérobies** : Comprenant les *Streptomyces*, ces bactéries sont abondantes dans la nature, en particulier dans le sol (Avril et al., 1992)

#### 3.3.2. Le pH

La majorité des actinomycètes sont des bactéries neutrophiles, présentant une croissance optimale dans un intervalle de pH de 7 à 8. Cependant, certaines souches acidophiles, comme le genre *Streptacidiphilus*, peuvent croître à des valeurs de pH inférieures à 4 (McKinney, 2004; Wang et al., 2006).

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

## 3.3.3. La température

La température optimale de croissance pour la plupart des actinomycètes se situe entre 25 et 30°C. Les espèces thermophiles, en revanche, peuvent croître à des températures comprises entre 55 et 65°C (Rangaswami et al., 2004).

## 3.3.4. L'activité de l'eau ( $A_w$ )

La germination des spores de la plupart des actinomycètes peut se produire à des valeurs d'activité de l'eau ( $A_w$ ) supérieures ou égales à 0,67. L'activité de l'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est de 0,98 (Zvyagintsev et al., 2005).

## 3.3.5. Tolérance au NaCl

Les microorganismes peuvent être divisés en deux groupes selon leurs exigences en NaCl :

- **Halophiles** : Ces bactéries nécessitent du sel (NaCl) pour leur croissance. La concentration peut varier de 1 à 6 % (P/V) pour les halophiles modérés, et de 15 à 30 % pour les halophiles extrêmes. (Messaoudi, 2012)

- **Halotolérants** : Ces bactéries tolèrent des concentrations modérées de sel mais ne nécessitent pas obligatoirement du NaCl pour leur croissance. On distingue : (référence)

- Les légèrement tolérants (tolèrent de 6 à 8 % de NaCl (P/V))

- Les modérément tolérants (tolèrent de 18 à 20 % de NaCl (P/V))

- Les extrêmement tolérants peuvent se développer dans des conditions allant de 0 % à une saturation en NaCl (Nanjani, 2011).

## 3.4. Critères moléculaire

Depuis l'avènement de la biologie moléculaire au début des années 1980, les tests de routine sont progressivement remplacés par des techniques moléculaires avancées. Grâce à la biologie moléculaire, plusieurs alternatives sont désormais disponibles en quelques jours seulement, comparé à plusieurs semaines avec les méthodes traditionnelles. Parmi les principales techniques moléculaires utilisées en taxonomie, on trouve l'analyse des séquences d'ADN codant pour l'ARN

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

ribosomique 16 S (ADNr 16 S), l'hybridation ADN-ADN, la détermination du pourcentage de guanine-cytosine (GC %), ainsi que l'analyse des séquences de protéines ribosomiques. La fiabilité et la rapidité d'exécution de ces techniques ont permis une révision approfondie de la phylogénie des actinobactéries (Stackebrandt et al., 1997 ; Rheims et al., 1999).

## 3.4.1. Analyse des séquences du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S :

Woese et Fox (1977) ont mis en avant la théorie neutraliste de l'évolution, soulignant que l'évolution suit un rythme presque indépendant des changements phénotypiques. Dans ce contexte, il est possible de construire un arbre phylogénétique en utilisant des méthodes mathématiques et en respectant certaines règles. Woese (1987) a choisi l'ARNr 16 S comme outil pour la classification phylogénétique et l'identification bactérienne pour plusieurs raisons :

- Sa présence est universelle chez tous les organismes procaryotes
- Sa séquence alterne entre des domaines à évolution rapide et d'autres très conservés, ce qui permet la comparaison entre des espèces très proches et très éloignées.
- Il a évolué lentement au fil du temps, probablement en raison de son rôle physiologique crucial chez les bactéries.
- Il n'est pas sujet aux transferts latéraux.
- Il est plus utilisé que le gène codant pour l'ARNr 5 S et 23 S en raison de sa taille moyenne et de sa structure secondaire moins marquée. Sa séquence est suffisamment longue pour permettre des comparaisons statistiquement significatives (Saker, 2015).

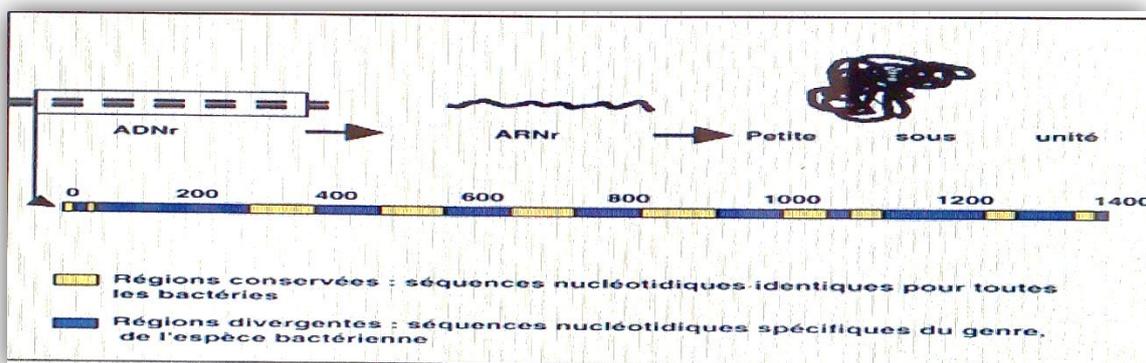


Figure 12 : Organisation du gène codant pour l'ARNr 16S. (Stackebrandt et al., 1983)

## 3.4.2 Hybridation ADN-ADN et détermination du pourcentage de guanine-cytosine :

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

L'hybridation ADN-ADN est une méthode cruciale pour identifier de nouvelles espèces. Typiquement, elle est utilisée lorsque les souches présentent une similarité de séquence génétique de l'ARNr 16 S supérieure à 97 %. Si une nouvelle souche montre un degré élevé de similitude avec plusieurs espèces connues, une hybridation ADN-ADN (DDH) doit être réalisée avec toutes les souches pertinentes pour confirmer la distinction suffisante et justifier la classification en tant que nouveau taxon. En 1987, le Comité international de bactériologie systématique (ICSB) a établi que si la valeur de DDH est supérieure à 70 % ou si la différence de température de fusion de la chaîne hybride est inférieure à 2 °C, les souches doivent être considérées comme appartenant à la même espèce (**Xiu et al., 2016**).

Chez les bactéries, le pourcentage de guanine et de cytosine (G+C) varie généralement entre 25 et 78 %. La détermination précise de ce pourcentage est essentielle pour l'espèce type d'un nouveau genre, mais devient facultative si l'espèce appartient à un genre déjà décrit (**Euzéby, 2002**). Les actinobactéries se caractérisent par un taux élevé de G+C, typiquement supérieur à 5 % (**Prescott et al., 2010**). Ce critère a permis de distinguer la lignée des actinobactéries des autres bactéries à Gram positif comme les *Bacillaceae* et les *Lactobacillaceae*, qui ont un taux de G+C inférieur à 55 %. Des bactéries non mycéliennes comme *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter* et même *Micrococcus* sont incluses dans la lignée phylogénétique des Actinobactéries (**Garrity et al., 2004**). Le Manuel de (**Bergey de 2012**), en utilisant la phylogénie et les signatures des nucléotides, a subdivisé l'ordre des Actinomycétales en plusieurs ordres distincts.

## 4. Milieux de culture des actinomycètes

La composition d'un milieu de culture doit favoriser la croissance bactérienne en répondant aux besoins nutritionnels des bactéries. Les meilleurs milieux de culture pour l'isolement des actinomycètes contiennent généralement de l'amidon, du glycérol ou de la chitine comme source de carbone, ainsi que de la caséine, de l'asparagine ou de l'arginine comme source d'azote organique (**Burman, 1973 ; Williams et al., 1993 ; Hilali et al., 2002**).

Pour l'isolement des Actinomycètes, des antibiotiques sont ajoutés aux milieux sélectifs pour inhiber la croissance de certains germes indésirables. Les antibiotiques les plus couramment utilisés sont : la nystatine, le cycloheximide (Actidione), la pimarcicine et l'amphotéricine B pour l'inhibition des champignons ; ainsi que la polymyxine, la novobiocine, l'acide nalidixique et la colistine pour stopper les bactéries Gram négatives (**Nonomura et Hayakawa, 1988 ; Larpent et**

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

Larpent, 1990 ; Takizawa et al., 1993 ; Kurtböke et Wildman, 1998). L'incubation se fait généralement à une température de 28 ou 30 °C, ce qui favorise le développement des actinomycètes (Burman, 1973).

## 5. Classification

Selon le **Bergey's Manual (2012)**, les actinomycètes sont classés dans le domaine Bacteria et dans le phylum des Actinobacteria, subdivisé en 6 classes, parmi lesquelles celle des Actinobacteria. Cette classe est à son tour divisée en 15 ordres. Parmi eux, les plus importants sont ceux des *Actinomycétales* et des *Streptomycètes* (voir tableau 3) (Goodfellow et al., 2012).

**Tableau 3** : Classification des actinomycètes selon le "Bergey's Manual de Systématique Bactériologique" (2012)

DOMAINE	BACTERIA					
<b>PHYLUM</b>	<i>Actinobacteria</i>					
<b>CLASSE</b>	<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Acidimicrobia</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Rubrobacteria</i>	<i>Coriobacteria</i>	<i>Thermoleophilia</i>
<b>ORDRE</b>	<i>Actinomycétales</i> <i>s</i> <i>Streptomycetales</i> <i>es</i> <i>plus les 13</i> <i>Ordres.</i>					
<b>FAMILLE</b>	<i>Actinomycetaceae</i>					<i>Streptomycetaceae</i>
<b>GENRE</b>	- <i>Actinomycetes plus les 6 autres genres</i>					<i>Streptomyces plus les 2 autres genres</i>

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

## 6. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature

Les Actinomycètes sont largement répandus et se trouvent dans une multitude d'environnements naturels et artificiels. Ils colonisent divers habitats tels que le sol, l'air, l'eau douce, les océans, ainsi que des substrats variés comme les engrais, les résidus végétaux compostés et les produits alimentaires (Tableau 4) (Kumar et al., 2003).

**Tableau 4 :** Habitats de certains actinomycètes (Grigorova et Norris, 1990).

<b>Actinomycètes</b>	<b>Habitats</b>
<i>Actinoplanes</i>	L'eau douce, la litière végétale, le sol.
<i>Frankia</i>	Les nodules racinaires des non légumineux.
<i>Micromonospora</i>	L'eau douce, les sédiments, les sols humides.
<i>Nocardia amarae</i>	Les boues activées.
<i>Rhodococcus coprophilus</i>	déjections animales, l'eau, le sol.
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	Moisi du foin
<i>Streptomyces</i>	Le sol, la litière végétale, l'eau.
<i>Thermoactinomyces</i>	Le compost.

### 6.1. Les actinomycètes de sol

Le sol joue un rôle crucial dans les interactions biologiques, en tant qu'habitat pour la végétation et la faune, et en tant que réservoir majeur de divers produits chimiques, organiques et inorganiques, émis intentionnellement ou accidentellement par les humains. L'environnement du sol est principalement constitué d'une phase solide composée de minéraux inorganiques, de matière végétale et animale en décomposition, ainsi que d'une riche diversité de micro-organismes et de leurs métabolites (Stotzky, 1986).

Parmi les micro-organismes du sol, les actinomycètes occupent une place importante, bien que moins dominante que les bactéries et plus significative que les champignons. Ils représentent

## Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

généralement de 10 à 50 % de la communauté microbienne totale, mesurée par des méthodes telles que l'électrodeposition, dans les sols cultivés et non cultivés. Leur abondance varie considérablement selon les types de sol, allant de  $10^5$  à  $10^6$  cellules par gramme dans les zones tempérées.

En Antarctique, dans les tourbières acides et les sédiments d'eaux diverses, les actinomycètes sont peu nombreux. Leur présence est maximale dans les couches superficielles du sol et diminue avec la profondeur. Dans les sols secs et alcalins, leur abondance relative est plus élevée. Les espèces les plus courantes d'actinomycètes dans le sol incluent *Streptomyces*, qui peut constituer plus de deux tiers des colonies observées sur des plaques de dilution, suivis par *Nocardia*, représentant jusqu'à un tiers, et *Micromonospora*, atteignant environ 5 % (Alexander, 1961). Lechevalier et Lechevalier (1967) ont isolé environ 5000 actinomycètes à partir de 16 types de sols différents, dont plus de 95 % étaient des *Streptomyces*.

**Tableau 5 :** Répartition des différents genres d'actinomycètes dans le sol (Selon Lechevalier et Lechevalier, 1967).

Genre	Pourcentage
<i>Streptomyces</i>	95,34
<i>Nocardia</i>	1,98
<i>Micromonospora</i>	1,4
<i>Thermomonospora</i>	0,22
<i>Actinoplanes</i>	0,20
<i>Microbispora</i>	0,18
<i>Mycobacterium</i>	0,14
<i>Streptosporangium</i>	0,10
<i>Actinomadura</i>	0,10
<i>Micropolyspora</i>	0,10
<i>Pseudonocardia</i>	0,06
<i>Microellobosporia</i>	0,04

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

Les cendres volcaniques et les rizières sont des types de sols caractéristiques du Japon. Les actinomycètes étaient nombreux ( $80 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$ ) dans les sols cultivés de cendre volcanique de montagne et moins abondants dans les rizières ( $26 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$ ). Leur présence était moindre dans les sols vierges par rapport aux sols cultivés (**Kumar et al., 2003**).

## 6.2. Actinomycètes dans les sols de rhizosphères de plantes

La plupart des actinomycètes sont présents dans divers types de sols tels que les champs agricoles, les forêts tropicales et les grottes naturelles (**Gomes et al., 2000 ; Nakaew et al., 2009**). Certains Actinomycètes se trouvent également dans la rhizosphère du sol. Le terme « rhizosphère », introduit par Martin et Kemp pour la première fois (**Hiltner, 1904**), désigne la zone du sol entourant les racines des plantes. Dans cette zone, la densité des actinomycètes est plus élevée que dans les sols dépourvus de racines (sols en vrac) (**Lynch, 1990**). Cette différence est due à la sécrétion de petits composés organiques par les racines sous forme d'exsudats, qui fournissent nutriments et sources d'énergie pour la croissance microbienne (**Soderberg et Baath, 1998**). Il est bien connu que les exsudats contiennent des acides organiques, des acides aminés, des acides gras, des vitamines et des monomères de glucides. La composition et la quantité des exsudats racinaires varient selon les espèces végétales et les conditions abiotiques telles que la température et l'humidité du sol (**Martin et Kemp, 1980**). La flore microbienne de la rhizosphère comprend principalement des bactéries, des champignons et des actinomycètes. Les interactions entre les micro-organismes procaryotes et les racines des plantes peuvent avoir des effets bénéfiques, nuisibles ou neutres sur la plante, selon le type d'interaction symbiotique et les conditions du sol (**Smith et Read, 1997**).

## 6.3. Les actinomycètes du compost et matériel relatif

Les microbes mésophiles, y compris les actinomycètes, décomposent les substrats riches en nutriments et génèrent une température plus élevée, créant des conditions idéales pour la croissance rapide des actinomycètes thermophiles. Des genres comme *Thermoactinomyces*, *Saccharomonospora*, *Micropolyspora*, *Pseudonocardia*, *Streptomyces* et *Thermomonospora* ont été isolés de substrats auto-chauffés. Les espèces de *Thermomonospora* se développent particulièrement bien durant la deuxième phase de préparation de l'engrais pour la culture de champignons, tandis que *Streptomyces diastaticus* et *Thermoactinomyces vulgaris* prédominent dans le compost cuit à la vapeur et ses poussières (**Kumar et al., 2003**).

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

## 6.4. Les actinomycètes de l'air :

Les actinomycètes peuvent être détectés dans l'air à l'aide de méthodes de piégeage et d'échantillonnage appropriées. Leur diffusion aéroportée est principalement liée à la quantité de poussière à laquelle les spores et les fragments mycéliens s'accrochent. Toute action qui perturbe le sol sec, comme les premières gouttes de pluie, projette des particules de sol dans l'air, augmentant ainsi le nombre de *Streptomyces* présents dans l'air (**Kumar et al., 2003**).

## 6.5. Les actinomycètes aquatiques

### 6.5.1. Les actinomycètes des eaux douces

Les actinomycètes sont largement présents dans les environnements aquatiques, mais cela ne prouve pas qu'ils font partie de la flore microbienne indigène. L'occurrence et l'importance des actinomycètes dans l'eau douce ont été étudiées par plusieurs chercheurs (**Erikson, 1941 ; Burman, 1973 ; Rowbotham et Cross, 1977 ; Makkar et Cross, 1982**). Les genres d'actinomycètes couramment trouvés dans l'eau douce incluent *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Rhodococcus* et *Thermoactinomyces* (**Williams et al., 1983**). Les Actinomycètes sont généralement plus nombreux dans les cours d'eau et les rivières que dans les lacs et les réservoirs. *Streptomyces* et *Micromonospora* sont souvent plus abondants dans les rivières, probablement en raison de la concentration de spores hydrophobes et d'hyphes à l'interface de l'eau et de l'air.

Les actinomycètes peuvent rendre l'eau potable désagréable en développant des goûts et des odeurs terreux ou moisis. **Gerber (1979)** a étudié la chimie et la distribution des composés volatils et a conclu que la géosmine, le trans-1,10-diméthyl-9-trans-decalol et le méthylisobornéol se produisent fréquemment.

### 6.5.2. Les actinomycètes marins

Certaines souches d'actinomycètes ont été retrouvées dans des environnements marins (**Singh et al., 2006 ; Imada et al., 2007**), notamment dans des sédiments situés à plus de 4000 mètres de profondeur (**Khattabi et al., 2002**). Ils sont également présents dans les fonds fluviaux et lacustres. La colonisation normale du milieu marin est un point controversé : certains affirment qu'il existe une flore spécifique d'actinomycètes dans les sédiments marins, caractérisée par sa barotolérance, son halophilie et une faible température optimale ; d'autres pensent que les

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

---

actinomycètes isolés de ces milieux sont des souches terricoles adaptées à la salinité marine (**Larpent et Sanglier, 1989**). On trouve également des actinomycètes dans les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés, mais ils semblent absents des eaux minières très acides (pH <1) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique (**Lechevalier, 1981**).

## 6.5.3. Importance des actinobactéries marines

Bien que quelques espèces d'actinobactéries soient pathogènes, la majorité d'entre elles est extrêmement utile. Leur diversité métabolique et leur diversité écologique exceptionnelles en font des producteurs potentiels de nombreuses molécules aux propriétés variées, intéressantes dans plusieurs domaines tels que la médecine, la vétérinaire et l'industrie (**Peczynska-Czoch et Mordarski, 1988 ; Sanglier et al., 1993**).

## 6.5.4. Rôle des actinobactéries dans le milieu marin

Les actinobactéries jouent un rôle important dans l'environnement marin. La dégradation et la transformation de divers matériaux dans cet environnement sont des processus continus grâce à l'action d'une variété de microorganismes, y compris les actinobactéries. On discute que l'augmentation ou la diminution de certaines enzymes produites par ces microorganismes peut indiquer la concentration du substrat naturel et les conditions environnementales (**Das, 2006**).

Les actinobactéries contribuent également à la décomposition et au recyclage des composés organiques (**Weyland, 1969**) et même à la dégradation de polymères complexes tels que les polysaccharides, la chitine, les lignocelluloses, les mycotoxines et bien d'autres substrats.

## 7. Cycle de développement des actinomycètes

Le cycle de développement de *Streptomyces* commence par la germination des spores, donnant naissance à un mycélium primaire composé d'hyphes non séptés et plurinucléés, ancré dans le milieu solide (étape 0-1). À partir de ce mycélium primaire se développe un mycélium aérien (étape 2-3), qui se spiralise par la suite (étape 4-5). Le mycélium végétatif produit des sporophores qui s'étendent verticalement au-dessus de la colonie. Les extrémités des hyphes aériens se cloisonnent et se différencient (étape 6), formant des chaînes de spores uninucléées (étape 7), entamant ainsi un nouveau cycle (**Flärdh et Bruttner, 2009**).

# Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes

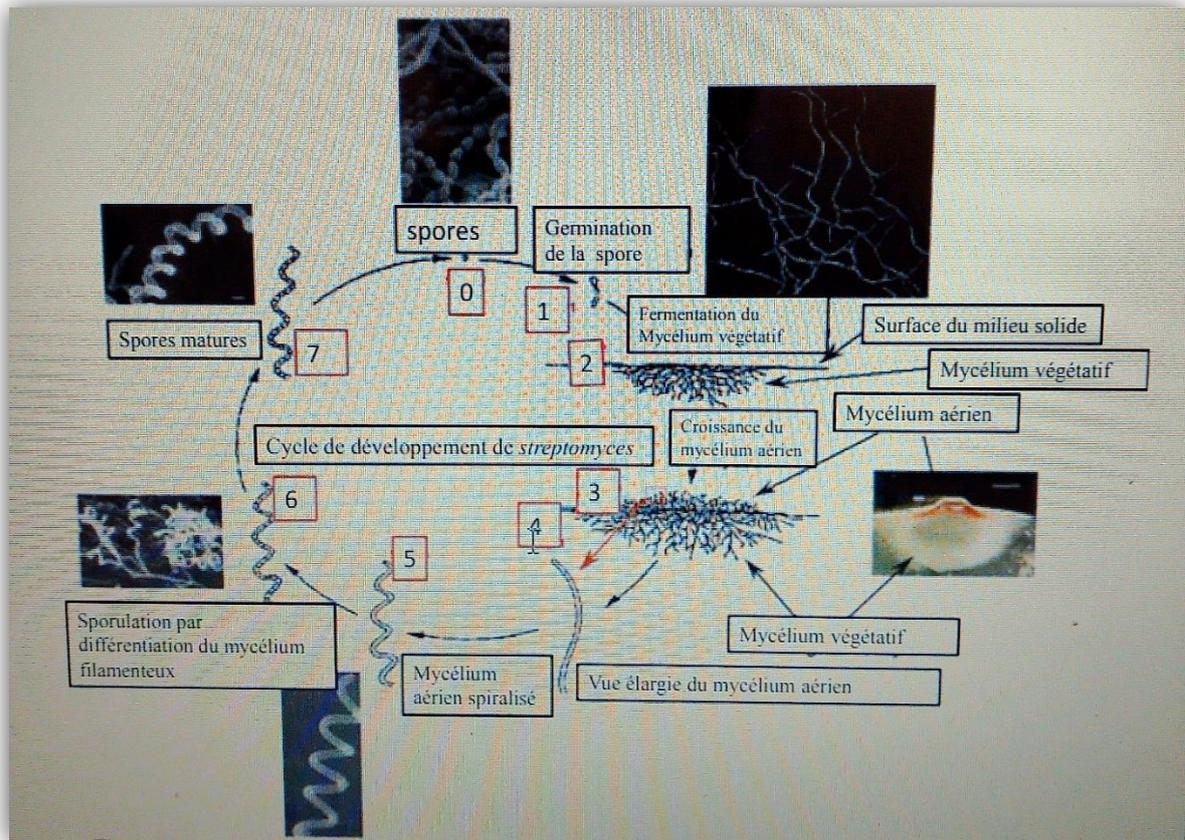


Figure 13 : Cycle de développement de Streptomycètes (Magulez et al., 2000).

## ***Chapitre 2 :***

# ***Généralité sur les antibiotiques***

# Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

---

## Généralité sur les antibiotiques

### 1. Origine des antibiotiques

- Le terme « antibiotique » a été utilisé pour la première fois en 1942 par Waksman, qui le définissait comme une substance chimiquement pure produite par des microorganismes, capable d'inhiber la croissance ou de détruire des bactéries ou certains autres microorganismes en solution diluée, in vitro ou in vivo (**Simon et Meunier, 1970**). À l'origine, le mot antibiotique désignait tout produit microbien inhibant ou tuant des microorganismes à très faibles concentrations. Aujourd'hui, il inclut également toute substance synthétique ou semi-synthétique dotée de ces propriétés (**Singleton, 1994**). Les actinobactéries sont les principaux fournisseurs de substances bioactives, représentant 45 % de ces molécules d'origine microbienne, soit environ 10 100 composés (**Berdy, 2005 ; Solecka et al., 2012**).
- L'antibiothérapie, ou chimiothérapie antibactérienne, est un traitement par antibiotique à des fins curatives ou préventives (prophylactiques). Il s'agit le plus souvent d'une monothérapie, mais peut parfois inclure une bithérapie ou même une trithérapie, comme dans le cas du traitement de la tuberculose (**Denyer et al., 2004**). Les antibiotiques peuvent être obtenus par des voies :
  - Naturelles : issus de microorganismes, la majorité des antibiotiques d'origine naturelle commercialisés sont produits par les actinomycètes, comme la streptomycine.
  - Semi-synthétiques : ce sont des molécules d'origine naturelle modifiées par l'addition de groupes chimiques supplémentaires pour les rendre moins sensibles à l'inactivation par les microorganismes. De plus, beaucoup d'antibiotiques semi-synthétiques présentent un spectre d'activité plus large que la molécule d'origine, tels que la pénicilline V et la méthicilline (**Willey et al., 2008**).

### 2. Définition

Basé sur l'étymologie du mot « antimicrobien » (du grec anti : contre, mikros : petit et bios : vie), ce terme désigne toute substance capable d'agir contre la vie des microorganismes. Le terme « antibiotique » (du grec anti : contre, biotikos : concernant la vie) a été utilisé pour la première fois en 1889 pour décrire une substance synthétisée par un organisme pour en détruire un autre. Plus tard, il a été précisé comme une substance chimique produite par un microorganisme, capable en solution diluée d'inhiber sélectivement la croissance ou même de détruire d'autres

## Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

microorganismes. Les composés utilisés à des fins thérapeutiques pour traiter les maladies bactériennes chez l'homme et les animaux sont fréquemment appelés antibiotiques par les professionnels de la santé et les profanes (Muylaert et Mainil, 2012).

Les antibiotiques sont des médicaments spécifiques, car ils ciblent les bactéries présentes chez le patient traité. Leur utilisation conduit à une réduction globale de leur efficacité au fil du temps en raison de la capacité d'adaptation des bactéries. Pour réduire leur utilisation, il est nécessaire de diminuer les prescriptions inappropriées et de développer une prescription vétérinaire raisonnée. Comprendre les mécanismes de résistance aux antibiotiques, les surveiller et communiquer sur la réduction de leur usage nous permettront de continuer à les utiliser efficacement pour sauver des vies à l'avenir (Sanders, 2011).

### 3. Classification

Les antibiotiques sont regroupés en familles distinctes (Tableau 6) basées sur leur structure chimique et leurs modes d'action. Actuellement, il existe huit de ces familles, plus les sulfamides. Chaque famille regroupe des substances ayant des mécanismes d'action et des spectres d'activité similaires. Par exemple, les  $\beta$ -lactamines, qui incluent la pénicilline et des antibiotiques apparentés, ciblent toute la paroi bactérienne, mais uniquement chez certaines espèces bactériennes (Khalil, 2016). D'autres familles inhibent la synthèse des protéines ou régulent les transferts d'eau et d'électrolytes. Les sulfamides, quant à eux, sont des analogues structuraux d'un métabolite intermédiaire, remplaçant ce dernier dans une réaction biochimique (Khalil, 2016).

**Tableau 6 :** Classification des antibiotiques selon leur structure chimique (Berdy et al., 1987).

	Familles d'antibiotiques	Sous-familles	Exemples
1	Glucides et apparentés	Glucides purs	<i>Nojirimycine.</i>
		Aminoglycosides	<i>Streptomycine, gentamicine, kanamycine.</i>
		G-Glycosides et Nglycosides	<i>Vancomycine, streptothricine.</i>
		Glycolipides	<i>Moenomycine.</i>
2	Lactones macrocycliques	Macrolides	<i>Spiramycine, érythromycine.</i>
		Polyènes	<i>Amphotéricine, nystatine,</i>

## Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

			<i>candididine.</i>
		Macrotétrolidés	<i>Tetranactine, nonactine.</i>
		Macrolactames	<i>Rifamycine.</i>
3	Quinones et apparentés	Polycycliques accolés linéairement	<i>Tétracyclines.</i>
		Dérivés naphtoquinoniques	<i>Anthracyclines.</i>
		Dérivés benzoquinoniques	<i>Mitomycine.</i>
4	Acides aminés et peptides	Dérivés d'acides aminés	<i>Cyclosérine, pénicilline, nocardicine</i>
		Homopeptides	<i>Bacitracine, cyclosporine.</i>
		Hétéropeptides	<i>Aculéacine.</i>
		Peptolides	<i>Valinomycine.</i>
5	Hétérocycles à azote	Hétérocycles non accolés	<i>Caerulomycine, mildiomycine.</i>
		Hétérocycles accolés	<i>Phénazines, herbicidine.</i>
6	Hétérocycles à oxygène	Polyéthers	<i>Monensine, nigéricine.</i>
7	Composés alicycliques	Dérivés du cycloalcane	<i>Cycloheximide.</i>
		Terpènes	<i>Acide marasmique.</i>
8	Aromatiques	Dérivés benzéniques	<i>Chloramphénicol.</i>
		Aromatiques accolés	<i>Griséofulvine.</i>
		Composés non benzéniques	<i>Fusariocine.</i>
9	Aliphatiques	Dérivés des alcanes	<i>Élaiomycine</i>
		Dérivés d'acides carboxyliques	<i>Céruleine</i>
		Composés	<i>Fosfomycine.</i>

## Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

---

		contenant du phosphore ou du soufre	
--	--	---	--

### 4. Mode d'action des antibiotiques

Le mode d'action d'un antibiotique est lié à sa structure chimique. En général, chaque classe d'antibiotiques correspond à un site d'action spécifique dans la cellule microbienne, qui peut être la paroi cellulaire, la membrane plasmique, les ribosomes ou les composants génétiques (**Driche, 2010**).

L'image suivante illustre les principaux mécanismes d'action des antibiotiques (Figure 13).

#### ➤ Inhibiteurs de la synthèse de la paroi cellulaire:

Les antibiotiques qui inhibent la biosynthèse de la paroi cellulaire chez les bactéries étaient connus bien avant que la biochimie des processus impliqués ne soit complètement élucidée dès 1962 (**Han et al., 1992**). Les cellules bactériennes sont entourées d'une paroi cellulaire en peptidoglycane, composée de longs polymères de sucre. Le peptidoglycane subit une réticulation des brins de glycane par l'action des transglycosidases, et les chaînes peptidiques, s'étendant des sucres dans les polymères, forment des réticulations entre les peptides. La partie D-alanyl-alanine de la chaîne peptidique est réticulée par des résidus de glycine en présence de protéines de liaison à la pénicilline (PBP). Cette réticulation renforce la paroi cellulaire. Les  $\beta$ -lactamines et les glycopeptides inhibent la synthèse de la paroi cellulaire (**Kapoor et al., 2017**).

#### ➤ Inhibiteurs de la synthèse protéique:

La biosynthèse des protéines est catalysée par les ribosomes et les facteurs cytoplasmiques. Le ribosome bactérien 70 S est constitué de deux sous-unités ribonucléoprotéiques : les sous-unités 30 S et 50 S. Les antimicrobiens inhibent la biosynthèse des protéines en ciblant soit la sous-unité 30 S, soit la sous-unité 50 S du ribosome bactérien (**Kapoor et al., 2017**).

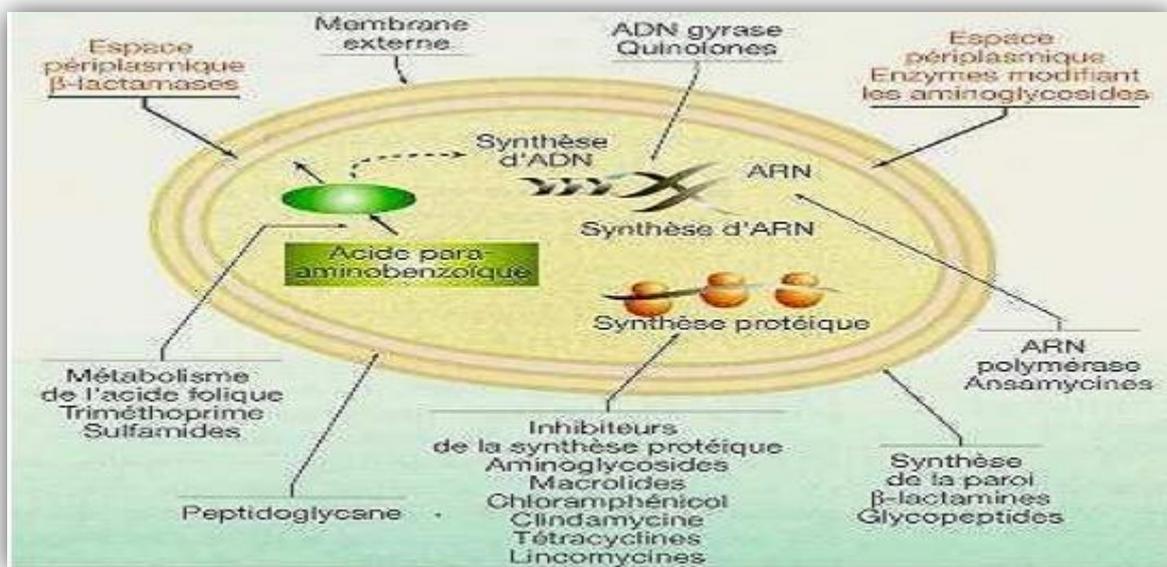
#### ➤ Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques:

Les fluoroquinolones (FQ) inhibent l'enzyme bactérienne ADN gyrase, qui coupe l'ADN double brin, introduit des supercoils négatifs, puis resserre les extrémités coupées. Ce processus est essentiel pour prévenir une surfusion positive excessive des brins lorsqu'ils se séparent pour permettre la réplication ou la transcription (**Kapoor et al., 2017**).

## Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

### ➤ Inhibiteurs de la voie métaboliques:

Chacun de ces médicaments inhibe des étapes distinctes du métabolisme de l'acide folique. Une combinaison de sulfamides et de triméthoprime, agissant à différentes étapes de la même voie biosynthétique, montre une synergie et réduit le taux de mutation pour la résistance (**Yoneyama et al., 2006**). Les sulfamides inhibent la dihydroptéroate synthèse de manière compétitive, avec une affinité plus élevée pour l'enzyme que le substrat naturel, l'acide p-aminobenzoïque. Des agents tels que le triméthoprime agissent à une étape ultérieure de la synthèse de l'acide folique et inhibent l'enzyme dihydrofolate réductase (**Yoneyama et al., 2006**).



**Figure 14** : Principales cibles et modes d'action des antibiotiques (**Davies et Mazel, 1997**)

### 5. Résistance bactérienne aux antibiotiques

Il existe de nombreuses définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques), et elles ne se recoupent pas nécessairement. Les définitions les plus couramment utilisées reposent sur des critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et cliniques (résistance *in vivo*) (**Muylaert et Mainil, 2012**). Selon la définition microbiologique, une souche est considérée comme résistante lorsqu'elle se développe en présence de concentrations plus élevées d'antibiotique par rapport à d'autres souches phyllogénétiquement liées. La résistance est donc une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence, souvent appelée

## Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

souche sauvage, développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, de la même espèce ou du même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place (Muylaert et Mainil, 2012). Les différents types de résistance bactérienne aux antibiotiques sont résumés dans la figure 15.

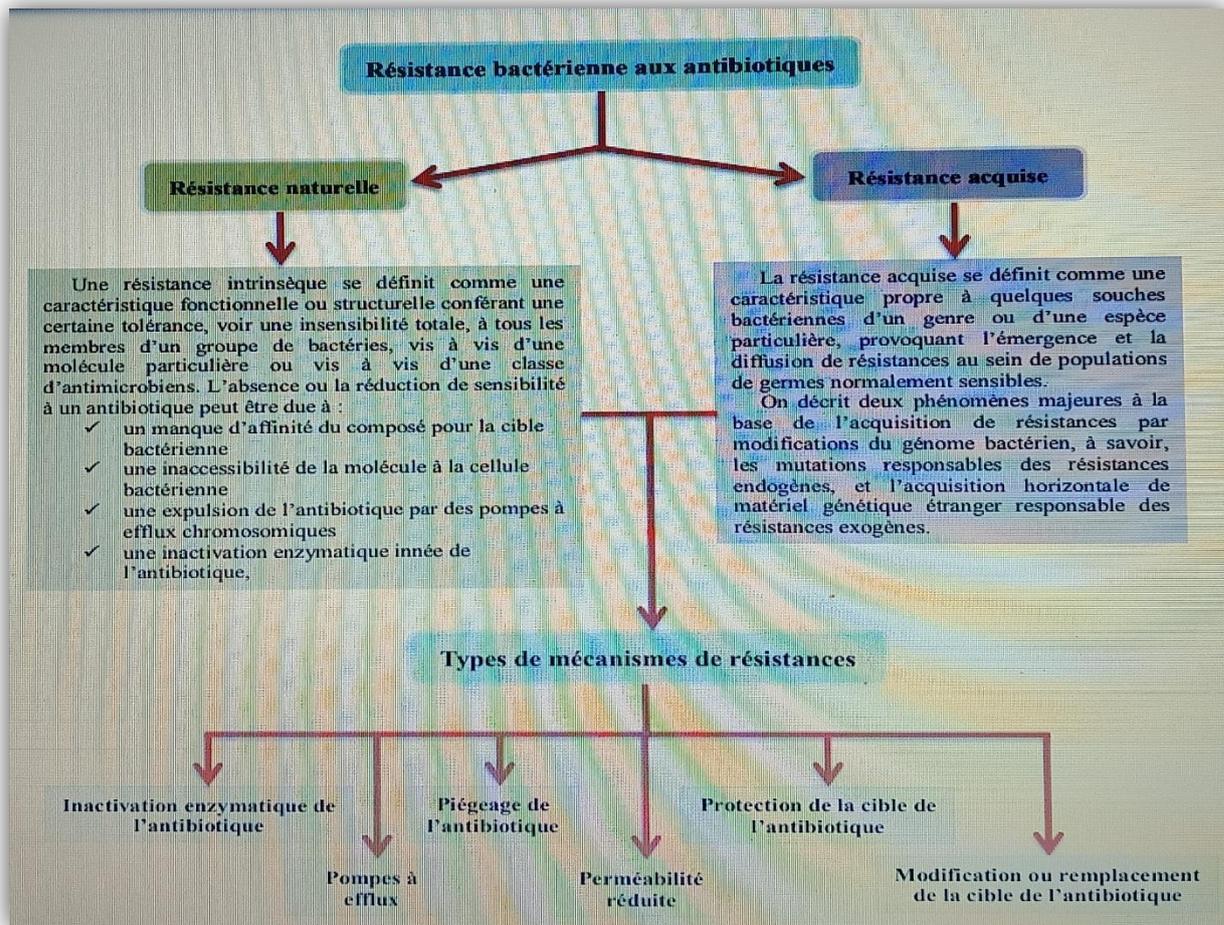
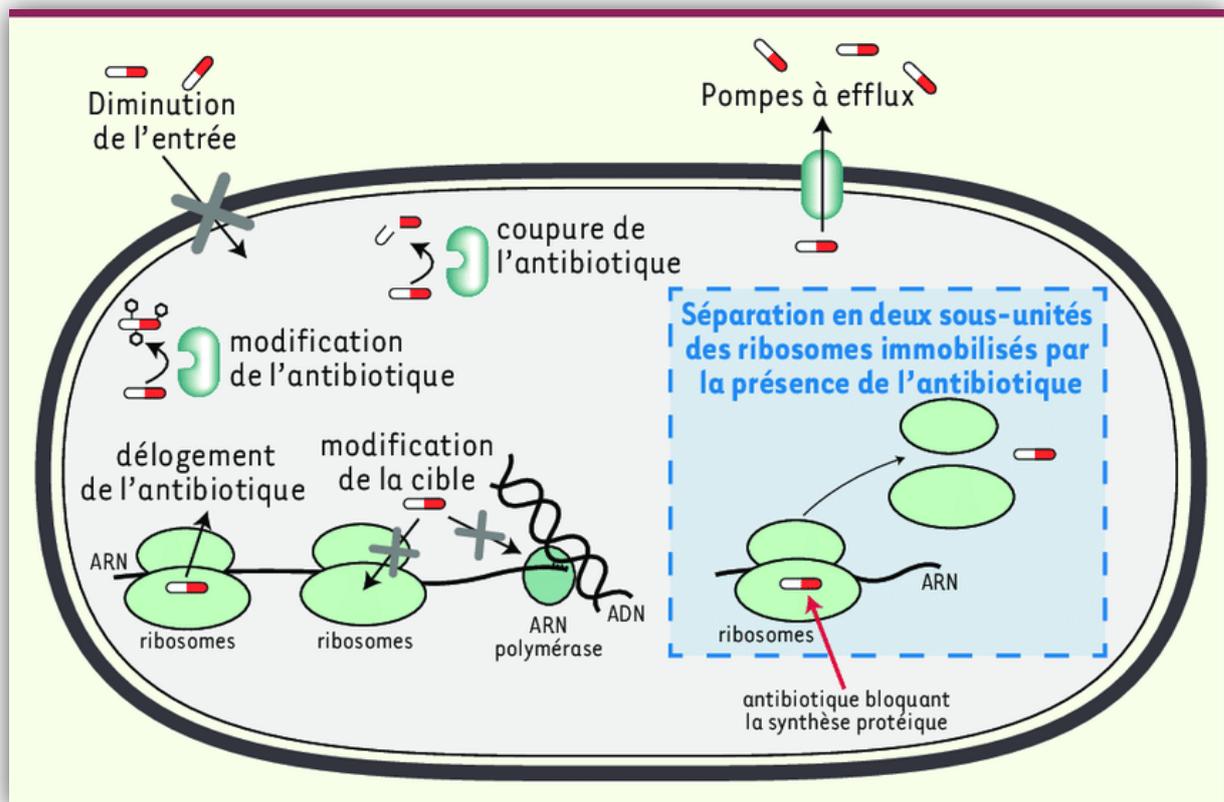


Figure 15: présente les divers types de résistance bactérienne aux antibiotiques selon Muylaert et Mainil (2012).

### 6. Type de mécanismes de résistances

## Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

Les bactéries ont évolué divers mécanismes pour contrecarrer l'action des agents antibactériens, parmi lesquels l'inactivation enzymatique des antibiotiques, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif et la réduction de la pénétration de la molécule. D'autres stratégies moins fréquentes incluent la protection ou la surexpression de la cible de l'antibiotique, souvent associées à des classes spécifiques de composés (Guardabassi et Courvalin, 2006). Les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram négatives sont illustrés dans la figure 16.



**Figure 16** : Mécanismes de résistance observés chez les bactéries Gram négatives (Muylaert et Mainil, 2012)

### 6.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

L'inactivation enzymatique des antibiotiques est le principal mécanisme de résistance observé pour les bêta-lactamines, les aminoglycosides et les phénicolés. Ce type de résistance est également décrit pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), les tétracyclines, la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que ce ne soit pas le mécanisme de résistance prédominant pour ces dernières molécules. Les enzymes modifient le

## Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

---

noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par l'addition d'un groupement chimique (Nikaido, 2009).

### 6.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique :

La cible de l'antibiotique peut subir une modification structurelle ou être remplacée, rendant ainsi le composé antibactérien incapable de se lier et d'exercer son activité au niveau de la bactérie. Ce mécanisme de résistance, présent pour la plupart des antibiotiques, revêt une importance particulière dans les cas de résistance aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives, ainsi que dans les résistances aux quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Cette forme de résistance peut résulter de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou bien d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible (Muylaert et Mainil, 2012).

### 6.3. Pompes à efflux :

L'efflux actif, facilité par des protéines transmembranaires connues sous le nom de pompes à efflux ou transporteurs actifs, représente un mécanisme énergivore utilisé par les bactéries, ainsi que par d'autres cellules comme les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques tels que les antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une large spécificité de substrats, et seules certaines confèrent une résistance aux antibiotiques en diminuant la concentration d'antimicrobien dans le cytoplasme bactérien, limitant ainsi l'accès de l'antibiotique à sa cible. Ces pompes sont classées en fonction de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie utilisée (Muylaert et Mainil, 2012).

### 6.4. Perméabilité réduite :

Contrairement aux bactéries Gram positives qui possèdent une structure enveloppante relativement simple avec une paroi externe épaisse de peptidoglycane permettant aux antibiotiques de traverser par simple diffusion, les bactéries Gram négatives ont une enveloppe plus complexe et moins perméable. Chez ces dernières, les antibiotiques hydrophiles pénètrent à travers des protéines transmembranaires appelées porines, tandis que les molécules hydrophobes diffusent à travers la couche phospholipidique. La membrane externe de certaines bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa* est particulièrement imperméable, ce qui diminue leur sensibilité

## Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

---

aux antimicrobiens. De plus, des mutations affectant les gènes codant pour les porines peuvent conduire à une résistance aux antibiotiques en réduisant ou en bloquant leur entrée dans la cellule (Muylaert et Mainil, 2012).

### 6.5. Protection de la cible de l'antibiotique :

La protection de la cible de l'antibiotique est un mécanisme de résistance bien documenté pour les tétracyclines, et plus récemment observé pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ce processus implique la présence de protéines de protection ribosomiale qui déplacent les antibiotiques de leur site de liaison en créant un encombrement stérique au niveau du ribosome. Des résistances à bas niveau aux fluoroquinolones ont également été rapportées, attribuées à la présence de gènes plasmidiques QNR (pour quinolone resistance) appartenant à divers groupes (Rodriguez-Martinez et al., 2008).

### 6.6. Piégeage de l'antibiotique :

Enfin, les bactéries peuvent piéger les antibiotiques en augmentant la production de leur cible ou en synthétisant une autre molécule ayant une affinité pour l'antibiotique, réduisant ainsi sa concentration active disponible. Ce mécanisme est observé dans des résistances à bas niveau aux sulfamides et au triméthoprim, ainsi qu'aux glycopeptides chez certaines souches de *Staphylococcus aureus* et à la tobramycine chez *Escherichia coli* (Guardabassi et Courvalin, 2006).

## 7. Les antibiotiques produits par les actinomycètes

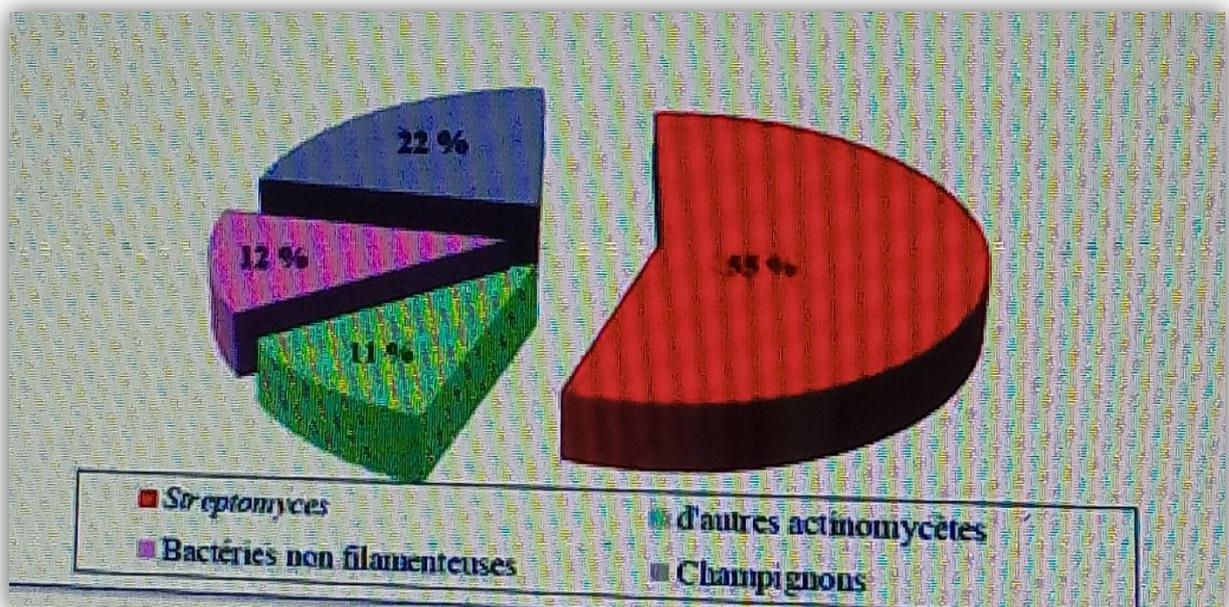
Les principales sources d'antibiotiques microbiens comprennent les actinomycètes, les bactéries et les champignons microscopiques. Entre 1955 et 1962, environ 80 % des antibiotiques découverts provenaient des espèces Actinomycétales. Cependant, au cours des dernières décennies, la proportion d'antibiotiques isolés à partir d'Actinomycétales a considérablement diminué, tandis que l'isolement de nouveaux antibiotiques, particulièrement ceux provenant de champignons, montre une tendance à la hausse.

Les actinomycètes, en particulier les *Streptomyces*, sont les principaux producteurs de la majorité des antibiotiques utilisés en thérapeutique, comme les glycopeptides. D'autres genres d'actinomycètes comme *Micromonospora* et *Nocardia* sont également à l'origine d'antibiotiques tels que la gentamicine, la rifamycine et la ristocétine. Les antibiotiques synthétisés par les

## Chapitre 2 : Généralité sur les antibiotiques

Streptomyces incluent la streptomycine, la kanamycine et le chloramphénicol (**Thiemann et al., 1969**).

Bien que l'isolement de nouveaux antibiotiques d'origine actinomycétale a connu un grand déclin ces dernières années, les actinomycètes restent une source puissante d'antibiotiques utiles pour l'avenir. Au cours des dernières années, tous les nouveaux antibiotiques introduits en thérapeutique, au nombre de 25, ont été isolés exclusivement à partir d'Actinomycètes. Ces antibiotiques incluent diverses classes comme les  $\beta$ -lactamines, les tétracyclines, les aminoglycosides, les glycopeptides, les macrolides et les aminocyclitoles.



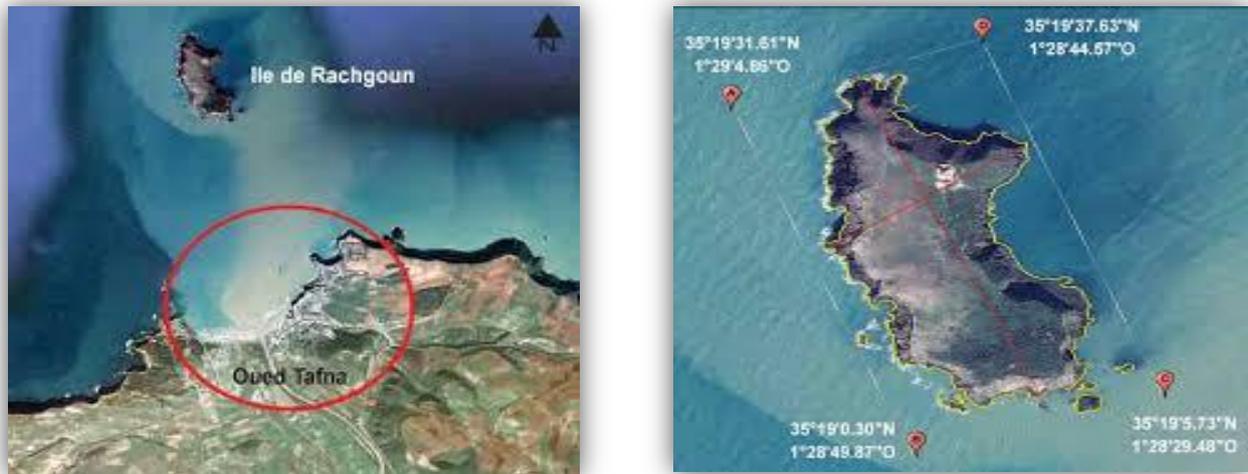
**Figure 17** : Répartition de la production d'antibiotiques entre les actinomycètes, les champignons, et d'autres bactéries non filamenteuses (**Berdy, 2005**).

# *Matériel et méthodes*

# Matériel et méthodes

## 1. Le site d'échantillonnage

Notre étude a été menée dans la zone de L'île de Rachgoun, également connue sous le nom de "Laylla", est la plus grande île située à l'ouest des côtes algériennes. Elle se trouve à 8 km au nord-est du port de Béni-Saf, sur le plateau continental du golfe de Ghazaouet, en face du Cap Acra et à l'est du Cap Brocchus, couvrant une superficie de 28,5 hectares (**GRIMES, 2017**). (Voir figure 18). Sur le plan écologique, cet écosystème est un véritable réservoir de biodiversité, abritant de nombreuses espèces menacées qui colonisent ce biotope.



**Figure 18** : Localisation et coordonnées du périmètre de l'île de Rachgoun (**Ramos et al., 2016**).

La présente étude a été réalisée au sein du laboratoire des produits naturels (LAPRONA)

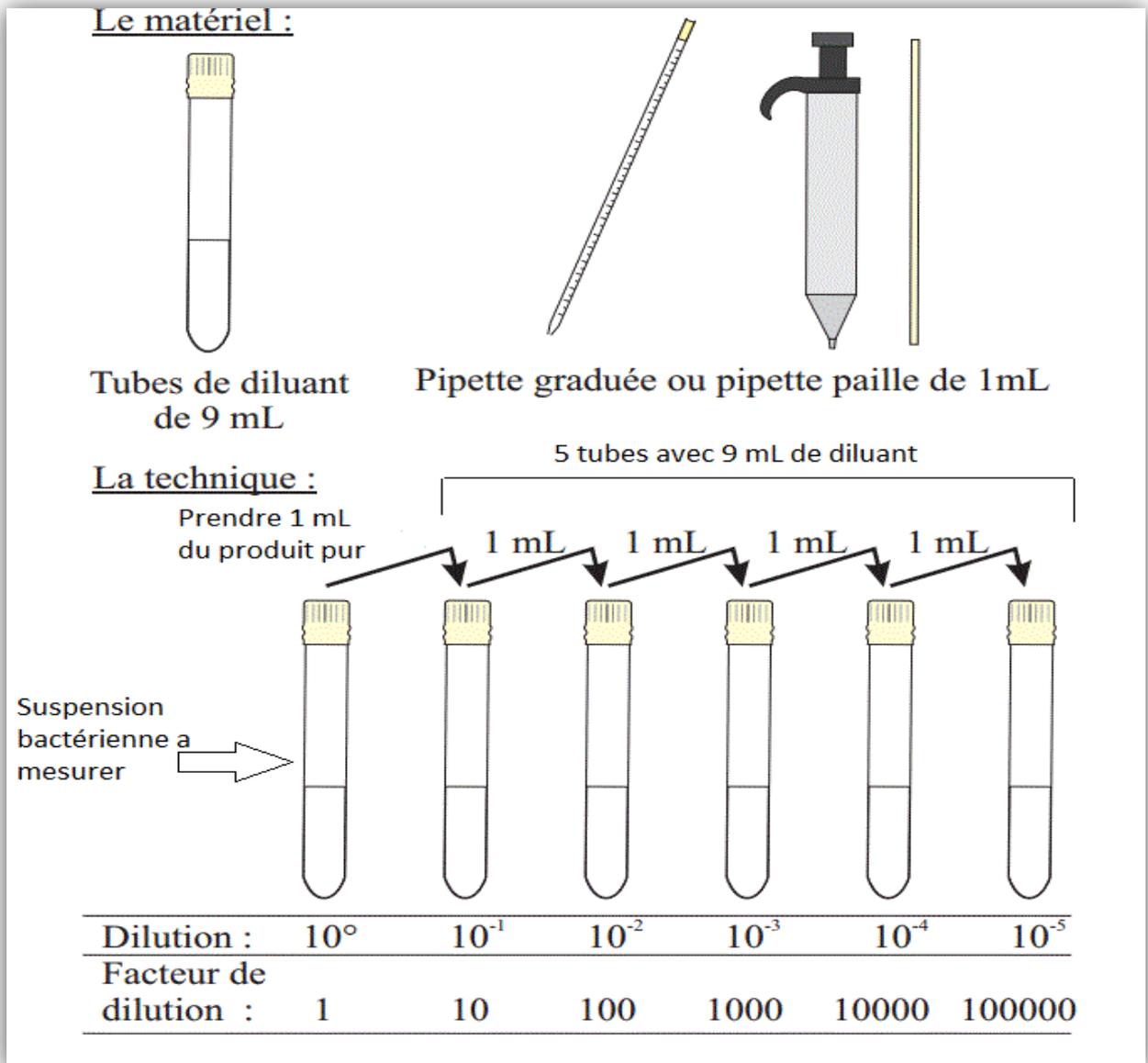
Un seul échantillonnage a été réalisé en mois de février, les échantillons ciblés sont l'eau de mer, le sol et les sédiments, les spécimens ont été prélevés dans des conditions d'asepsie, ce qui concerne le sol et les sédiments la couche superficielle a été écarté du prélèvement. L'acheminement des spécimens a été effectué à l'immédiat, dans une glacière contenant de la glace.

## 2. L'isolement des actinomycètes marins

L'isolement des souches d'actinomycètes a été effectué par la méthode de dilution décimale. Pour ce faire, 1 ml d'eau de mer a été dissous dans 9 ml d'eau physiologie stérile. Des dilutions allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  ont été préparées pour les échantillons d'eau (**Gebreyohannes et al., 2013**). Et de  $10^{-1}$  à  $10^{-2}$  Pour les échantillons du sédiments et le sol, à partir de chaque dilution, 100  $\mu$ l

## Matériel et méthodes

ont été prélevés et inoculés sur deux milieux de culture sélectifs : le milieu à base d'amidon et de caséine et le milieu ISP2 (voir annexes),



**Figure 19** : Principe de la technique suspension-dilution (**Borderie, 2014**).

Ces milieux de culture ont été préparés avec 50 % d'eau de mer et 50 % d'eau distillée, puis supplémentés avec 50 µg/ml d'acide nalidixique et de cycloheximide (**Jensen et al., 1991**).

Ensuite, les boîtes de Pétri ont été incubées à 28 °C pendant 3 à 4 semaines.

### 3. Purification et conservation des souches

# Matériel et méthodes

---

Les colonies ayant un aspect apparent des actinomycètes ont été repiquées sur milieu amidon caséine agar, et

conservées par deux méthodes :

- Conservation à court terme sur gélose inclinée à 4 °C après incubation pendant 21 jours à 28 °C, avec un repiquage effectué tous les deux mois (**Hilali et al., 2002**).
- Et une cryoconservation à long terme à -20 °C dans un bouillon , contenant le glycérol (20 %, v/v) utilisé comme un agent cryoprotecteur

## 4. La caractérisation phénotypique des isolats

Toutes les bactéries présentant des caractéristiques morphologiques typiques des actinomycètes, telles que des colonies sèches et incrustées dans la gélose, ont été sélectionnées pour l'étude de leurs traits morphologiques, physiologiques et biochimiques.

### 4.1. Les caractéristiques morphologiques

L'étude macroscopique des isolats a porté sur la couleur des colonies, l'ampleur de leur croissance sur différents milieux de culture, et leur capacité à produire des pigments extracellulaires autres que les pigments mélanoïdes. Ces observations ont été réalisées sur les milieux ISP1, ISP2, ISP3, M2 et Gelose de gause (**Shirling & Gottlieb, 1966**).

L'étude de la micromorphologie de nos isolats a été réalisée par microscope photonique après la coloration différentielle de Gram et au grossissement d'immersion (×100). Cette double coloration permet d'observer clairement la structure des actinomycètes et de s'assurer de leur appartenance du groupe de bactéries à gram positif (**Delarras, 2007**).

#### ➤ La coloration de Gram

La coloration de Gram est une méthode de coloration double permettant de différencier deux groupes de bactéries : les Gram positives et les Gram négatives.

Pour ce faire, une goutte d'eau physiologique est déposée sur une lame stérile et mélangée avec quelques colonies d'actinomycètes. Le prélèvement est ensuite séché et fixé à la chaleur, créant ainsi un frottis bactérien. Ce frottis est coloré pendant une minute avec du cristal violet, puis rincé à l'eau distillée. Ensuite, une décoloration est effectuée avec de l'éthanol à 95%. Cette étape

## Matériel et méthodes

---

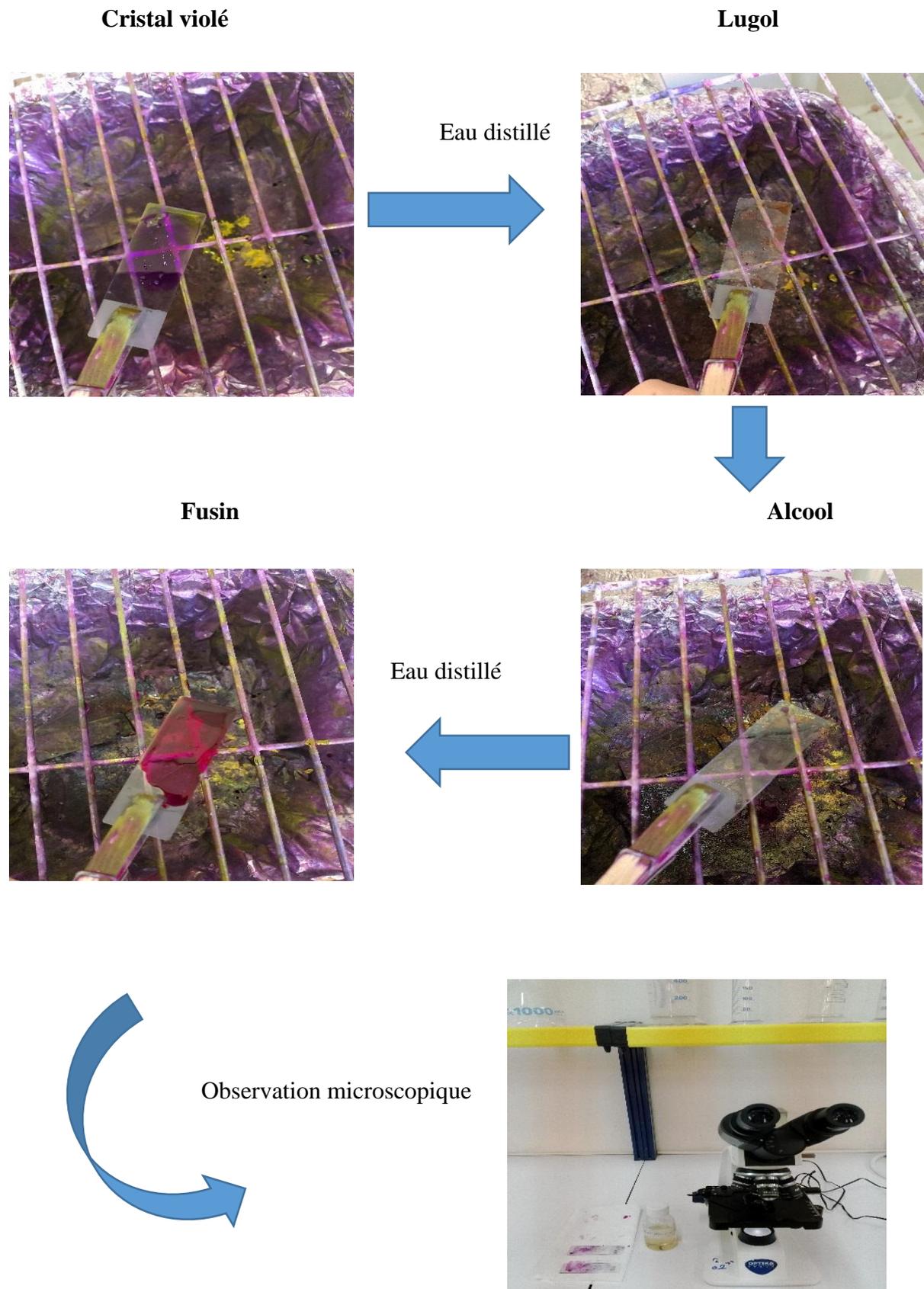
cruciale permet de décolorer les bactéries Gram négatives, dont la paroi est perméable à l'éthanol, contrairement aux bactéries Gram positives qui restent colorées en violet.

Un deuxième colorant, la fuchsine (ou la safranine), est appliqué sur le frottis bactérien pendant 30 secondes. Les bactéries décolorées par l'alcool sont ainsi recolorées par la fuchsine. Après un bref rinçage.



**Figure 20** : coloration de Gram.

# Matériel et méthodes



# Matériel et méthodes

---

**Figure 21** : les étapes de la coloration de Gram

## 4.2 L'étude des caractéristiques biochimiques

La présence d'activités enzymatiques chez les isolats d'actinomycètes a été évaluée en utilisant plusieurs substrats :

- **Pour l'hydrolyse de l'amidon** : les souches d'actinomycètes ont été ensemencées en stries serrées sur une gélose de Gause contenant de l'amidon (voir annexe). Après 14 jours d'incubation à 30 °C, la culture a été recouverte d'une solution de Lugo, qui colore en brun les zones contenant de l'amidon. Les parties où l'amidon a été dégradé restent non colorées (**Gordon & Smith, 1953**).
- **Pour l'hydrolyse de la gélatine** : ce test a été réalisé selon la méthode de Pickett et al. (1991). Des bandelettes de film photographique ont été transférées dans des tubes à essai stériles contenant 5 ml d'eau physiologique stérile, en conditions d'asepsie. Une suspension dense de l'actinomycète à tester a été ajoutée dans chaque tube. Les tubes ont été incubés à 30 °C et observés régulièrement pendant 7, 14, et 21 jours pour noter la liquéfaction de la gélatine, indiquée par le décollement de la surface superficielle du film photographique.
- **La coagulation et la peptonisation du lait écrémé** : certains actinomycètes peuvent synthétiser des enzymes capables de coaguler le lait. Pour vérifier la présence de cette activité enzymatique chez nos isolats, des tubes contenant 5 ml de lait écrémé ont été ensemencés avec la suspension d'actinomycètes à tester. L'incubation s'est faite à 30 °C pendant 14 jours. Des observations régulières ont été effectuées pour noter la coagulation du lait par les souches testées. La peptonisation, qui est la digestion complète du lait, a également été vérifiée dans les mêmes conditions que la coagulation (**Williams & Cross, 1971**).
- **Utilisation du citrate comme unique source de carbone** : ce test a été réalisé sur le milieu de citrate de Simmons. Ce milieu permet de vérifier la capacité de certains microorganismes à se développer en utilisant le citrate comme seule source de carbone. Le métabolisme du citrate est détecté par le changement de couleur de l'indicateur de pH (bleu de bromothymol), qui vire au bleu (**Marchal et al., 1991**).
- **Détection de la catalase** : la catalase est une enzyme qui décompose le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau ( $H_2O$ ) et en oxygène ( $O_2$ ). Pour vérifier la présence de catalase dans nos

## Matériel et méthodes

---

isolats, quelques gouttes d'une solution fraîche de H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> ont été appliquées sur une lame stérile en présence de la culture bactérienne. Un dégagement gazeux indique la décomposition de H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> et la libération d'oxygène, signifiant que la bactérie est « catalase positive ». En l'absence de dégagement gazeux, la bactérie est « catalase négative » (Delarras, 2007).

- **Recherche de l'oxydase :** Le test de l'oxydase a été réalisé à l'aide des disques d'oxydase (Biomérieux). Une suspension bactérienne a été préparée pour effectuer ce test. L'apparition d'une coloration violette en 10 à 30 secondes indique un test positif (oxydase positif).

### 5. Screening primaire de l'activité antimicrobienne et la recherche du meilleur milieu pour la synthèse d'antibiotiques

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion sur agar avec des cylindres. Divers germes bactériens et fongiques pathogènes ont été ciblés au cours de ce criblage :

- Bactéries : *\*Pseudomonas aeruginosa\** ATCC 27853, *\*Escherichia coli\** ATCC 8739, *\*Klebsiella pneumoniae\** IBMC Strasbourg, *\*Staphylococcus aureus\** ATCC 6538, *\*Bacillus subtilis\** ATCC 6633.
- Levures : *Candida albicans* CIP 444, *Candida albicans* ATCC 1023.
- Champignons : *\*Aspergillus fumigatus\** MNHN 5666, *\*Aspergillus niger\** ATCC 16404, *\*Fusarium oxysporum\** MNHN 963917.

### 6. Préparation de l'inoculum bactérien et levuriens

Une préculture des germes bactériens et levuriens a été effectués pendant 18 à 24 heures sur milieu Muller Hinton (MH) pour les bactéries et sur milieu Sabouraud pour les levures. Ensuite, les bactéries et les levures ont été repiquées dans du bouillon MH et Sabouraud respectivement, afin d'obtenir un inoculum standardisé. Pour les bactéries, une densité optique (DO) de 0,08 à une longueur d'onde de 625 nm a été visée, correspondant à 10<sup>8</sup> cellules/ml. Pour les levures, la DO a été ajustée à 0,05 à 450 nm.

## Matériel et méthodes

---



**Figure 22 :** le colorimètre mesuré la densité optique des bactéries et des levures

Les souches d'actinomycètes ont été cultivées en stries serrées sur deux milieux de culture : le milieu de Williams modifié (M2) (**Kuster & Williams, 1964**) et le milieu AF (**Bastide et al., 1986**). Après une incubation de 7 jours à 30 °C, des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre ont été découpés à l'aide d'un emporte-pièce et déposés sur des boîtes de Pétri préalablementensemencées par écouvillonnage de l'inoculum des germes pathogènes. Les résultats de l'activité antimicrobienne obtenus sur les deux milieux de culture (M2 et AF) ont été comparés pour déterminer le meilleur milieu pour la production d'antibiotiques par les isolats.

### **7. Extraction des métabolites secondaires à potentiel antimicrobien**

Les deux milieux de culture (M2 et AF) ont étéensemencés avec les isolats d'actinomycètes et incubés pendant 7 jours à 30 °C. Ensuite, chaque boîte contenant la culture bactérienne sur les deux milieux gélosés a été découpée en petits fragments et mélangée 50 ml d'acétate d'éthyle. La solution a été agitée pendant 3 heures à 4 °C dans un agitateur incubateur. Ensuite, la solution a été filtrée et le solvant évaporé. Le résidu de l'extrait a été reconstitué dans 2 ml de méthanol.

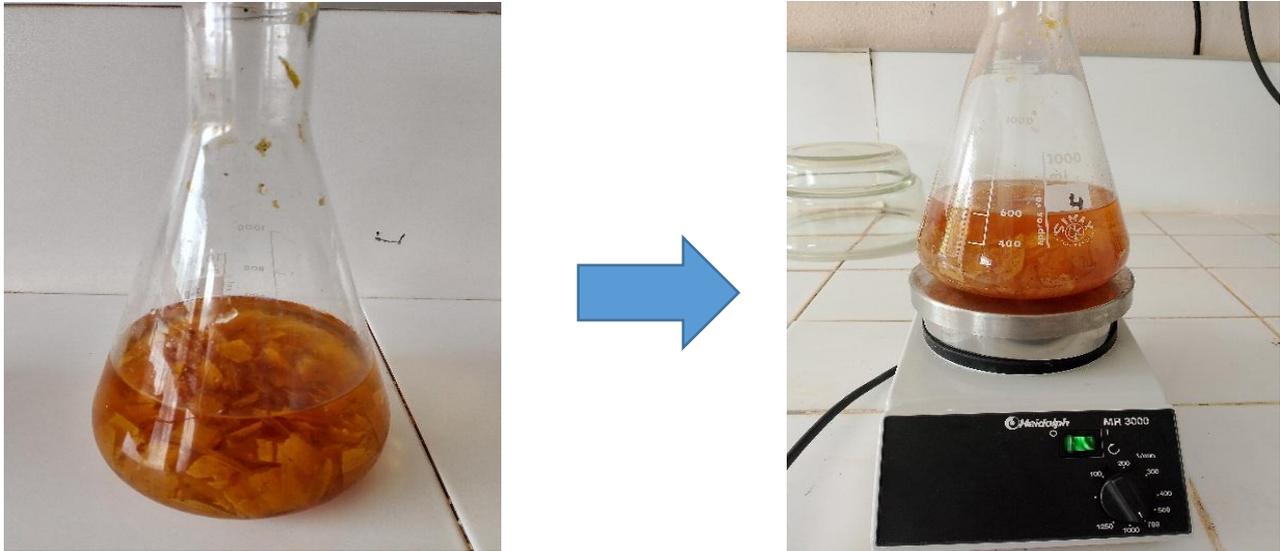
### **8. Screening secondaire de l'activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion des disques. Des disques de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec 10 à 15 µl de l'extrait, puis séchés avant d'être

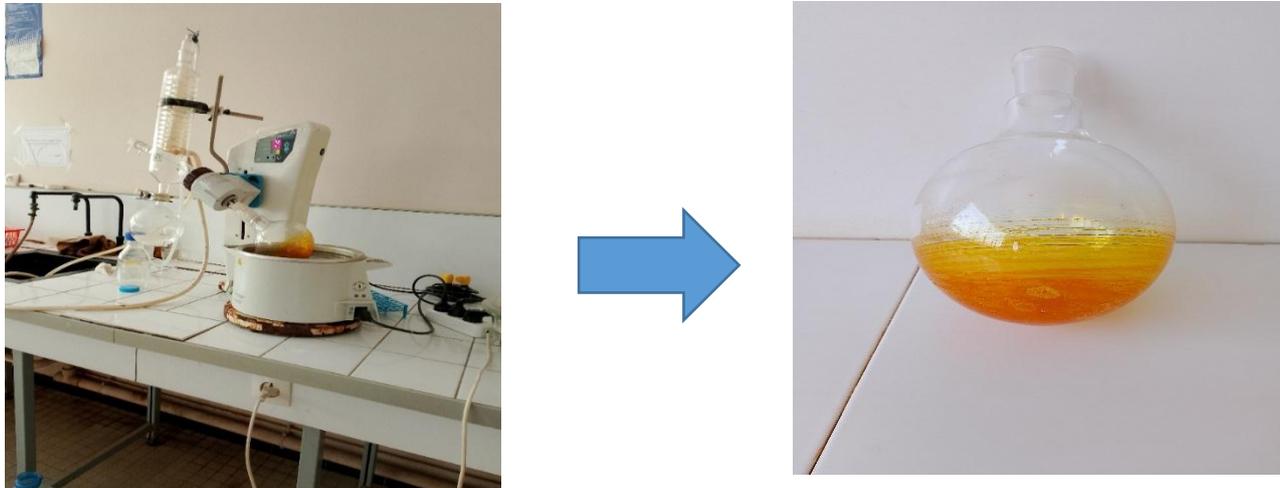
## Matériel et méthodes

---

déposés sur les milieux MH et Saboraud, préalablementensemencés par écouvillonnage avec les microorganismes tests. L'apparition de zones d'inhibition autour des disques indique la présence d'une activité antimicrobienne.



**Figure 23 :** l'agitation de l'extrait brut.



**Figure 24 :** Evaporation du solvant par un rota vapeur.

# *Résultats*

# Résultats

## 1. L'isolement des actinomycètes marins

Les deux milieux de culture sélectifs d'isolement des actinomycètes préparés par 50% d'eau de mer et additionnés d'antifongiques nous ont permis d'isoler trois souches de bactéries avec des colonies sèches et incrustées dans la gélose caractéristiques des actinomycètes. (Tableau7).

**Tableau 7 :** Caractéristiques morphologiques des trois souches isolées de l'île de Rachgoun

Souches	Type d'échantillon	Milieux de culture d'isolement
<b>EM1</b>	<b>Eau de mer</b>	<b>M2</b> 
<b>SM3</b>	<b>Eau de mer</b>	<b>ISP2</b> 
<b>S4</b>	<b>Eau de mer</b>	<b>M2</b> 

# Résultats

## 2. Les caractéristiques culturelles et microscopiques des actinomycètes marins

Les caractéristiques culturelles des isolats ont été étudiées selon les méthodes décrites dans l'International Streptomyces Project (ISP) (Shirling & Gootlieb, 1966). La croissance des trois isolats, la couleur du mycélium aérien et végétatif, ainsi que la capacité de chaque souche à synthétiser des pigments extracellulaires ont été évaluées sur les milieux ISP. Toutes les souches isolées ont développé un mycélium végétatif et aérien.

La coloration des deux mycéliums a été déterminée en utilisant la charte de couleurs « le nuancier RAL » ([http : //www.toutes-les-couleurs.com/nuancier-ral.php](http://www.toutes-les-couleurs.com/nuancier-ral.php)). La majorité des souches ont donné des colonies poudreuses de couleur grisâtre ou blanchâtre. Les milieux ISP utilisés ont favorisé la croissance de la quasi-totalité des isolats, dont certains ont libéré des pigments extracellulaires. (Le tableau 8) rassemble les résultats obtenus.

Les observations microscopiques des souches d'actinomycètes montrent qu'elles possèdent un mycélium formé de longs hyphes fins et ramifiés, dont certains sont enchevêtrés.

**Tableau 8 :** les caractéristiques culturelles des isolats d'actinomycètes

SOUCHE	MA					MV					PIGMENTS
	ISP1	ISP2	ISP3	Gélose Gause	M2	ISP1	ISP2	ISP3	Gélose Gause	M2	
EM1	++	++	+++	+	-	++	++	++	+	-	<b>jaune sur ISP1</b>
	blanc	blanc	blanc gris	abs	abs	jaune	jaune	jaune citron	abs	abs	
S4	++	+	+++	++	-	++	+	+++	++	-	<b>rouge/ noir ISP3</b>
	blanc	blanc	ivoire	blanc	abs	beige brun	beige brun	rouge noir	blanc	abs	
SM3	+	+	+++	+	-	+	+	+++	+	-	<b>marron sur ISP3</b>
	ivoire	marron	blanc	blanc	abs	ivoire	marro	jaune sable	ivoire	abs	

(-) croissance absente, (+) : croissance faible, (++) : bonne croissance, (+++) : très bonne croissance

# Résultats

## 3. La coloration de Gram

Toutes les cellules sont gram-positives. La figure 20 montre l'aspect microscopique de certaines colonies d'actinomycètes après la coloration de Gram.

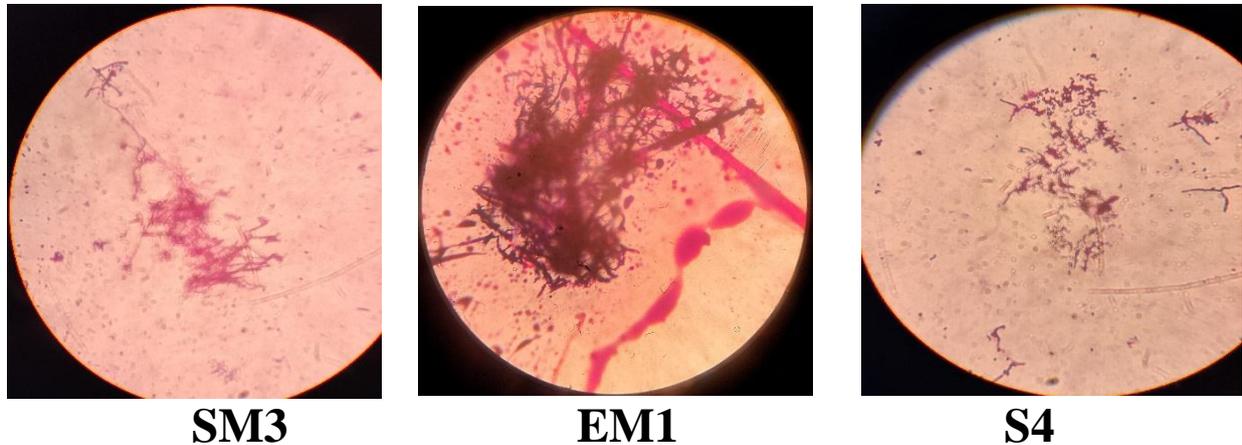


Figure 25: Aspect microscopique des isolats d'actinomycètes (×100).

## 4. Les caractéristiques biochimiques et physiologiques des actinobactéries

Les traits biochimiques de nos isolats ont été déterminés en examinant leur capacité à utiliser diverses sources de carbone, telles que le citrate de Simmons, et leur action sur le lait écrémé. De plus, nous avons étudié la présence d'une activité enzymatique capable de dégrader plusieurs substrats, comme l'amidon, la gélatine, le peroxyde d'hydrogène et la présence de l'oxydase. Les résultats montrent que chaque souche possède une ou plusieurs enzymes spécifiques. Les résultats obtenus sont résumés dans (le tableau 9).

Tableau 9 : les caractéristiques biochimiques et physiologiques des isolats d'actinomycètes.

Souche	Citrate Simmons	L'action de écrémé/ Peptonisation	L'action de écrémé/ Coagulation	Gélatinas	Catalase	Oxydase	amidon
SM3	-	+	+	+	+	-	-
S4	-	-	-	+	+	-	-
EM1	-	-	-	+	+	-	+

# Résultats

## 5. Résultats des tests biochimiques de quelques isolats d'actinomycètes

- Test de citrate de Simmons



**S4**



**SM3**



**EM1**

**Figure 26 :** résultats de test citrate de Simmons.

Puisque le citrate de Simmons est négatif dans les trois souches, on peut dire que les souches sont incapables d'utiliser le citrate comme seule source de carbone.

- Test de gélatinas



**S4**



**SM3**



**EM1**

**Figure27:** résultat de test de

# Résultats

---

Le test à la gélatinase est positif dans les trois souches, la souche est donc capable d'analyser la gélatine.

- **Test de catalase**



**S4**



**EM1**



**SM3**

**Figure 28** : résultat de test de catalase

Lorsque le test de la catalase est positif, on peut dire :

"La souche est capable de décomposer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau ( $H_2O$ ) et en oxygène ( $O_2$ ), montrant ainsi l'activité de l'enzyme catalase."

- **Test de l'oxydase**



**SM3**



**S4**



**EM1**

**Figure 29** : résultat de test de l'oxydase

# Résultats

---

Lorsque le test à l'oxydase est négatif, on peut dire :

"La souche ne présente pas d'activité oxydase, ce qui signifie qu'elle ne peut pas oxyder le substrat en présence d'oxygène."

- **L'action de lait écrémé**



**SM3**



**S4**



**EM1**

**Figure 30** : résultat de l'action de lait écrémé

La souche SM3 a montré une activité enzymatique conduisant à la coagulation et à la décomposition du lait écrémé, tandis que les souches S4 et EM1 n'ont montré aucune activité enzymatique envers le lait écrémé.

- **Amidon amylose**



## Résultats

**Figure 31** : résultat de test amidon amyrase de souche EM1.

le test de l'amidon semble être négatif chez les souches SM3, S4 et positif chez la souche EM1,

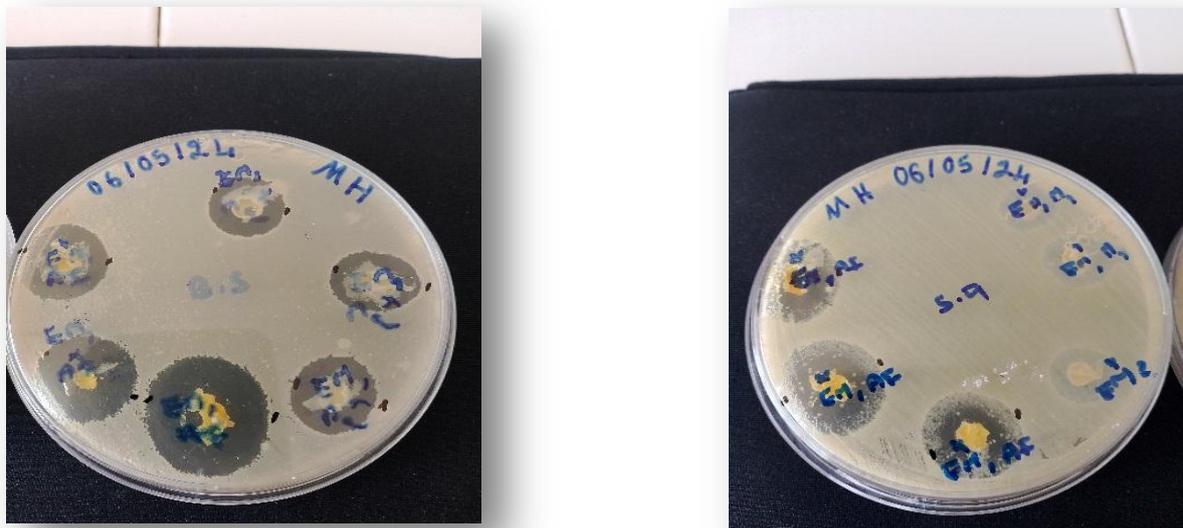
### 6. Le criblage primaire de l'activité antimicrobienne

La culture des isolats d'actinomycètes sur les deux milieux de culture AF et M2 a favorisé la synthèse de substances chimiques inhibant la croissance d'au moins une espèce pathogène cible (Figure 33).

La souche SM3 et S4 et EM1 ont révélé une activité antimicrobienne prometteuse contre les bactéries *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* ATCC6633 et *Staphylococcus aureus* ATCC6538

Le diamètre des zones d'inhibition sont comprises entre 20 mm et 23 mm sur le milieu AF et de 23mm et 16 mm sur le milieu M2 respectivement contre *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

. (Le tableau 10) résume les résultats de l'activité antimicrobienne obtenue chez nos isolats d'actinomycètes.



**Figure 32** : Résultats des zones d'inhibition de quelques souches d'actinomycètes isolées.

# Résultats

**Tableau 10 :** Les résultats du screening primaire de l'activité antimicrobienne.

Souch	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. faecium</i>
<b>AF medium</b>							
SM3	-	-	-	<b>13</b>	-	-	-
EM1	-	-	<b>22</b>	<b>19.5</b>	-	-	<b>23</b>
S4	-	-	-	<b>11</b>	-	-	-
<b>M2 medium</b>							
SM3	-	-	<b>11</b>	-	-	-	-
EM1	-	-	<b>16</b>	<b>17</b>	-	-	<b>23</b>
S4	-	-	-	-	-	-	-

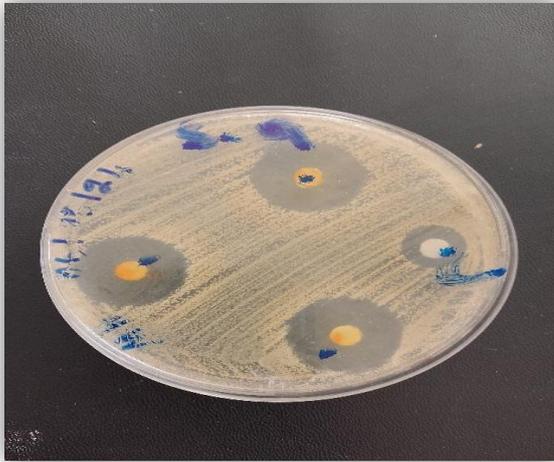
B: Bacillus, C: Candida, E: Escherichia, F: Fusarium, K: Klebsiella, P: Pseudomonas, S: Staphylococcus

## 7. Le screening secondaire de l'activité antimicrobienne

L'extraction organique des métabolites secondaires des trois isolats marins :EM1 S4 et SM3 et le test de l'activité antimicrobienne ont révélé que la souche EM1 est dotée d'une activité prometteuse contre les bactéries *S.aureus* et *B.subtilis*, ces résultats attestent que l'acétate d'éthyle semble le plus propice pour extraire les métabolites secondaires ayant une activité antibactérienne par contre ce même solvant organique n'a pas favorisé l'extraction des substances inhibant la croissance des germes pathogènes chez les deux isolats SM3 et S4.

Les résultats d'extraction des métabolites dotés d'activité antimicrobienne ainsi que les diamètres des zones d'inhibition sont illustrés dans le tableau ci-dessous (Tableau 11).

## Résultats



**Figure 33 :** Résultats des zones d'inhibition de quelques souches d'actinomycètes par la méthode de diffusion des disques.

**Tableau 11 :** Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits bruts par la méthode de diffusion des disques.

<b>Acétate d'éthyle</b>							
<b>souche</b>	<i>K. pneumonia</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albican</i>	<i>E. faecium</i>
<b>EM1</b>	-	-	<b>22</b>	<b>13</b>	-	-	-

B: Bacillus, C: Candida, E: Escherichia, K: Klebsiella, P: Pseudomonas, S: Staphylococcus.

# *Discussion*

## Discussion

---

Depuis les années 1980, une diminution progressive de l'isolement de nouvelles classes de produits naturels à activité antimicrobienne a été observée (**Dias et al., 2012**). Pour pallier ce déficit, les chercheurs ont adopté une stratégie consistant à cibler des environnements peu étudiés, susceptibles d'abriter de nouvelles sources de métabolites secondaires. Parmi ces environnements, le milieu marin se révèle être l'écosystème le plus prometteur pour découvrir de nouvelles familles de microorganismes d'intérêt pharmaceutique (**Dias et al., 2012**).

En 1966, Burkholder et ses collaborateurs ont rapporté l'effet bactéricide des eaux marines en isolant le premier antibiotique « pyrrole » à partir d'une souche marine, *Pseudomonas bromoutilis*. En 1974, une étude parallèle menée par Okazaki a permis d'identifier le premier antibiotique à partir d'actinomycètes marins dans la baie de Sagami, au Japon, nommé SS-228 Y. La souche productrice a été assignée à l'espèce « *Chainia purpurogena* ».

Parmi les exemples les plus célèbres de médicaments commercialisés issus d'organismes marins, on peut citer la ziconotide, un peptide analgésique dérivé de l'escargot de mer *Conus magus*, approuvé en 2004 par la FDA (Food and Drug Administration) pour le traitement des douleurs sévères et chroniques (**Williams et al., 2008**).

Avec une superficie de 2 millions de km<sup>2</sup>, l'Algérie abrite une grande biodiversité animale, végétale et microbienne. Les écosystèmes algériens renferment une source encore peu exploitée de microorganismes capables de produire des métabolites secondaires d'un grand intérêt biotechnologique, parmi lesquels les actinomycètes se distinguent comme les meilleurs producteurs (**Djinni et al., 2019**).

La première documentation sur les actinomycètes en Algérie remonte à 1998. Cette étude, menée par Sabaou et ses collaborateurs, a révélé que l'écosystème saharien constitue une source potentielle d'actinobactéries, susceptibles de produire une large gamme de nouvelles familles d'antibiotiques. À la suite de cette publication, les zones sahariennes ont attiré l'attention de nombreux chercheurs. En 2004, la première nouvelle souche d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis* sp. nov, a été isolée de cet écosystème (**Zitouni et al., 2004**). Cette découverte a incité les scientifiques à intensifier leurs recherches dans ces régions arides, qui pourraient renfermer de nombreuses autres nouvelles souches d'actinomycètes. Entre 2012 et 2017, ces travaux intensifs ont permis l'isolement et la caractérisation de 29 nouvelles souches et d'un nouveau genre, *Bounagaea* (**Djinni et al., 2019**).

L'exploration intensive de cet écosystème et la découverte répétée des mêmes isolats ont incité les chercheurs à explorer d'autres environnements peu étudiés. Les écosystèmes aquatiques sont

## Discussion

---

ainsi devenus la cible de nombreuses recherches à travers le monde, et plusieurs antibiotiques utilisés en clinique en sont issus.

Les actinomycètes marins ont démontré une grande capacité à produire des substances possédant une structure unique et différente de celle des isolats terrestres (**Villa & Gerwick, 2010**). Cette particularité est probablement due aux conditions de vie extrêmes des zones marines, caractérisées par des taux élevés de chlorure de sodium, une pression atmosphérique élevée, des températures basses et des conditions anaérobies. Les actinomycètes qui peuplent ces environnements sont qualifiés d'extrémophiles (**Lam, 2006**).

En Algérie, peu d'études ont été réalisées sur l'isolement des actinomycètes marins. Les souches isolées jusqu'à présent ont principalement été collectées à partir de plantes sahariennes (**Zamoum et al., 2015 ; Baoune et al., 2018**), de grottes (**Belyagoubi et al., 2018**), d'eaux usées (**Silini et al., 2015 ; Souagui et al., 2019**), de sédiments de rivières (**Djinni et al., 2018**), d'aires hypersalines (**Meklat et al., 2012 ; Souagui et al., 2015**), de sols désertiques sahariens (**Sabaou et al., 1992 ; Sabaou et al., 1998**), et d'actinomycètes dérivant d'algues marines (**Djinni et al., 2013**).

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à Gram positif, aérobies et hétérotrophes. Elles partagent certaines caractéristiques avec les champignons, telles qu'une structure mycélienne ramifiée, la formation fréquente de mycélium aérien et de conidies, etc. Leurs filaments mycéliens sont très fins (1-1,5  $\mu\text{m}$ ). Considérées comme un groupe majeur de la population tellurique, elles sont largement distribuées dans les sols (**Küster et Williams, 1964**). Les actinomycètes se développent très lentement par rapport à la plupart des bactéries et des champignons, ce qui fait que leur croissance est souvent masquée sur des milieux de culture ordinaires (**Ottow et Glathe, 1968**). Ce groupe de procaryotes est réputé pour sa capacité à fixer l'azote et à produire des métabolites secondaires ainsi que des enzymes (**Barreto et al., 2008**).

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris d'explorer une zone marine, l'île de Rachgoun, également connue sous le nom de "l'île de Laylla", qui n'avait jamais été ciblée pour une étude microbiologique. Cet écosystème marin abrite une riche diversité de formes de vie, incluant plusieurs espèces d'algues menacées (**Ramos et al., 2016**).

L'objectif principal de notre étude est de dépister des souches d'actinomycètes marins ayant une activité antimicrobienne. Pour cela, trois isolats ont été sélectionnés en fonction de leurs caractéristiques morphologiques caractéristique du phylum des actinobactéries

## Discussion

---

Dans cette section, nous discuterons des résultats obtenus grâce à notre étude approfondie de trois souches d'actinomycètes d'origine marine, EM1, SM3 et S4, qui ont été isolées et caractérisées. La croissance de ces souches sur milieu solide a été étudiée. Ainsi que l'activité des antibiotiques produits par ces souches contre les bactéries pathogènes.

Kim et al. (2005) ont étudié le mécanisme de la morphogénèse chez *S. coelicolor* et ont démontré que l'épuisement des nutriments dans les milieux de culture déclenche la libération de facteurs d'expression génique contrôlant la formation d'un mycélium aérien à partir d'un mycélium végétatif. Sur cette base, nous avons conclu que l'utilisation des milieux ISP pour la culture de nos isolats marins a favorisé le développement d'un mycélium de substrat. Une fois que les éléments nutritifs dans les milieux de culture sont épuisés, un autre mycélium, appelé mycélium aérien, se développe à partir de ce mycélium de substrat.

L'utilisation de prétraitements tels que le traitement thermique ou les dilutions décimales des échantillons mères pour réduire le nombre de contaminants est une technique couramment utilisée dans l'isolement des échantillons de terre et d'eau douce (**Prabhu et al., 2011; Valanarasu et al., 2010**). Bien que cela puisse affecter le nombre d'actinomycètes isolés, le caractère saumâtre de l'eau du lac peut lui-même constituer un inhibiteur pour certains microorganismes (**Fauvel et Battista, 1969**).

De plus, l'utilisation d'antibiotiques dans les milieux de culture n'est pas toujours recommandée (**Kim, 2013**). Certains auteurs préconisent leur utilisation pour isoler un genre spécifique (**Badji et al., 2005; Kitouni et al., 2005; Thakur et al., 2007**). Okudoh et Wallis (2007) ont également signalé que cela affecte le nombre de souches isolées, tandis que Zhang (2011) recommande plutôt l'utilisation de milieux spécifiques tels que le milieu Gause pour l'isolement des souches d'actinomycètes.

Bien qu'ils soient plus connus pour leur utilisation dans l'étude morphologique des actinomycètes, les milieux ISP peuvent également être utilisés pour l'isolement. Par exemple, le milieu ISP1 (**Rajan et Kannabiran, 2014; Suthindhiran et Kannabiran, 2009**), ISP2 (**Da Silva et al., 2011; Yuan et al., 2008**), ISP3 (**Saintpierre-Bonaccio et al., 2004**) et la gélose ISP5 (**Kavitha et al., 2010a; Kavitha et al., 2010b**) sont souvent utilisés en raison de leurs sources de carbone différentes du glucose, ce dernier étant surtout connu pour favoriser la culture des autres bactéries à croissance rapide.

Les milieux à base d'amidon ont donné de meilleurs résultats lors de l'isolement car cette source de carbone est plus favorable à la culture des actinomycètes, qui se caractérisent par une croissance

## Discussion

---

plus lente allant de quelques jours à quelques semaines (Huck et al., 1991; Mellouli et al., 2003; Rahmansyah et al., 2012; Suthindhiran et Kannabiran, 2009).

D'après les observations précédentes, nous pouvons déduire ce qui suit :

- La souche EM1 montre une croissance abondante sur le milieu ISP3 avec un mycélium aérien (MA) blanc gris. Elle croît bien sur les milieux ISP1, ISP2 et ISP3 avec un MA blanc et un mycélium végétatif (MV) jaune citron et jaune, mais elle présente une croissance faible sur le milieu Gélose de Gause sans coloration de MA et MV. La croissance est nulle sur le milieu M2.

- La souche S4 présente une croissance abondante sur le milieu ISP3 avec un MA ivoire et un MV rouge noir. Elle croît bien sur les milieux ISP1 et Gélose de Gause avec un MA blanc et un MV beige brun et blanc, mais elle a une croissance faible sur le milieu ISP2 avec un MA blanc et un MV beige brun. La croissance est nulle sur le milieu M2.

- La souche SM3 montre une croissance abondante sur le milieu ISP3 avec un MA blanc et un MV jaune sable. Elle présente une croissance faible sur les milieux ISP1, Gélose de Gause et ISP2 avec un MA blanc, marron et ivoire, et un MV ivoire et marron. La croissance est nulle sur le milieu M2.

La sporulation est abondante sur le milieu ISP3 et faible sur les milieux ISP1, ISP2 et Gélose de Gause, tandis qu'elle est absente sur le milieu M2. Aouiche et al. (2012) ainsi que Smaoui et al. (2012) ont observé une bonne croissance et une sporulation abondante sur les milieux ISP2, ISP3 et ISP4, notant que la couleur du mycélium végétatif est globalement beige et celle du mycélium aérien généralement blanche. Badji et al. (2007) ont obtenu une couleur blanchâtre pour le mycélium aérien et jaune pour le mycélium de substrat. Les souches SM3, EM1 et S4 produisent un pigment diffusible sur les milieux ISP1 et ISP3 précédemment mentionnés.

L'activité antimicrobienne a été mise en évidence par la méthode des cylindres d'agar, permettant de détecter l'effet inhibiteur de la souche EM1 contre les germes cibles testés (Gram positif et Gram négatif). Ce test a été réalisé sur milieu Muller-Hinton après 24 heures d'incubation à 37 °C. Une zone d'inhibition a été observée autour des cylindres AF et M2, indiquant une activité antibactérienne contre les germes *S. aureus*, *B. subtilis* et *E. fusarium* testés. Ces résultats concordent avec ceux de Kokare et al. (2004) et Sirisha et al. (2013), qui ont rapporté une activité similaire contre *S. aureus*.

Les résultats indiquent en premier lieu l'absence d'activité des souches d'actinomycètes sur *E. coli*. En effet, les bactéries Gram-négatives possèdent une structure membranaire externe unique, une mince couche de peptidoglycane et un espace périplasmique entre la paroi et la membrane

## Discussion

---

cellulaire. La sensibilité réduite et/ou la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes Gram-négatives est attribuée aux lipopolysaccharides, qui bloquent certains antibiotiques et protègent ainsi la membrane interne sensible et la paroi cellulaire (Cwala et al., 2011 ; Marinelli et Tomasz, 2010 ; Valan Arasu et al., 2012).

L'évaluation de l'activité antifongique ou antibactérienne doit inclure la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour déterminer le véritable potentiel antimicrobien de la molécule pure une fois extraite (Gan-Jun et al., 2012 ; Kumar et Kannabiran, 2010 ; Valanarasu et al., 2010).

Depuis plusieurs années, les chercheurs se sont concentrés sur la recherche d'antibiotiques à large spectre capables d'éradiquer un grand nombre d'agents infectieux (Melander et al., 2018). Actuellement, ces recherches se tournent davantage vers l'investigation d'une antibiothérapie à spectre étroit. La principale raison de ce changement est que les antibiotiques à large spectre agissent de manière non ciblée contre les agents infectieux, affectant également les bactéries commensales non pathogènes. Ces dernières peuvent devenir des réservoirs de gènes de résistance et les transmettre à d'autres bactéries (Karam et al., 2016).

L'activité antibactérienne de nos isolats a été ciblée uniquement contre les pathogènes à Gram positif, en particulier *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, et s'est avérée inactive contre les Gram négatifs. *S. aureus* est l'un des pathogènes du groupe ESKAPE, un acronyme désignant six pathogènes hautement virulents (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter* spp) (Boucher et al., 2009). Ce pathogène opportuniste est l'une des principales causes de bactériémie, d'endocardite, d'ostéomyélite et d'infections de la peau et des tissus mous (Turner et al., 2019), tandis que la virulence du genre *Bacillus* est peu documentée.

La majorité des espèces du genre *Bacillus* sont non-pathogènes et sont utilisées dans diverses applications industrielles. Cependant, les spores de l'espèce *B. subtilis* peuvent résister à des températures élevées, provoquant ainsi la détérioration des aliments (Pepe et al., 2003). La première étude révélant le pouvoir virulent de *B. subtilis* a été réalisée par Gu et al. (2019), testée sur des tissus animaux. Cette étude a démontré que l'infection des tissus musculaires de poissons et de souris par ce pathogène peut entraîner une mortalité de 60 à 70 % de la population animale.

Les molécules bioactives sont des métabolites secondaires non essentiels à la croissance et à la reproduction de certains microorganismes, mais elles jouent un rôle défensif. Ces molécules actives sont généralement extracellulaires et leur purification à partir du surnageant de culture complexe

## Discussion

---

nécessite l'application de diverses techniques de séparation, telles que l'extraction par solvant, la précipitation chimique, la HPLC, et les études spectroscopiques. Le nombre de techniques à utiliser dépend de la nature de la molécule.

L'extraction à partir de milieu solide est nettement plus rentable que celle à partir de milieu liquide. En effet, la production d'antibiotiques en milieu solide est généralement plus importante, tant quantitativement que qualitativement, qu'en milieu liquide. Il existe même des microorganismes producteurs d'antibiotiques en milieu solide qui perdent cette capacité en milieu liquide (**Shomura et al., 1979**).

Harir et al. (2018) ont constaté que l'extrait brut obtenu par extraction à l'acétate d'éthyle montre une meilleure activité antimicrobienne par rapport à d'autres solvants organiques testés. Kitouni et al. (2007) ont identifié l'hexane et l'acétate d'isoamyle comme les meilleurs solvants pour l'extraction des molécules bioactives, tandis que Thakur et al. (2007) ont démontré que l'acétate d'éthyle donne les meilleurs résultats comme solvant d'extraction. Comparativement à nos résultats, l'extrait brut obtenu par extraction à l'acétate d'éthyle de la souche EM1 présente également une activité antimicrobienne.

*Conclusion*

*Et*

*Perspectives*

## CONCLUSION ET PERSPECTIVE

---

Les actinomycètes est une source prodigieuse des substances actives, plusieurs antibiotiques à usage thérapeutiques ont été isolées à partir de ces bactéries , ces dernières décennies la recherche de nouvelles substances antimicrobienne à partir des actinomycètes a connu un grand déclin à cause du l'isolement des mêmes souches ce qui a suscité les chercheurs à s'orienter vers l'exploration de nouveaux écosystèmes abritant une flore actinomycétale peu connu et pouvant être l'origine de nouvelle molécules bioactives,

Notre étude a été scindée en deux volets :

Le premier est l'isolement des souches d'actinomycètes marins et le deuxième a été axée sur le screening d'une activité antimicrobienne, les résultats de cette étude révèlent que les actinomycètes marins semble être une nouvelle voie pour surmonter l'échec thérapeutique rencontré dans le secteur hospitalier à cause de l'émergence des pathogènes multirésistants dont les antibiotiques couramment utilisés semblent être inefficaces

La souche EM1 a prouvé une bonne activité contre les pathogènes *S.aureus* et *B.subtilis*, par contre aucune activité n'a été observée contre les pathogènes à gram négatif,

En perspectives, cette étude préliminaire nécessite d'autre tests permettant de valoriser ces substances dans l'avenir parmi ces test nous citons :

- ✓ La purification des extraits bruts par des techniques chromatographiques
- ✓ La caractérisation chimiques des extraits purifiés par des méthodes analytiques (GC/MS, LC-MS, RMN)
- ✓ La classification des souches isolées en utilisant les outils der la biologie » moléculaires (séquençage du gène de l'ARN 16S)

*Référence*  
*bibliographique*

## Référence bibliographique

---

### (A)

- Abraham, E. P. and Loder, P. B. (1972) In. Flynn, E. H. (Ed). Cephalosporins and Penicillins: Chemistry and Biology. Academic Press. New York.
- Ahmed L, Jensen P.R, Freel K.C, Brown R, Jones A.L, Kim B.Y, Goodfellow M. *Salinispora pacifica* sp. nov., an actinomycete from marine sediments. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2013; 103(5):1069-78. doi: 10.1007/s10482-013-9886-4
- Alexander. (1961). Introduction to soil microbiology. John Wiley, New York.
- Ameen, F., Al-Nadhari, S., Al-Homaidan, A (2021) Marine microorganisms as an untapped source of bioactive compounds, *Saudi Journal of Biological Sciences*; 28(1): 224-231
- Amin DH, Abolmaaty A, Tolba S, Abdallah NA, Wellington EM (2017). Phylogenic characteristics of a unique antagonistic *Micromonospora* sp. Rc5 to *S. aureus* isolated from Sinai Desert of Egypt. *Curr Res Microbiol Biotechnol* 5(6) :1295–1306.
- Amsaveni R, Sureshkumar M, Vivekanandhan G, Bhuvaneshwari V, Kalaiselvi M. Screening and isolation of pigment producing Actinomycetes from soil samples. *International Journal of Biosciences and Nanosciences*. 2015; 2 (2): 24-28.
- AOUAR L. (2012). Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Université Mentouri, Constantine.
- Aouar, L. (2006). Mise en évidence des actinomycètes aérobies pathogènes impliqués dans les infections traitées au service des maladies infectieuses du CHU de Constantine. Etude des caractéristiques culturales des souches isolées et purifiées. *Etude des caractéristiques culturales des souches isolées et purifiées. Mémoire de Magister.: Sc. de Biochimie et Microbiologie appliquées. Constantine: Université Mentouri Constantine.*
- Aouiche, A., Sabaou, N., Meklat, A., Zitouni, A., Bijani, C., Mathieu, F., & Lebrihi, A. (2012). *Saccharothrix* sp. PAL54, a new chloramphenicol-producing strain isolated from a Saharan soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 943-951.
- Aouiche, Adel and Sabaou, Nasserline and Meklat, Atika and Zitouni, Abdelghani and Mathieu, Florence and Lebrihi, Ahmed. Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp. PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. (2012) *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, vol. 22 (n° 1). pp. 42-51. ISSN 1156- 5233.
- Avril, J, L., & al.1992. *Bactériologie clinique*.2 éd. Paris : ellipses. Pp. 511.

### (B)

- Badji B., Mostefaoui A., Sabaou N., Lebrihi A., Mathieu F., Seguin E. and Tillequin F. (2007). - Isolation and partial characterization of antimicrobial compounds from a new strain *Nonomuraea* sp. NM94 . *J. Ind. Microbiol.*, 34, 403-412.

## Référence bibliographique

---

- Badji, B., Riba, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Sabaou, N., 2005. Activité antifongique d'une souche d'*Actinomyces* d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxigènes. *J. Mycol. Med.* 15, 211–219.
- Baldacci, E. (1962). -Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. *Ann. Soc. Belge. Méd. Trop.*, 4 : 633–646.
- Baoune, H.; Ould El Hadj-Khelil, A.; Pucci, G.; Sineli, P.; Loucif, L., Polti, M.A. (2018) Petroleum degradation by endophytic *Streptomyces* spp. isolated from plants grown in contaminated soil of southern Algeria. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 147, 602–609.
- Barka, EA, Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, HP, ... & van Wezel, GP (2016). Taxonomie, physiologie et produits naturels des actinobactéries. *microbiologie et biologie moléculaire* , 80 (1), 1-43.
- Barreto, J. C., Trevisan, M. T., Hull, W. E., Erben, G., De Brito, E. S., Pfundstein, B., ... & Owen, R. W. (2008). Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(14), 5599-5610.
- Bastide, A., M. de Méo., M. Andriantsoa, M. Laget et G. Duménial. (1986). isolement et sélection de souche d'actinomycètes productrice de substance antifongiques de structure non-polyénique. laboratoire de microbiologie . faculté de pharmacie . MIRCEN journal , 1986, 2, p 453-466.
- Becker B, Lechevalier MP., Gordon RE., Lechevalier H. A., (1964). Rapid differentiation between *Nocardia* and *Streptomyces* by paper chromatography of Whole cell hydrolysates. *J Appl Microbiol*, 12: 421-3.
- Becker B., Lechevalier M. B. and Lechevalier H. A., (1965). Chemical composition of cellwall preparation from strains of various from genera of aerobic actinomycetes. *Appl. Microbio.* 13: 236-243.
- BELYAGOUBI Larbi. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, P 143.
- Belyagoubi, L.; Belyagoubi-Benhammou, N.; Jurado, V.; Dupont, J.; Lacoste, S.; Djebbah, F.; Ounadjela, F.Z.; Benaïssa, S.; Habi, S., Abdelouahid, D.E (2018). Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycete and fungi) isolated from Chaabe cave, Algeria. *Int. J. Speleol*, 47, 189–199
- Belyagoubi, L.; Belyagoubi-Benhammou, N.; Jurado, V.; Dupont, J.; Lacoste, S.; Djebbah, F.; Ounadjela, F.Z.; Benaïssa, S.; Habi, S., Abdelouahid, D.E (2018). Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi) isolated from Chaabe cave, Algeria. *Int. J. Speleol*, 47, 189–199.
- Benhadj, M., Gacemi-Kirane, D., Menasria, T., Guebla, K., Zina Ahmane, Z. (2019). Screening of rare actinomycete isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities. *Journal of King Saud University – Science* 31, 706-712
- Berdy J., Aaszalos A. and Mc Nitt K. L., (1987). *CRC Handbook of antibiotic compounds*. Vol. XIII. Microbial metabolites. part 1, 2, 3. Florida, USA. CRC Press, Boca Raton.

## Référence bibliographique

---

- Bérdy JBioactive microbial metabolites *J Antibiot* 2005 58 1 26 10.1038/ja.2005.1
- Berdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot* (Tokyo) 58. Pp: 1-26.
- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 5, Whitman W B, Goodfellow M, Kampf P, Busse H J, Trujillo M E, Ludwig W, and Suzuki K I, (Eds) (2012). Springer, 2<sup>nd</sup>.
- Blunt JW, Copp BR, Munro MH, Northcote PT, Prinsep MRMarine natural products *Nat Prod Rep* 2010 27 165 237 10.1039/b906091j
- Borderie F., (2014). Utilisation du rayonnement UV-C comme méthode alternative aux produits chimiques dans la lutte et le contrôle de la prolifération des micro-organismes sur les matériaux du patrimoine. Thèse de Doctorat, Université de FRANCHE-COMTÉ.
- BOUAZIZ, S. (2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes: isolement, sélection, identification des souches activeset caractérisation partielle des substances bioactives (Doctoral dissertation).
- Boucher, H.W ., Talbot, G.H ., Bradley, J.S ., Edwards, J.E ., Gilbert, D., Rice, L.B (2009) Bad bugs,no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 48, 1-12.
- 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.
- BOUDJELAL-BENCHEIKH, F. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycèteshalophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés parActinoalloteichussp. AH97 (Doctoral dissertation).
- Bouras N., Merrouche R., Lamari L., Mathieu F., Sabaou N., Lebrihi A. (2008). Precursor directed biosynthesis of new dithiolopyrrolone analogs by *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Process Biochemistry.*, 43:1244–1252.
- Bourée, P., Bisaro, F., & Resende, P. (2009). Actinomycose: du saprophytisme à la pathogénicité. *Antibiotiques*, 11(3), 142-149.
- Bouterfa, D., & Ibessaine, N. (2022). *Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir du sol (à Boghni)* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Bull A.T., Ward A.C. and Goodfellow M., 2000. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64:573–606
- Burkholder, P.R.; Pfister, R.M., Leitz, F.H. (1966) Production of a pyrrole antibiotic by a marine bacterium. *Applied Microbiology*, 14, 649-653
- Burkholder, P.R.; Pfister, R.M., Leitz, F.H. (1966) Production of a pyrrole antibiotic by a marine bacterium. *Applied Microbiology*, 14, 649-653.
- Burman N.P., (1973). The occurrence and significance of actinomycetes. In: *Actinomycetales.Characteristics and practical importance.* Academic Press (Ed).219- 230.
- Busti E, Monciardini P, Cavaletti L, Bamonte R, Lazzarini A, Sosio M et al (2006). Antibioticproducing ability by representatives of a newly discovered lineage of actinomycetes. *Microbiol* 152(3):675–683.

(C)

## Référence bibliographique

---

- Collins, C. B., Glass, E. N., & Wilkinson, D. A. (1980). Exact spatially homogeneous cosmologies. *General Relativity and Gravitation*, 12, 805-823.
- Collins, M. D., Pirouz, T., Goodfellow, M., & Minnikin, D. E. (1977). Distribution of menaquinones in actinomycetes and corynebacteria. *Microbiology*, 100(2), 221-230.
- Cwala, Z., Igbinsosa, E. O., & Okoh, A. I. (2011). Assessment of antibiotics production potentials in four actinomycetes isolated from aquatic environments of the Eastern Cape Province of South Africa. *African journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(2), 118-124.

### (D)

- Da Silva, C. M., da Silva, D. L., Modolo, L. V., Alves, R. B., de Resende, M. A., Martins, C. V., & de Fátima, Â. (2011). Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *Journal of Advanced research*, 2(1), 1-8.
- Da Silva, P and Laurent Meijer, L (2012) Recherche de substances naturelles à activité thérapeutique Pierre Potier (1934-2006) , m/s n° 5, vol. 28, DOI : 10.1051/medsci/2012285020
- Das, V. (2006). *Life and Words: Violence and the Descent into the Ordinary*. Univ of California Press.
- Davies, J. et Mazel, D. 1997. Comment la résistance vient aux bactéries. *Biofutur*. 170: 14-17
- De Carvalho C.C.C.R. and Pedro F., 2010. Production of metabolites as bacterial responses to the marine environment. *Mar Drugs* 8:705–727.
- Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques*. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476
- Delarras, C. (2007). *Practical microbiology for the laboratory of analyzes or sanitary control*. *Lavoisier: Tec & Doc. Paris*. 463p.
- Demain AL, Sanchez S (2009) Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot (Tokyo)* 62:5–16
- Denyer, D., & Neely, A. (2004). Introduction to special issue: innovation and productivity performance in the UK. *Available at SSRN 640091*.
- Dias, D.A ., Urban, S., Roessner, U 2(012), A historical overview of Natural products in drug discovery, *Metabolites* 2, 303-336; doi:10.3390/metabo2020303
- Djinni, I ., Defant, A., Mouloud, K., Mancini (2019) Actinobacteria derivant from Algerian ecosystems as a prominent source of antimicrobial molecules, *Antibiotics*, 8, 172, doi: 10.3390/antibiotics8040172
- Djinni, I ., Defant, A., Mouloud, K., Mancini (2019) Actinobacteria derivant from Algerian ecosystems as a prominent source of antimicrobial molecules, *Antibiotics*, 8, 172, doi: 10.3390/antibiotics8040172
- Djinni, I.; Defant, A.; Kecha, M.; Mancini, I. (2013) Antibacterial polyketides from the marine alga-derived endophytic *Streptomyces sundarbansensis*: A study on hydroxypyrrone tautomerism. *Mar. Drugs*, 11, 124–135.

## Référence bibliographique

---

- Djinni, I.; Djoudi, W.; Souagui, S.; Rabia, F.; Rahmouni, S.; Mancini, I.; Kecha, M. (2018) *Streptomyces thermoviolaceus* SRC3 strain as a novel source of the antibiotic adjuvant streptazolin: A statistical approach toward the optimized production. *J. Microbiol. Meth.*, 148, 161–168.
- Driche E. (2010).- Recherche des *Streptomyces* actifs contre quelques bactéries pathogènes multirésistantes aux antibiotiques. Mémoire de Magister en microbiologie, E.N.S. de Kouba, Alger. 121p.

### (E)

- Erikson, D. (1941). Studies on some lake-mud strains of *Micromonospora*. *Journal of Bacteriology*, 41(3), 277-300.
- Euzéby, J. P., & Tindall, B. J. (2002). Necessary corrections to the Approved Lists of Bacterial Names according to Rule 40d (formerly Rule 46). Request for an opinion. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), 2321-2322.

### (F)

- Fair, R.J and Tor, Y (2014) Antibiotics and Bacterial resistance in the 21 st Century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*; 6:25-64
- Feling RH, Buchanan GO, Mincer TJ, Kauffman CA, Jensen PR, Fenical WS. Salinosporamide A: a highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinospora*. *Angew Chem Int Ed Engl* 2003 42 355 357 10.1002/anie.200390115
- Flårdh, K., & Buttner, M. J. (2009). *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nature Reviews Microbiology*, 7(1), 36-49.

### (G)

- Gan-Jun, Y. U. A. N., Pei-Bo, L. I., Hui, Y. A. N. G., Xiao-Yu, W. U., Guo-Quan, T. U., & Sai-Jin, W. E. I. (2012). Chemical screening of sixty-one actinomycete strains and anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* assays of target strains. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10(2), 155-160.
- Garrity G.M., Bell J.A. and Lilburn T.G. (2004). Taxonomic Outline of the prokaryotes. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Springer-Verlag. New York.
- Gebreyohannes, G., Moges, F., Sahile, S., & Raja, N. (2013). Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. *Asian pacific journal of Tropical biomedicine*, 3(6), 426-435.
- Genilloud, O (2017) Actinomycetes: still a source of novel antibiotics. *Natural Products Reports*; 34, 1203-1232
- Gerber, D. A. (1979). Local and community history: Some cautionary remarks on an idea whose time has returned. *The History Teacher*, 13(1), 7-30.

## Référence bibliographique

---

- Gomes, RC, Semêdo LTAS, Soares RMA, Alviano CS, Linhares LF and Coelho RR (2000) Chitinolytic actinomycetes from a Brazilian tropical soil active.
- Goodfellow M. (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria phyl.nov. In: Goodfellow et al., (Editors). Bergey Manual of Systematic Bacteriology, The Actinobacteria, second edition, vol. V, part A, New York, Dordrecht, Heidelberg, London. Pp. 1–28.
- Goodfellow M. and Haynes J.A., 1984. Actinomycetes in marine sediments. In Biological, Biochemical, and Biomedical Aspects of Actinomycetes. Ortiz-Ortiz L. Bojalil L.F. and Yakoleff V. (Eds). New York, USA: Academic Press, pp. 453–472.
- GOODFELLOW M., STACH J. E., BROWN R., BONDA A. N., JONES A. L., MEXSON J., FIEDLER H. P., ZUCCHI T.D., BULL A.T. (2012). *Verrucosispora maris* sp. nov., a novel deep-sea actinomycete isolated from a marine sediment which produces abyssomicins. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 101: 185 – 193.
- Goodfellow, M., Stanton, L. J., Simpson, K. E., & Minnikin, D. E. (1990). Numerical and chemical classification of Actinoplanes and some related actinomycetes. *Microbiology*, 136(1), 19-36.

Google Scholar      Crossref      PubMed      worldCat

Google Scholar      Crossref      WorldCat

Google Scholar      Crossref      WorldCat

Google Scholar      Crossref      PubMed      WorldCat

Google Scholar      Crossref      PubMed      WorldCat

Google Scholar      Crossref      WorldCat

- Gordon, R. E., & Smith, M. M. (1953). Rapidly growing, acid fast bacteria I: Species' descriptions of *Mycobacterium phlei* Lehmann and Neumann and *Mycobacterium smegmatis* (Trevisan) Lehmann and Neumann. *Journal of bacteriology*, 66(1), 41-48.
- Grigorova, R., Norris, J.R. (Editors) (1990). Techniques in microbial ecology. Methods in Microbiology, Vol. 22. Academic Press, London, pp. 627.
- GRIMES, S. (2017). *Fiche île : Rachgoun – Sous-bassin : Algérie*. Atlas of Small Mediterranean Islands. <https://pimatlas.org/rachgoun/>
- Guardabassi, L., & Courvalin, P. (2006). Antibiotics: Mode of action and mechanisms of resistance. *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*, 1-18.
- Gupte M., Kulkarni P., Ganguli B.N. (2002). Antifungal antibiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58 (1), 46–57

### (H)

- Han, P. L., Levin, L. R., Reed, R. R., & Davis, R. L. (1992). Preferential expression of the *Drosophila rutabaga* gene in mushroom bodies, neural centers for learning in insects. *Neuron*, 9(4), 619-627.

## Référence bibliographique

---

- Harir M. (2010). Effets antagonistes entre les souches d'actinomyces et *Verticillium dahliae* agent de la verticilliose de l'olivier. Mémoire de Magister En biotechnologie. Université d'Oran.
- Harir, M., 2018. Caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d'actinobactéries isolées des sols arides et semi arides 1–221.
- Heuer H, Krsek M, Baker P, Smalla K, Wellington E (1997). Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. *Appl Environ Microbiol* 63(8):3233–3241.
- Hilali L., Khatabi A., Nassrallah N., Malki A. et finance C., (2002). Isolement des nouvelles souches actinomycétales productrices de substances antifongiques à partir d'un milieu naturel marocain. *Revue .Biol .Biotech.* 2, 49-53.
- Hilali L., Khatabi A., Nassrallah N., Malki A. et finance C., (2002). Isolement des nouvelles souches actinomycétales productrices de substances antifongiques à partir d'un milieu naturel marocain. *Revue .Biol .Biotech.* 2, 49-53.
- Hiltner L (1904) Über neue Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Grundungen und Brauche. *Arb Dtsch Landwirt Ges Berl* 98:59–78.
- [https://www.researchgate.net/figure/Mycelial-growth-and-spores-of-Streptomyces-sp\\_fig4\\_338699360](https://www.researchgate.net/figure/Mycelial-growth-and-spores-of-Streptomyces-sp_fig4_338699360) [accessed 25 Sept 2024]
- Huck, P. M., Fedorak, P. M., & Anderson, W. B. (1991). Formation and removal of assimilable organic carbon during biological treatment. *Journal-American Water Works Association*, 83(12), 69-80.

### (I)

- Imada, S., Nakamura, R., Daly, P. W., Hoshino, M., Baumjohann, W., Mühlbacher, S., ... & Rème, H. (2007). Energetic electron acceleration in the downstream reconnection outflow region. *Journal of Geophysical Research: Space Physics*, 112(A3).
- Iwai Y. & Takahashi Y. "Selection of microbial sources of bioactives compounds» in << The search for bioactive compounds from microorganisms >>. Spring-Verlag New York. (Ed). (1992). pp. 281-302

### (J)

- Jensen P.R. and Fenical W., 1996. Marine bacterial diversity as a resource for novel microbial products. *J Ind Microbiol Biotechnol* 17:346–351.
- Jensen, P. R., Dwight, R. Y. A. N., & Fenical, W. I. L. L. I. A. M. (1991). Distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. *Applied and environmental microbiology*, 57(4), 1102-1108.

### (K)

## Référence bibliographique

---

- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 33(3), 300-305.
- Karam, G., Chastre, J., Wilcox, M. H., & Vincent, J. L. (2016). Antibiotic strategies in the era of multidrug resistance. *Critical Care*, 20, 1-9.
- Kateryna, B. A., & Shvets, N. M. (2018). Special Legal Aspects of Labour Migration. *JE Eur. L.*, 152.
- Kavitha, C., Malarvizhi, A., Kumaran, S. S., & Ramesh, M. (2010). Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2848-2854.
- Kavitha, K., George, S., Venkataraman, G., & Parida, A. (2010). A salt-inducible chloroplastic monodehydroascorbate reductase from halophyte *Avicennia marina* confers salt stress tolerance on transgenic plants. *Biochimie*, 92(10), 1321-1329.
- Khalil, O. F. (2016). *America's dream palace: Middle East expertise and the rise of the national security state*. Harvard University Press.
- Khattabi, H., Aleya, L., & Mania, J. (2002). Lagunage naturel de lixiviat de décharge. *Revue des Sciences de l'Eau*, 15(1), 411-419.
- Kilkkinen, A., Pietinen, P., Klaukka, T., Virtamo, J., Korhonen, P., Adlercreutz, H., 2002. Use of oral antimicrobials decreases serum enterolactone concentration. *Am. J. Epidemiol.* 155, 472–477. <https://doi.org/10.1093/aje/155.5.472>
- Kim, H. Y. (2013). Statistical notes for clinical researchers: assessing normal distribution (2) using skewness and kurtosis. *Restorative dentistry & endodontics*, 38(1), 52-54.
- Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioia, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., ... & Boiron, P. (2005). Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north–east of Algeria. *Journal de Mycologie Médicale*, 15(1), 45-51.
- Koehn FE, Carter GT Rediscovering natural products as a source of new drugs *Discov Med* 2005 5 159 164
- Kroppenstedt, R. M., Stackebrandt, E., & Goodfellow, M. (1990). Taxonomic revision of the actinomycete genera *Actinomadura* and *Microtetraspora*. *Systematic and applied microbiology*, 13(2), 148-160.
- Kumar, S., & Kannabiran, K. (2010). Antifungal activity of *Streptomyces* VITSVK5 spp. against drug resistant *Aspergillus* clinical isolates from pulmonary tuberculosis patients. *Journal de Mycologie Médicale*, 20(2), 101-107.
- Kumar, A., Bohra, C., Singh, C. K. (2003). *Environment pollution and management*. India: New delhi-110035 (Ed), Pp532-534.
- Kurtbaok D.I. and Wildman H.G. (1998). Accessing Australian biodiversity, towards an improved detection of Actinomycetes. 9 (1-2), 10-13.
- Kuster, E and Williams, ST (1964) Selection of Media for Isolation of Streptomyces. *Nature* 202:928-929. doi:10.1038/202928a0
- Kuster, E and Williams, ST (1964) Selection of Media for Isolation of Streptomyces. *Nature* 202:928-929. doi:10.1038/202928a0

# Référence bibliographique

---

## (L)

- Labeda, D. P., & Lechevalier, M. P. (1989). Amendment of the genus *Saccharothrix* Labeda et al. 1984 and descriptions of *Saccharothrix espanaensis* sp. nov., *Saccharothrix cryophilis* sp. nov., and *Saccharothrix mutabilis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 39(4), 420-423.
- Labeda, D. P., Testa, R. T., Lechevalier, M. P., & Lechevalier, H. A. (1984). *Saccharothrix*: a new genus of the Actinomycetales related to *Nocardiosis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 34(4), 426-431.
- Lam, KS (2006) Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes. *Curr Opin Microbiol* 9:245–251
- Larpent J.P. et Sanglier J.J., 1989. *Biotechnologie des antibiotiques*. Masson, Paris. 481 p.
- Larpent J.P., Larpent G.M., (1990). *Memento technique de Microbiologie*. Editions Tec. & Doc.Lavoisier.
- Larpent, J. P., & Larpent-Gourgaud, M. (1985). *Eléments de microbiologie*. Hermann.
- Larpent, J. P., & Sanglier, J. J. (1989). *Biotechnologie des antibiotiques*. Masson.
- Larpent, J. P., & Sanglier, J. J. (1989). *Biotechnologie des antibiotiques*. Ed. Masson, Paris 481 p.
- Larpent-Gourgaud M., Larpent J-P. *Mémento technique de microbiologie*. Paris, Tec & Doc-Lavoisier, 1997. 3ème édition. ISBN- 2-7430-0163-1.
- LECHEVALIER M. P., LECHEVALIER H.A. (1980). The chemotaxonomy of actinomycetes. In: "Actinomycetes taxonomy", special publication 6. Arlington, Virginia, USA. 225 – 291
- Lechevalier M.P. Ecological associations involving actinomycetes. In: Actinomycetes. Schaal and Pulverer (Eds.) . *Zbl. Bakt. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart-New-York.* , 1981, 11: pp 159-166.
- Lechevalier M.P., Bievre C.D. and Lechevalier H. (1977). Chemotaxonomie of aerobic Actinomycetes : phospholipides composition. *Bioch. Syst. Ecol.* 5, 249-260.
- Lechevalier, H.A., Lechevalier, M.P. (1967). Biology of actinomycetes. *Ann Rev Microbiol*, 21: 71–100.
- Lechevalier, M. P., & Lechevalier, H. (1970). Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 20(4), 435-443.
- Lechevalier, M.P., Lechevalier, H., 1985. Biology of Actinomycetes Not Belonging to the Genus *Streptomyces*, *Biology of Industrial Microorganisms*.
- Leclerc, J. C., Plater, C., & Fridman, W. H. (1977). The role of the Fc receptor (FcR) of thymus-derived lymphocytes I. Presence of FcR on cytotoxic lymphocytes and absence of direct role in cytotoxicity. *European Journal of Immunology*, 7(8), 543-548.
- Li, J., Galley, M., Brockett, C., Spithourakis, G. P., GAO, J., & Dolan, B. (2016). A persona-based neural conversation model. *ArXiv preprint arXiv : 1603.06155*.

## Référence bibliographique

---

- Liu X, Ashforth E, Ren B, Song F, Dai H, Liu M, Wang J, Xie Q, Zhang L Bioprospecting microbial natural product libraries from the marine environment for drug discovery *J Antibiot* 2010 63 415-422 10.1038/ja.2010.56
- Lynch JM (1990) Introduction: some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. In: Lynch JM (Ed) *The rhizosphere*. Wiley, Chichester, pp 1–10.

### (M)

- Makkar, N. S., & Cross, T. (1982). Actinoplanetes in soil and on plant litter from freshwater habitats. *Journal of Applied Bacteriology*, 52(2), 209-218.
- Manam RR et al. Lajollamycin, a nitro-tetraene spiro-beta-lactone-gamma-lactam antibiotic from the marine actinomycete *Streptomyces nodosus* *J Nat Prod* 2005 68 240-243 10.1021/np049725x [Google Scholar](#) [Crossref](#) [PubMed](#) [WorldCat](#)
- Manar IBRAHIMI, Ouhdouch, Y., Hafidi, M., Renault, J., Oudouch, Y., 2020. Extraction et caractérisation de nouveaux antibactériens produits par les actinobactéries prédatrices d'origine marine.
- Marchal, N., Bourdon, J. L. (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin éditeurs –Paris. 509p.
- Mariat, F ; 1962. Critères de détermination des principales espèces d'actinomycètes aérobies pathogènes. Institut Pasteur. Paris : service de mycologie Ann.Soc.Belge.Trop 4, p 651-672.
- Marinelli, F., & Tomasz, A. (2010). Antimicrobials. *Current opinion in microbiology*, 13(5), 547.
- Martin JK, Kemp JR (1980) Carbon loss from roots of wheat cultivars. *Soil Biology and Biochemistry* 12:551-554.
- McKinney, M. L. (2004). Do exotics homogenize or differentiate communities? Roles of sampling and exotic species richness. *Biological Invasions*, 6, 495-504.
- Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Sproer, C., Klenk, H.P., Sabaou, N (2015) *Actinopolyspora algeriensis* sp. Nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil. *Extremophiles*; 16: 771–776.
- Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., ... & Sabaou, N. (2012). *Actinopolyspora algeriensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil. *Extremophiles*, 16, 771-776.
- Melander, C., Martinsson, J., & Gustafsson, S. (2018). Measuring electrodermal activity to improve the identification of agitation in individuals with dementia. *Dementia and geriatric cognitive disorders extra*, 7(3), 430-439.
- Mellouli, L., Ameer-Mehdi, R. B., Sioud, S., Salem, M., & Bejar, S. (2003). Isolation, purification and partial characterization of antibacterial activities produced by a newly isolated *Streptomyces* sp. US24 strain. *Research in Microbiology*, 154(5), 345-352.

## Référence bibliographique

---

- Messaoudi, O (2012). Contribution à la caractérisation de souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha de kenadsa (Bechar).
- Messaoudi, O. 2013 . contribution à la caractérisation de souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha de kenadsa (becher), Mémoire de Magistère en Microbiologie appliquée, Université Abou BakrBelkaïd de Tlemcen .p 03.
- MIGHELEZ E. M., HARDISSON C. MAUZANAL M. B. (2000). Streptomycetes: a new model to study cell death. *Int Microbiol.* 3(3): 153 – 158.
- Minnikin, D. E., O'donnell, A. G., Goodfellow, M., Alderson, G., Athalye, M., Schaal, A., & Parlett, J. H. (1984). An integrated procedure for the extraction of bacterial isoprenoid quinones and polar lipids. *Journal of Microbiological Methods*, 2(5), 233-241.
- MORDARSKA, H., Mordarski, M., & Goodfellow, M. (1972). Chemotaxonomic characters and classification of some nocardioform bacteria. *Microbiology*, 71(1), 77-86.
- Muller, A., Muller, A., 2018. Bon usage des antibiotiques : résultats d ' actions dans différents types d ' établissements de santé To cite this version : HAL Id : tel-01842246 Par.
- Muylaert et Mainil J G., (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité », *Ann. Méd. Vét.*, 156, 109- 123
- Muylaert, A., & Mainil, J. G. (2012). Bacterial antimicrobial resistances: the mechanisms and their contagiousness.
- Muylaert, A., & Mainil, J. G. (2012). Bacterial antimicrobial resistances: the mechanisms and their contagiousness.

### (N)

- Nakaew NW, Pathom-aree and Lumyong S (2009) Generic diversity of rare actinomycetes from Thai cave soils and their possible use as new bioactive compounds. *Actinomycetologica*, 23: 21-26.
- Nanjani. S. G & Soni. H. P. 2011. Isolation and characterization of extremely halotolerant and halophilic organisms from dwarka and veraval. *Bioinformatica* .Vol: 1. N°: 1. Pp: 1-15.
- Nikaido, H. (2009). Multidrug resistance in bacteria. *Annual review of biochemistry*, 78(1), 119-146.
- Nonomura H., Hayakawa M., (1988). New methods for selective isolation of soil actinomycetes, dans « biology of Actinomycetes ». Japon Scientific Societies Press. Tokoyo. (Ed). 88-100.

### (O)

- Okeke, I.N., Lamikanra, A., Edelman, R.R., 1999. Socioeconomic and behavioral factors leading to acquired bacterial resistance to antibiotics in developing countries. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 18–27.

## Référence bibliographique

---

- Omura, S (1992). The search for bioactive compounds from microorganisms. Springer, Verlag, New York.
- Ottow, J. C., & Glathe, H. (1968). Rose bengal-malt extract-agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Applied Microbiology*, 16(1), 170-171.

### (P)

- Pamboukian, C. R., Guimarães, L. M., & Facciotti, M. C. R. (2002). Applications of image analysis in the characterization of *Streptomyces olindensis* in submerged culture. *Brazilian Journal of Microbiology*, 33, 17-21.
- Peczyńska-Czoch, W. A. N. D. A., & Mordarski, M. A. R. I. A. N. (1988). Actinomycete enzymes.
- Pepe, O., Blaiotta, G., Moschetti, G., Greco, T., & Villani, F. (2003). Rope-producing strains of *Bacillus* spp. from wheat bread and strategy for their control by lactic acid bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 69(4), 2321-2329.
- Pickett, H. M. (1991). The fitting and prediction of vibration-rotation spectra with spin interactions. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 148(2), 371-377.
- Prabhu, K. H., Teli, M. D., & Waghmare, N. G. (2011). Eco-friendly dyeing using natural mordant extracted from *Emblica officinalis* G. Fruit on cotton and silk fabrics with antibacterial activity. *Fibers and Polymers*, 12, 753-759.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., Willey, J.M., Sherwood, L.M., Woolverton, C.J., 2003. Microbiologie. 2e éd. Bruxelles.
- Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A. 2010. Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme edition Pp 589.

### (Q)

- Quinn, G.A., Banat, A.M., Abdelhameed, A.M., Banat, I.M., 2020. *Streptomyces* from traditional medicine: sources of new innovations in antibiotic discovery. *J. Med. Microbiol.* 69, 1040–1048. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001232>

### (R)

- Rahmansyah, M., Agustiyani, D., Julistiono, H., & Dewi, T. K. (2012). Growth and adaptation of four *Streptomyces* isolates in the media containing propoxur. *Research Center for Biology, Indonesian Institute of Sciences Cibinong Science Center, Jalan Raya Jakarta Bogor, Cibinong, Indonesia.*
- Rajan, B. M., & Kannabiran, K. (2014). Extraction and identification of antibacterial secondary metabolites from marine *Streptomyces* sp. VITBRK2. *International journal of molecular and cellular medicine*, 3(3), 130.

## Référence bibliographique

---

- Ramos, A. M., Tomé, R., Trigo, R. M., Liberato, M. L., & Pinto, J. G. (2016). Projected changes in atmospheric rivers affecting Europe in CMIP5 models. *Geophysical Research Letters*, 43(17), 9315-9323.
- Rangaswami, H., Bulbule, A., & Kundu, G. C. (2004). Nuclear factor-inducing kinase plays a crucial role in osteopontin-induced MAPK/I $\kappa$ B $\alpha$  kinase-dependent nuclear factor  $\kappa$ B-mediated promatrix metalloproteinase-9 activation. *Journal of Biological Chemistry*, 279(37), 38921-38935.
- Ranjani, H., Mehreen, T. S., Pradeepa, R., Anjana, R. M., Garg, R., Anand, K., & Mohan, V. (2016). Epidemiology of childhood overweight & obesity in India: A systematic review. *Indian Journal of Medical Research*, 143(2), 160-174.
- Rheims, H., Frühling, A., Schumann, P., Rohde, M., & Stackebrandt, E. (1999). *Bacillus silvestris* sp. nov., a new member of the genus *Bacillus* that contains lysine in its cell wall. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(2), 795-802.
- Riedlinger Jet al. Abyssomicins, inhibitors of the para-aminobenzoic acid pathway produced by the marine *Verrucosispora* strain AB-18-032 *J Antibiot* 2004 57 271 279 10.7164/antibiotics.57.271
- Rodríguez Concepción M., and A., Boronat (2013). Iso prenyl biosynthesis in prokaryotic organisms. In *Iso prenyl Synthesis in plant and Microorganisms*. eds. T.J. bach, and M. Rohmer. pp. 1-16. New York; Heidelberg. Germany: Dordrecht, the Netherlands: London. UK, Springer.
- Rodríguez-Martínez, J. A., Solá, R. J., Castillo, B., Cintrón-Colón, H. R., Rivera-Rivera, I., Barletta, G., & Griebenow, K. (2008). Stabilization of  $\alpha$ -chymotrypsin upon PEGylation correlates with reduced structural dynamics. *Biotechnology and bioengineering*, 101(6), 1142-1149.
- Rowbotham, T. J., & Cross, T. (1977). *Rhodococcus coprophilus* sp. nov.: an aerobic nocardioform actinomycete belonging to the 'rhodochrous' complex. *Microbiology*, 100(1), 123-138.
- Rowland, I., Wiseman, H., Sanders, T., Adlercreutz, H., Bowey, E., 1999. Metabolism of oestrogens and phytoestrogens: Role of the gut microflora. *Biochem. Soc. Trans.* 27, 304–308. <https://doi.org/10.1042/bst0270304>
- Ruimy, A., Jarvis, P. G., Baldocchi, D. D., & Saugier, B. (1995). CO<sub>2</sub> fluxes over plant canopies and solar radiation: a review. *Advances in ecological research*, 26, 1-68.

### (S)

- Sabaou, N., Boudjella, H., Bennadji, A., Lamari, A.L., Bennadji, H (1998) Les sols des oasis du Sahara algérien sources d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Secheresse*, 9 : 45–53.
- Sabaou, N., Hacène, H., Bennadji, A., Bennadji, H., Bounaga, N (1992) Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons des sols de surface et profonds d'une palmeraie algérienne. *Can. J. Microbiol* , 38: 1066–1073.
- Sabaou N., (1988). Contribution à l'étude des actinomycètes des sols des palmeraies algériennes : systématique et écologie. Thèse doc : USTHB. Pp : 192.

## Référence bibliographique

---

- Saintpierre-Bonaccio, D., Maldonado, L. A., Amir, H., Pineau, R., & Goodfellow, M. (2004). *Nocardia neocaledoniensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a New-Caledonian brown hypermagnesian ultramafic soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54(2), 599-603.
- Saker, R., Bouras, N., Meklat, A., Zitouni, A., Schumann, P., Spröer, C., ... & Klenk, H. P. (2015). *Präuserellaisguenensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from desert soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65 ( Pt 5 ), 1598-1603.
- Saker, R., Bouras, N., Meklat, A., Zitouni, A., Schumann, P., Spröer, C., ... & Sabaou, N. (2015). *Actinopolyspora biskrensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from Northern Sahara. *Current microbiology*, 70, 423-428.
- Sanders, T. (2011). On Roth's theorem on progressions. *Annals of Mathematics*, 619-636.
- Sanglier, J. J., Haag, H., Huck, T. A., & Fehr, T. (1993). Novel bioactive compounds from actinomycetes: a short review (1988–1992). *Research in Microbiology*, 144(8), 633-642.
- Shirling, E. T., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 16(3), 313-340.
- Shirling, E. T., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International journal of systematic bacteriology*, 16(3), 313- 340
- Shomura, T., YOSHIDA, J., AMANO, S., KOJIMA, M., INOUE, S., & NIIDA, T. (1979). Studies on actinomycetales producing antibiotics only on agar culture i. screening, taxonomy and morphology-productivity relationship of *Streptomyces halstedii*, strain SF-1993. *The Journal of antibiotics*, 32(5), 427-435.
- Silini, S., Ali-Khodja, H., Boudemagh, A., Terrouche, A and Bouziane, M (2015) Isolation and preliminary identification of actinomycetes isolated from a wastewater treatment plant and capable of growing on methyl ethyl ketone as a sole source of carbon and energy. *Desalin. Water Treat*, 57: 12108–12117.
- Simon P., Meunier R., (1970). *Microbiologie industrielle et génie biochimique*. 452p.
- Simonetti N., Strippoli V., (1971). Azione della metilpatricina sulfa *Candida albicans*. *Antibiotica*. 9: 5-19.
- Singh, H. P., Batish, D. R., Kaur, S., Arora, K., & Kohli, R. K. (2006).  $\alpha$ -Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Annals of Botany*, 98(6), 1261-1269.
- Singleton P., (1994). *Bactériologie*. Ed., Masson. France.
- Sivakumar K., Kumar Sahu M., Thangaradjou T. and Kannan L., 2007. Research on marine actinobacteria in India. *Indian J. Microbiol.* 47:186–196
- Smaoui, S., 2010. Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés 251.
- Smati, M and Kitouni, M (2019) Diversity of actinobacteria in the marshes of Ezzemoul and Djendli in northeastern Algeria, *EUROPEAN JOURNAL OF ECOLOGY*, 5(2): 41-53, doi:10.2478/eje-2019-0009
- Smith SE, Read DJ (1997) *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London, etc.

## Référence bibliographique

---

- Soderberg KH, Baath E (1998) Bacterial activity along a young barley root measured by the thymidine and leucine incorporation techniques. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(10-11): 1259–1268.
- Sogin ML, Morrison HG, Huber JA, Mark Welch D, Huse SM, Neal PR, Arrieta JM, Herndl GJ Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere” *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 103 12115 12120 1524930 10.1073/pnas.0605127103
- Solecka J., Zajko J., Postek M. and Rajnisz A., (2012). Biologically active secondary metabolites from actinomycetes. *Central European Journal of Biology*, 7: 373-390.
- Souagui, S., Djoudi, W., Boudries, H., Béchet, M., Leclère, V., Kecha, M (2019) Modeling and statistical optimization of culture conditions for improvement of antifungal compounds production by *Streptomyces albidoflavus* S19 strain of wastewater origin. *Anti Infect. Agents*. 17: 39–49.
- Souagui, Y., Tritsch, D., Grosdemange-Billiard, C., Kecha, M (2015) Optimization of antifungal production by an alkaliphilic and halotolerant actinomycete, *Streptomyces* sp. SYBS5, using response surface methodology. *J. Mycol. Med*, 25: 108–115
- Stackebrandt, E. (1983). A phylogenetic analysis of *Prochloron*. *Endocytobiology II*.
- Stackebrandt, E., & Goebel, B. M. (1994). Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 44(4), 846-849.
- Stackebrandt, E., Rainey, F. A., & Ward-Rainey, N. L. (1997). Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(2), 479-491.
- Stotzky, G. (1986). Influence of soil mineral colloids on metabolic processes, growth, adhesion, and ecology of microbes and viruses. *Interactions of soil minerals with natural organics and microbes*, 17, 305-428.
- Suthindhiran, K., & Kannabiran, K. (2009). Cytotoxic and antimicrobial potential of actinomycete species *Saccharopolyspora salina* VITSDK4 isolated from the Bay of Bengal Coast of India. *Am J Infect Dis*, 5(2), 90-98.

### (T)

- Takizawa M., Colwell R.R., Hill R.T., (1993). Isolation and diversity of Actinomycetes in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 997- 1002
- Thakur, A., Wang, X., Siedlak, S. L., Perry, G., Smith, M. A., & Zhu, X. (2007). c-Jun phosphorylation in Alzheimer disease. *Journal of neuroscience research*, 85(8), 1668-1673.
- THEILLEUX J. (1993). Les actinomycètes. In: « Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel ». Lavoisier, Paris. 425 – 479.
- Thiemann, J. E., Zucco, G and Pelizza, G. 1969. A protoplast for the transfer of *Streptomyces mediterranei* to the genus *Nocardia mediterranei*. *Comb. Nov. Arch. Mikrobiol.* 67 :147-55.

## Référence bibliographique

---

- Toumatia, O., Yekkour, A., Goudjal, Y., Riba, A., Coppel, Y., Mathieu, F., ... & Zitouni, A. (2015). Antifungal properties of an actinomycin D-producing strain, *Streptomyces* sp. IA1, isolated from a Saharan soil. *Journal of Basic Microbiology*, 55(2), 221-228.
- Trenochnikova, L & Azizan, A (2018). Discovery of Actinomycetes from extreme environments with potential to produce novel antibiotics. *Cent Asian J Gold Health*; 7(1): 337
- Turner, N. A ., Sharma-Kuinkel, B.K., Maskarinec, S. A ., Eichenberger, E.M ., Shah, P.P ., Carugati, M (2019) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: and overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol* 17, 203-218

### (V)

- Valan, A. M., Asha, K. R. T., Duraipandiyam, V., Ignacimuthu, S., & Agastian, P. (2012). Characterization and phylogenetic analysis of novel polyene type antimicrobial metabolite producing actinomycetes from marine sediments: Bay of Bengal India. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(10), 803-810.
- Valanarasu, M., Kannan, P., Ezhilvendan, S., Ganesan, G., Ignacimuthu, S., & Agastian, P. (2010). Antifungal and antifeedant activities of extracellular product of *Streptomyces* spp. ERI-04 isolated from Western Ghats of Tamil Nadu. *Journal de Mycologie Médicale*, 20(4), 290-297.
- Valanarasu, M., Kannan, P., Ezhilvendan, S., Ganesan, G., Ignacimuthu, S., & Agastian, P. (2010). Antifungal and antifeedant activities of extracellular product of *Streptomyces* spp. ERI-04 isolated from Western Ghats of Tamil Nadu. *Journal de Mycologie Médicale*, 20(4), 290-297.
- Ventola, C.L., 2015. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T* 40 4, 277– 283
- Villa, F., & Gerwick, L. (2010) Marine natural product drug discovery: Leads for treatment of inflammation, cancer, infections, and neurological disorders. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 32, 228–237

### (W)

- Wang L; Huang. Y; Liu. Z; Goodfellow. M & Rodriguez. C. 2006. *Sreptacidiphilus oryzae* sp. Nov. an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. In. *J. Sys. Ev. Microbiol.* Vol 56. Pp: 1257-1261.
- Wang, Y., et Jiang, Y. (2016). Chemotaxonomy of Actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*.
- Warwick, R. M., & Clarke, K. R. (1994). Relearning the ABC: taxonomic changes and abundance/biomass relationships in disturbed benthic communities. *Marine Biology*, 118, 739-744.
- Weyland, V. J. (1969). *An Essay on Faith Healing*.
- Willey, J. S., Lloyd, S. A., Robbins, M. E., Bourland, J. D., Smith-Sielicki, H., Bowman, L. C., ... & Bateman, T. A. (2008). Early increase in osteoclast number in mice after whole-body irradiation with 2 Gy X rays. *Radiation research*, 170(3), 388-392.

## Référence bibliographique

---

- WILLIAMS S.T, GOODFELLOW M., ALDERSON G., (1989). Genus Streptomyces Waksman and Henrici 1943. In "Bergeys manual of systematic bacteriology, Vol 4 ed. Williams S.T., Sharpe M.E., Holt J.P. Baltimore: Williams and Wilkins. Pp. 2452-2492.
- Williams, J. D., Warren Jr, M. L., Cummings, K. S., Harris, J. L., & Neves, R. J. (1993). Conservation status of freshwater mussels of the United States and Canada. *Fisheries*, 18(9), 6-22.
- Williams, J.A., Day, M.D & James, E Heavner (2008). Ziconotide: an update and review. Expert opinion an pharmacol therapy 9(9)
- Williams, P. G (2009) Panning for chemical gold: marine bacteria as a source of new therapeutics. *Trends Biotechnol* 27:45-52.
- Williams, S. T., & Cross, T. (1971). Chapter XI actinomycetes. In *Methods in microbiology* (Vol. 4, pp. 295-334). Academic Press.
- Williams, S. T., Goodfellow, M., Wellington, E. M. H., Vickers, J. C., Alderson, G., Sneath, P. H. A., ... & Mortimer, A. M. (1983). A probability matrix for identification of some streptomycetes. *Microbiology*, 129(6), 1815-1830.
- Williams, S., Lanning, S et Wellington, E (1984). Ecology of Actinomycetes. In: The Biology of the Actinomycetes. Eds : Goodfellow, M. et Mordarski , M. et Williams, S Academic press, London, New York, Sydney, Tokyo, Sao Paulo: 481–528.
- Wise, R., 2002. Antimicrobial resistance: Priorities for action. *J. Antimicrob. Chemother.* 49, 585–586. <https://doi.org/10.1093/jac/49.4.585>
- Woese, C. R. (1987). Bacterial evolution. *Microbiological reviews*, 51(2), 221-271.
- Woese, C. R., & Fox, G. E. (1977). The concept of cellular evolution. *Journal of molecular evolution*, 10, 1-6.

### (X)

- Xiu, Z., Sun, F., Shen, Y., Zhang, X., Jiang, R., Bonnard, G., ... & Tan, B. C. (2016). EMPTY PERICARP 16 is required for mitochondrial nad2 intron 4 cis-splicing, complex I assembly and seed development in maize. *The Plant Journal*, 85(4), 507-519.

### (Y)

- Yamaguchi, T. (1965). Comparison of the cell-wall composition of morphologically distinct actinomycetes. *Journal of Bacteriology*, 89(2), 444-453.
- Yoneyama, N., Morimoto, H., Ye, C. X., Ashihara, H., Mizuno, K., & Kato, M. (2006). Substrate specificity of N-methyltransferase involved in purine alkaloids synthesis is dependent upon one amino acid residue of the enzyme. *Molecular Genetics and Genomics*, 275, 125-135.
- Yuan, Y., Gao, Y., Zhao, J., & Mao, L. (2008). Characterization and stability evaluation of  $\beta$ -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *Food Research International*, 41(1), 61-68.

### (Z)

## Référence bibliographique

---

- Zamoum, M., Goudjal, Y., Sabaou, N., Barakate, M., Mathieu, F., Zitouni, A (2015) Biocontrol capacities and plant growth-promoting traits of endophytic actinobacteria isolated from native plants of Algerian Sahara. *J. Plant Dis. Prot* 122: 215–223
- Zerizer H. (2014). Les genres d'actinomycètes (hors mycobactéries) impliqués dans les infections dans la région de Constantine. Thèse de Doctorat en Sciences en Biochimie et Microbiologie Appliquées. Université Constantine 1.p 11.
- Zitouni, A., Lamari, L., Boudjella, H., Badji, B., Sabaou, N., Gaouar, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Labeda, D.P (2004) *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* , 54: 1377–1381.
- Zvyagintsev, A. Y. (2005). Marine fouling in the north-west part of Pacific Ocean. *Vladivostok: Dalnauka*.

# ***ANNEXE***

# ANNEXE

---

## Annexe 1

### La composition des milieux de culture

#### Amidon caséine agar (M2) :

Amidon Caséine	10g
KNO <sub>3</sub>	0,3g
NaCl	2g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub>	2g
CaCO <sub>3</sub>	0,05g
FeSO <sub>4</sub>	0,02g
Agar	0,01g
Eau distillée	15g
pH : 7,4	1000ml

#### Citrate de Simmons

Ammonium dihydrogenophosphate	1g
Phosphate de dipotassique	1g
Chlorure de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Sulfate magnésium	0,2g
Bleu de bromothymol	0,08g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml
pH : 6,8	

#### Gélose de Gause

Amidon	20g
KNO <sub>3</sub>	1g
NaCl	0,5g
MgSO <sub>4</sub> ×7 H <sub>2</sub> O	0,5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g

# ANNEXE

---

<b>FeSO4</b>	<b>10mg</b>
<b>Agar</b>	<b>15 g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000ml</b>

**pH : 7,4**

## **Gélose Sabouraud**

<b>Peptone de gélatine</b>	<b>10g</b>
<b>Glucose</b>	<b>20g</b>
<b>Agar</b>	<b>15g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000ml</b>

**pH : 5,6**

## **Gélose TSI (Triple Sugar Iron)**

<b>Peptone de viande</b>	<b>15g</b>
<b>Protéose peptone</b>	<b>5g</b>
<b>Extrait de viande</b>	<b>3g</b>
<b>Extrait de levure</b>	<b>3g</b>
<b>Glucose</b>	<b>1g</b>
<b>Saccharose</b>	<b>10g</b>
<b>Lactose</b>	<b>10g</b>
<b>Citrate de fer ammoniacal</b>	<b>0,3g</b>
<b>Chlorure de sodium</b>	<b>5g</b>
<b>Sodium thiosulfate</b>	<b>0,3g</b>
<b>Rouge de phénol</b>	<b>0,05 g</b>
<b>Agar</b>	<b>18g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000mL</b>

**pH 7,2**

## **ISP1**

<b>Tryptone</b>	<b>5g</b>
<b>Extrait de levure</b>	<b>3g</b>
<b>Agar</b>	<b>15g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000ml</b>



# ANNEXE

---

<b>Extrait de malt</b>	<b>10g</b>
<b>Extrait de levure</b>	<b>4g</b>
<b>Glucose</b>	<b>2g</b>
<b>NaCl</b>	<b>2,5g</b>
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	<b>1g</b>
<b>Agar</b>	<b>15g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000ml</b>
<b>pH 7,0</b>	

## **Mueller Hinton**

<b>Infusion de viande de boeuf</b>	<b>2g</b>
<b>Amidon</b>	<b>15g</b>
<b>Hydrolysate de Caséine</b>	<b>17,5g</b>
<b>Agar</b>	<b>17g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000ml</b>
<b>pH 7,3</b>	

# ANNEXE

---

## Annexe 2

La composition des tampons et solutions :

### Solution d'avoine

Grains d'avoine	20g
Eau distillée	1000ml

Faire bouillir pendant 20 minutes, filtrer sur gaz et réajuster le volume à 1000ml.

### Solution d'oligo-éléments

FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,1g
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0,1g
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,1g
Eau distillée	100ml