

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République algérienne démocratique et populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب  
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes  
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Approche théorique sur l'activité antimicrobienne des actinobactéries isolés de différents écosystèmes

Présenté Par :

- 1) Melle. Saadi Fatima
- 2) Melle. Zitouni Radjae
- 3) Melle. Boukabouya Maroua Hadjria

Devant le jury composé de :

Dr. Bennabi F.	MCA UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. Tahari F.Z.	MCB UAT.B.B (Ain Temouchent )	Examineur
Dr. Chibani H.R.	MCB UAT.B.B (Ain Temouchent )	Encadrant

*Année Universitaire 2021/2022*

## Sommaire

Dédicace.....	5
Liste des abréviations.....	8
Liste des figures.....	9
Liste des tableaux.....	10
Résumé :.....	12
Introduction générale: .....	16
<b>I. Chapitre01 : Généralité sur les actinobactéries.....</b>	<b>19</b>
I.1.L'histoire des actinobactéries :.....	19
I.2.Définition et caractéristique des actinobactéries :.....	19
I.3.Habitat et ecologie des actinobactéries (le sol, l'air, l'eau) : .....	22
I.3.1. Environnement terrestres : .....	23
I.3.2.Les actinomycètes dans les milieux aquatiques : .....	23
I.3.4.Les Composts :.....	24
I.3.5.Les végétaux, les animaux et l'homme : .....	24
I.4.Taxonomie des actinobactéries :.....	25
I.4.1.Caractéristique morphologiques des actinobactéries : .....	26
Les critères morphologiques font appel aux caractéristiques culturelles sur différents milieux de culture et aux caractéristiques micros morphologiques ( <b>Shirling et Gottlieb, 1966</b> ).....	26
I.4.1.1. Caractéristiques culturelles ou macromorphologiques :.....	26
I.4.1.2.Caractéristiques micro-morphologiques : .....	28
I.4.2.Caractéristique Chimiotaxonomique :.....	30
I.4.3. Caractéristique moléculaire : .....	31
I.4.4.Caractéristique physiologiques et taxonomie numérique des actinobactéries : .....	33
I.5. Cycle de développement des actinobactéries :.....	34
I.6. Métabolisme des actinobactéries :.....	35
I.7.Importance des actinobactéries :.....	37
I.7.1.Dans les domaines médical, vétérinaire et industriel : .....	37
I.7.2.Dans le domaine agronomique :.....	39
I.7.3.L'importance en biotechnologie :.....	39
<b>Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actionacteries ( comparaison des résultats antérieurs).....</b>	<b>42</b>

II. Activité antimicrobiennes des actinobactérie isolés de différents écosystèmes : .....	42
II.1. Nature des échantillons : .....	42
Isolement et caractérisation des actinomycètes du sol et évaluation de leurs activitésantibactériennes contre les agents pathogènes. ....	44
II.2. Isolement des actinobactéries : .....	45
II.2.1. Options nutritionnelles : .....	45
II.2.2. Inhibition sélective : .....	46
II.2.3. Isolement sur les membranes à filtres : .....	47
II.3. Criblage et évaluation de l'activité antibactérienne des actinobactéries : .....	48
II.3.1. Méthodes par diffusion en milieu gélosé : .....	49
II.3.1.1. Principe de la méthode : .....	49
II.3.1.2. Méthode de diffusion sur disque / méthode Kirby-Bauer : .....	49
II.3.1.3. Méthode de diffusion des puits d'agar : .....	50
II.3.1.4. Autres méthodes de diffusions : .....	50
II.3.1.4.2. La méthode à stries croisées (Rothrock et Gottlieb, 1981) : .....	52
II.3.1.5. Facteurs influençant la dimension de la zone d'inhibition : .....	53
II.4. Production de biomolécules par les techniques de fermentation : .....	53
II.4.1. Types de la fermentation solide : .....	54
II.4.2. Avantages et limites : .....	54
II.4.3. Fermentation submergée (Fermentation liquide) : .....	54
II.5. Extraction liquide-liquide : .....	56
II.5.1. Procédures courantes d'extraction liquide-liquide : .....	56
II.5.1.1. Extraction simple : .....	57
II.5.1.2. Extraction multiple : .....	57
<b>Conclusion générale :</b> .....	60
<b>Références bibliographiques :</b> .....	63

## Remerciement

*Tout d'abord, nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant et Miséricordieux, de nous avoir donné la santé, la force, la volonté et la patience d'accomplir toutes nos études.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre encadrant **Mlle Chibani Hiba Rahman**, pour nous avoir encadré et dirigé ce travail ainsi que pour sa disponibilité, ses conseils et pour son soutien et sa patience.*

*Nous tenons à gratifier aussi les membres de Jerry : **Mr Bennabi F** et **Mlle Tahari F.Z** de l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer ce travail et de l'enrichir par leurs propositions et leurs conseils.*

*Nos remerciements s'adressent également aux :*

*Enseignants du département SNV de l'université d'Ain-Temouchent pour leurs qualités scientifiques et pédagogiques.*

*A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Dédicace

*Que ce travail témoigne de mes respects :*

*A mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que Dieu te protège, à toi mon père.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon Cœur, ma vie et mon bonheur, maman que j'adore.*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour,*

*A ma sœur Yamina ma plus chère au monde que j'aime*

*Énormément.*

*A la famille Saadi. Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.*

*A mes cousins et cousines. Meilleurs vœux de succès dans vos études.*

*A tous mes professeurs : Leur générosité et leur soutien m'obligent de leur témoigner mon profond respect et ma considération.*

*A ma très chère amie : Asma*

*A toutes mes amies : Radjae, Djamila, Rania, Chaima, Amina, Hayat.*

*Fatima*

## Dédicace

*Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.*

*Je dédie aussi ce travail à :*

- ❖ Mon frère et mes sœurs.*
- ❖ Toute la famille Boukabouya et la famille ahmed bouhdjer.*
- ❖ Tous mes amis nessrin et zoubida et mes collègues.*

*Maroua*

## ***Dédicace***

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de dieu tout puissant.*

*A mes très chers grands parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin.*

*A mes parents*

*ma mère qui a été à mes cotés et m'a soutenue durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis,*

*Merci mes parents*

*A mon cher frère Nadji, mes cheres sœurs Nour et Kawther*

*A toute ma famille sans exception.*

*A tous mes amis*

*En fin je remercie mes binômes Fatima et Maroua*

*Radjae*

## Liste des abréviations

**ADN** : L'acide désoxyribonucléique.

**ARN** : L'acide ribonucléique

**MS** : Mycélium du substrat

**PH**: Potentiel d'hydrogène.

**CCA** : Colloïdales Chitine Agar

**%** : pourcent

**°C**: degré Celsius

**g** : Gramme.

**G+C**: Coefficient de Chargaff.

**J** : jour

**µm** : micromètre

**Aw** : activité d'eau

**ELL** : Extraction Liquide -Liquide

**SmF** : Fermentation Submergée

**SSF** : Solide-State Fermentation

## Liste des figures

**Figure 01 :** Aspect macroscopique des colonies d'actinobactéries sur milieu ISP2 à 30 °C pendant 7 jours.

**Figure02 :** Actinobactéries isolées sur milieu amidon caséine agar après incubation à 30 C /14 jours (a, c : Photos des boites de Pétri des isolats d'actinobacteries). (b, d : Morphologie des colonies individuelles).

**Figure03 :** Coupe transversale d'une colonie d'actinobactéries avec des hyphes vivant (bleu et vert) et morts (blanc) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaines de conidiospores.

**Figure04 :** Croissance d'un isolat d'actinobactérie sur milieu agar de caséine et amidon. .a. mycélium aérien. b. mycélium de substrat.

**Figure05 :** Micromorphologie des principaux genres d'actinobactéries.

**Figure06 :** Types de chaînes de spores rencontrés chez les espèces de *Streptomyces*.

**Figure 07 :** Mycélium du substrat avec des chaines de spores de *Streptomyces* sur le milieu Amidon-Caséine incubée à 32°C /7 jours.

**Figure 08 :** Ordres de classe d'actinobactérie basée sur l'analyse des séquences ADNr 16S .

**Figure 09 :** Cycle de croissance en milieu solide de *Streptomyces*.

**Figure10 :** Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes.

**Figure 11 :** Applications biotechnologiques des actinobactéries.

**Figure12 :** Méthode d'isolement des actinomycètes par les filtres à membrane.

**Figure13 :** Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode des cylindres d'agar.

**Figure 14 :** Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode de stries croisées.

**Figure 15:** dessin schématique d'une ampoule de décantation avec deux couches distinctes de liquides.

## Liste des tableaux

**Tableau 01 :** Habitats de certains actinobactéries.

**Tableau 02 :** Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries.

**Tableau 03 :** Valeurs du coefficient de Chargaff pour les différents genres d'actinobactéries.

**Tableau 04 :** Importance médicale de certains antibiotiques produits par le genre *Streptomyces*.

**Tableau 05 :** Nature des échantillons étudiés dans les articles analysés

**Tableau 06 :** Composition des milieux de culture utilisés pour l'isolement des actinomycètes dans les articles analysés.

**Tableau 07 :** représente une globale comparaison entre la fermentation solide et liquide (submergée)

# *Résumé*

## **Résumé :**

Historiquement, les actinomycètes ont reçu beaucoup d'attention en raison de leur capacité à produire une variété de métabolites secondaires d'une valeur biotechnologique significative. D'autre part, Le but de ce travail s'inscrivait dans le cadre de la recherche et de l'investigation d'actinomycètes capables de synthétiser des substances antibactériennes. Notre choix s'est porté sur l'étude bibliographique des actinobactéries, car elles constituent une source naturelle et attractive de différentes molécules bioactives comme les antibiotiques, les antifongiques et les antioxydants. 15 articles scientifiques ont été analysés qui portent sur l'isolement des actinomycètes dans différents milieux environnementaux. Nous avons parlé dans ce travail de plusieurs points essentiels, en débutant par la nature des échantillons, et les approches d'isolement sélectifs des actinobactéries (inhibition sélective et sélection nutritionnelle), les méthodes de criblage des activités antimicrobienne des actinobactéries et en terminant par une discussion sur les techniques de fermentation et d'extraction les plus utilisées. Il a été constaté que le milieu gélose de caséine avec d'amidon est le plus utilisé dans l'isolement des actinobactéries. Dont l'amidon représente la source de carbone la plus utilisée dans les milieux d'isolement sélectif avec 23% de même pour la caséine qui occupe 29% des sources d'azote utilisés. Les concentrations de NaCl utilisées varient en fonction des conditions physicochimique de l'échantillon et du genre isolé. La technique des stries croisées a donné un pourcentage plus important d'isolats actifs pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

**Mots clés :** Actinobactéries, Antibiotiques, antifongiques, antioxydants, isolement, fermentation, criblage, extraction, activité antimicrobienne.

## **Abstract**

Historically, actinomycetes have received much attention due to their ability to produce a variety of secondary metabolites of significant biotechnological value. On the other hand, the purpose of this work was part of the research and investigation of actinomycetes capable of synthesizing antibacterial substances.

Our choice fell on the bibliographic study of actinobacteria, because they constitute a natural and attractive source of various bioactive molecules such as antibiotics, antifungal and antioxidants. 15 scientific articles were analyzed which relate to the isolation of actinomycetes in different environmental settings. We have spoken in this work of several essential points, starting with the nature of the samples, and the selective isolation approaches of actinobacteria (selective inhibition and nutritional selection), the methods of screening the antimicrobial activities of actinobacteria and ending with a discussion of the most commonly used fermentation and extraction techniques. It has been found that casein agar medium with starch is the most used in the isolation of actinobacteria. Of which starch represents the most used carbon source in selective isolation media with 23%, the same for casein which occupies 29% of the nitrogen sources used. The NaCl concentrations used vary depending on the physicochemical conditions of the sample and the genus isolated. The cross-streak technique gave a higher percentage of active isolates for the evaluation of antimicrobial activity.

**Keywords:** Actinobacteria, Antibiotics, antifungals, antioxidants, isolation, fermentation, screening, extraction, antimicrobial activity.

## ملخص

تاريخياً، حظيت الفطريات الشعاعية باهتمام كبير بسبب قدرتها على إنتاج مجموعة متنوعة من المستقبلات الثانوية ذات القيمة التكنولوجية الحيوية الهامة. من ناحية أخرى، كان الغرض من هذا العمل جزءاً من البحث والتحقيق في الفطريات الشعاعية القادرة على تصنيع المواد المضادة للبكتيريا. وقع اختيارنا على الدراسة البليوغرافية للبكتيريا الشعاعية، لأنها تشكل مصدرًا طبيعيًا وجزءًا للعديد من الجزيئات النشطة بيولوجيًا مثل المضادات الحيوية ومضادات الفطريات ومضادات الأكسدة. تم تحليل 15 مقالًا علميًا تتعلق بعزل الفطريات الشعاعية في أوساط بيئية مختلفة. لقد تحدثنا في هذا العمل عن عدة نقاط أساسية، بدءًا من طبيعة العينات، ومناهج العزل الانتقائي للبكتيريا الشعاعية (التثبيط الانتقائي والاختيار الغذائي)، وطرق فحص الأنشطة المضادة للميكروبات للبكتيريا الشعاعية وتنتهي بمناقشة حول تقنيات التخمر والاستخراج الأكثر شيوعًا. لقد وجد أن وسط أجار الكازين مع النشا هو الأكثر استخدامًا في عزل البكتيريا الشعاعية. منها النشا يمثل مصدر الكربون الأكثر استخدامًا في وسط العزل الانتقائي بنسبة 23%، ونفس الشيء بالنسبة للكازين الذي يحتل 29% من مصادر النيتروجين المستخدمة. تختلف تراكيز كلوريد الصوديوم المستخدمة تبعًا للظروف الفيزيائية والكيميائية للبيئة والجنس المعزول، حيث أعطت تقنية الخط المتقاطع نسبة أعلى من العزلات النشطة لتقييم الفعالية المضادة للميكروبات.

**الكلمات المفتاحية:** البكتيريا الشعاعية، المضادات الحيوية، مضادات الفطريات، مضادات الأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، العزلة، التخمر، الفحص، الاستخلاص.

# *Introduction générale*



## **Introduction générale:**

Les micro-organismes (bactéries et champignons) ont commencé à être utilisés il y a des années pour fabriquer divers produits tels que le pain, le fromage, etc., en particulier la production d'antibiotiques. Ces micro-organismes sont partout dans notre environnement (le sol, l'air et les eaux) et ils occupent une place de plus en plus importante au sein de notre vie quotidienne de plus, ces derniers sont de remarquables agents de production de nombreuses molécules organiques obtenues par fermentation et utilisées pour leurs propriétés fonctionnelles dans des domaines extrêmement variés. Parmi ces molécules, on peut citer les alcools, les acides organiques, les acides aminés, les polysaccharides, les vitamines, les enzymes, les antibiotiques, les bactériocines, etc (**Smaoui, 2010**).

Malgré ce côté très bénéfique des microorganismes, certains d'entre eux causent des problèmes majeurs pour l'humanité. Il s'agit de bactéries, de levures unicellulaires et de champignons filamenteux pathogènes pour l'homme. A ce propos, actuellement on assiste à un problème très épineux qui est la résistance de ces microorganismes pathogènes aux molécules antibactériennes et antifongiques communément utilisées (**Smaoui 2010**). Les maladies infectieuses représentent la cause majeure de mortalité dans le monde; ce sont les virus, les parasites ou les champignons et touchent des millions de personnes dans le monde (**Alwash et al., 2013**).

L'apparition des souches résistantes aux antibiotiques usuels, l'émergence d'un pouvoir pathogène chez des souches habituellement saprophytes de notre environnement et les immunodépressions causées par l'infection à VIH sont les principaux facteurs de la forte recrudescence de ces maladies (**Bagre et al., 2007**). Deux solutions de base peuvent être utilisées pour surmonter ce problème ; de mieux utiliser les antibiotiques et réduire leur consommation d'une part, et d'autre part, la recherche de nouvelles molécules biologiquement actives (**Strub et al., 2008**). On estime que les actinobactéries peuvent être considérés comme la source d'un tiers des produits de la biotechnologie microbienne et, à ce titre, ils possèdent le troisième génome bactérien le plus séquencé (**Yun et al., 2017 ; Hamidi et al., 2019**)

Les actinobactéries sont des procaryotes très recherchés en biotechnologie à cause de leur rôle important dans la production des composés bioactifs. Ce groupe de bactéries a fourni un nombre considérable d'enzyme, de composés anti tumoraux, d'agent immunosuppresseurs, d'insecticides, d'antiparasites, d'herbicides, d'antioxydant et surtout d'antibiotique (**Solanki**

*et al., 2008*).

Les actinobactéries ont un métabolisme secondaire bioactif très élevé, produisant ainsi une importante quantité d'antibiotiques d'origine naturelle (**Hoshino *et al.*, 2015b**). Ces molécules sont produites par les actinobactéries pour inhiber la croissance des autres microorganismes concurrents avec lesquels elles sont en compétition dans leur biotope (**OrtizOrtiz *et al.*, 2013**).

Ainsi, L'importance des actinobactéries a été soulignée dans divers domaines ; industriel, médical et vétérinaire, ainsi que dans le domaine de l'agriculture et l'agro-alimentaire (**George *et al.*, 2012Solecka *et al.*, 2012**).

Pour cela, l'objectif principal de cette étude théorique est d'étudier l'activité antimicrobienne des actinobactérie provenant des différents écosystèmes. Ainsi, nous nous sommes intéressés aux :

- Conditions d'isolement des actinobactéries présentes dans ces écosystèmes.
- Techniques de criblage et de mise en évidence des activités antimicrobiennes.
- Procédés de production et d'extraction des substances bioactives.

***Chapitre 01 : généralité sur  
les actinobactéries***

### I. Chapitre01 : Généralité sur les actinobactéries.

#### I.1.L'histoire des actinobactéries :

Les actinobactéries ont été isolés pour la première fois par Cohn en 1875 à partir de sources humaines (**Williams *et al* ; 1984**). C'est, en 1943 que Waksman a pu isoler un genre d'actinobactéries à partir du sol. Ce même auteur divise en quatre grandes périodes, l'histoire des actinobactéries.

- **La première période**, est celle de la découverte de leur rôle dans la pathologie, et va de 1874 aux années 1890.

-**La seconde période** allant de 1900 à 1919 se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinobactéries du sol, avec les travaux de kraisky, de Cohn, de Waksman et de Curtis.

Ensuite, **la période** de 1919 à 1940 au cours de laquelle, une meilleure connaissance des germes a été acquise grâce aux recherches de Waksman, de Lieske, de Krassilinkov.

-**La dernière** époque allant de 1940 à ce jour est celle des antibiotiques produits par les actinobactéries. On peut noter les travaux de Professeur Sabaou Nasser Eddine en Algérie(1980) et ses collaborateurs.

#### I.2.Définition et caractéristique des actinobactéries :

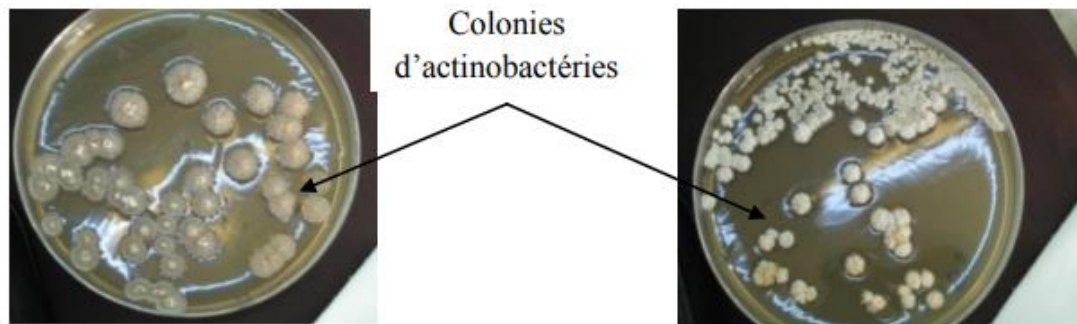
Etymologiquement, le mot Actinomycète a été dérivé des mots grecs «**Aktis**» qui veut dire rayon et «**mykes**» qui veut dire champignon «**Champignons à rayons**» ou «**Champignons rayonnants**» (**Lamari, 2006**). Les actinobactéries ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactérie et champignons. Actuellement, ils sont reconnus comme des organismes procaryotes. Pourtant, ces micro-organismes présentent des similitudes à la fois avec les bactéries et avec les champignons (**Andriambololona, 2010**).

Les actinobactéries sont des microorganismes ubiquitaires que l'on rencontre dans la plupart des niches écologiques. La grande majorité est d'origine tellurique et c'est à partir du sol que ces bactéries peuvent coloniser de nombreux biotopes: air, composts, eaux, fourrages, fumiers, grains de céréales, systèmes d'air climatisé, poussière de maison, foin et pailles, résidus fibreux de canne à sucre, pollen des plantes et bien d'autres substrats (**Boudj *et al.*, 2012**).

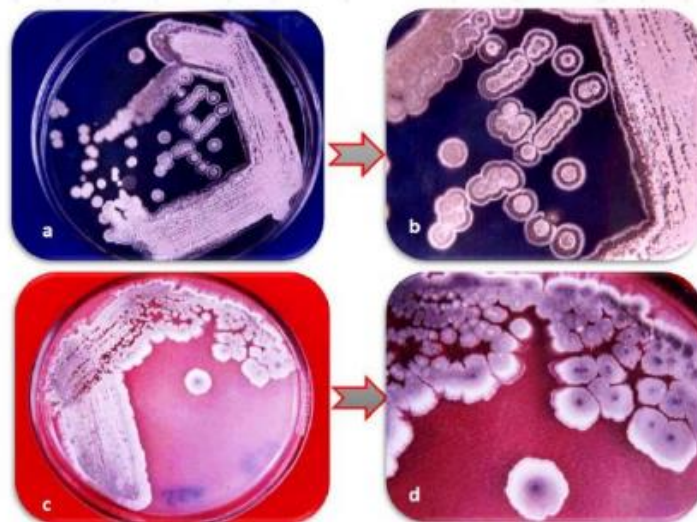
Les actinomycètes, également connus sous le nom des actinobacteria (**Perry *et al.*, 2004**), sont des bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies circulaires et à une morphologie complexe (**Colombié, 2005 ; Eunice et Prosser, 1983**).

Elles sont constituées d'hyphes c'est-à-dire des filaments qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance, (**Gottlieb, 1973 ; Lechevalier et Lechevalier, 1981 ; Eunice et Prosser, 1983**). Les actinobactéries constituent l'ordre des actinomycétales. Ce sont des bactéries saprophytes formant des filaments minces et ramifiés, septées, bacilles à Gram positif (**Dgigal, 2003**); possédant un coefficient de Chargaff (GC%) élevé compris entre 60-70% (**Larpen, 1989**). La plupart des espèces sont immobiles, hétérotrophes mais certaines sont chimio-autotrophes (**Ensign *et al.*, 1993**), aérobies, mésophiles et poussent de façon optimale dans une gamme de pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité (**Williams et Wellington, 1982 a ; Goodfellow et Williams, 1983**).

Les actinomycètes sont constitués d'un groupe de micro-organismes unicellulaires ramifiés, dont la plupart sont aérobies formant des mycéliums connus sous le nom mycélium desubstrat et aérien. Ils se reproduisent par fission binaire ou par production de spores ou de conidies. La sporulation des actinobactéries se fait à travers la fragmentation et la segmentation ou bien la formation de conidies. L'apparence morphologique des actinobactéries est compacte, souvent coriace, donnant un aspect conique avec une surface sèche sur les milieux de culture et souvent couverte par le mycélium aérien (**Figure 01 et 02**).



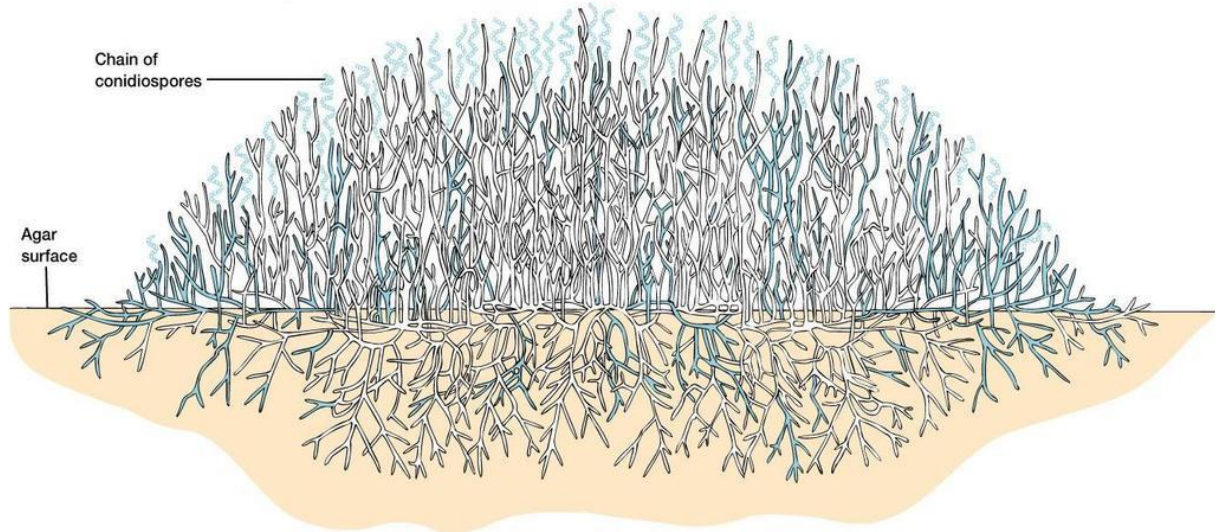
**Figure 01** : Aspect macroscopique des colonies d'actinobactéries sur milieu ISP2 à 30 °C pendant 7 jours. (Photo. HARIR H., Mars 2014. LBMB. Algérie)



**Figure 02** : Actinobactéries isolées sur milieu amidon caséine agar après incubation à 30 C /14 jours (a, c : Photos des boîtes de Pétri des isolats d'actinobacteries). (B, d : Morphologie des colonies individuelles) (Ananda, 2016).

Les actinobactéries sont caractérisées par la formation d'un réseau ramifié d'hyphe sur un substrat solide, ce réseau se développe à la fois à la surface du substrat et à l'intérieur de ce dernier pour former un mycélium végétatif et appelé aussi le mycélium du substrat ou mycélium primaire (Figure3) (Prescott *et al.*, 2003).

Ainsi, lorsque le mycélium du substrat se développe vers la partie superficielle, il donne lieu au mycélium aérien, les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores, qui sont des agents de dissémination (Smaoui, 2010).



**Figure 03 :** Coupe transversale d'une colonie d'actinobactéries avec des hyphes vivant (bleu et vert) et morts (blanc) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores (Prescott, 2003).

### I.3.Habitat et ecologie des actinobactéries (le sol, l'air, l'eau) :

Dans la nature les actinobactéries jouent un rôle très important dans les procédés de recyclage des nutriments et aussi dans la dégradation des composés cénobitiques (Moura *et al.*, 2021). Elles sont présentes dans des sols polaires, dans les sols désertiques chauds et secs dans le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec des métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés, dans les gastro-intestinal des animaux commensalismes avec les plantes (Van Bergeijk *et al.*, 2020).

**Tableau 01 :** Habitats de certains actinobactéries (Grigorova et Norris, 1990).

Genre	Habitat
<i>Actinomadura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau, litière
<i>Frankia</i>	Nodules des racines
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, eau
<i>Nocardia</i>	Sol, eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier, litière
<i>Saccharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière

<i>Streptosporangium</i> <i>Thermomonospora</i>	Sol Matière en décomposition et fermentation
--	---

### I.3.1. Environnement terrestres :

Le sol demeure l'habitat le plus important pour les actinobactéries dont les streptomycètes existant en tant que composante majeure de leur population. Selon de nombreux rapports, les espèces du genre *Streptomyces* ont été signalées pour être les plus abondants et les plus isolées dans chaque étude. Les actinobactéries terrestres présentent divers potentiels antimicrobiens intéressants (Oskay AM, *et al.*, 2005). Ces actinobactéries isolées avaient la capacité de produire de nouveaux antibiotiques à forte activité antibactérienne. Dans la rhizosphère de mangrove anoxique, les espèces d'actinobactéries telles que *Streptomyces*, *Micromonospora* et *Nocardioform* ont été les plus abondantes (Tan, *et al.*, 2009).

Le sol de désert est également considéré comme un environnement terrestre extrême où seules certaines espèces, en particulier les actinobactéries, utilisent souvent une espèce de cyanobactéries, le *Microcoleus chthonopastes* comme source de nutriment. D'ailleurs il existe plusieurs rapports montrant la distribution des actinobactéries dans divers endroits, tels que le sol sablonneux, le sol alcalin noir, le sol limoneux sablonneux, le sol de désert alcalin et le sol de désert subtropical.

Les actinobactéries jouent également un rôle majeur au sein de la communauté microbienne de la rhizosphère, dans le renouvellement de la matière organique végétale et par conséquent, la zone rhizosphérique est considérée comme l'une des meilleurs habitats pour l'isolement de ces microorganismes.

### I.3.2. Les actinomycètes dans les milieux aquatiques :

#### I.3.2.1. Dans les eaux douces :

Parmi les genres les plus fréquents dans les eaux douces, on trouve *actino planes*, *micromonospora*, *nocardia*, *rhodococcus*, *streptomyces* et *thermo actinomyces*. Cette fréquence est plus élevée dans les ruisseaux et les rivières que dans les lacs et les réservoirs (Silini, 2012). L'adaptation des *streptomyces* disséminées dans les eaux douces est assurée

par la formation des spores résistantes caractérisées soit par une psychrophilie, soit par une halophilie ou par une tolérance (Aouar, 2006).

### I.3.2.2. Dans les eaux marines :

Relativement aux habitats terrestres et aux eaux douces, les actinobactéries sont moins nombreux dans les eaux marines. Parmi plusieurs genres qui ont été isolés de ces eaux, on peut citer *streptomyces*, *microbispora*, *micropolyspora*, *nocardia*, *streptoverticillium*, *thermoactinomyces*... Certains prédominent dans les eaux plus profondes tel que *streptomyces* bien que d'autres sont les plus nombreux dans les sédiments profonds tel que *micromonospora* (Silini, 2012).

### I.3.3. l'air :

L'air n'est pas un habitat pour les actinobactéries, mais un moyen de transport. Les spores des actinobactéries sont des contaminants importants de notre environnement. Les spores de certains actinobactéries se développent dans des matériaux détériorés et lorsqu'elles sont inhalées provoquant des maladies respiratoires (*nocardiose pulmonaire*). Les spores d'actinobactéries thermophiles sont produites en une grande quantité et sont facilement mises en suspension dans l'air (Mazodier, 1974).

### I.3.4. Les Composts :

Des actinobactéries sont isolés des composts, il s'agit de genres thermophiles tels que *Thermoactinomyces*, *Sacharomonospora* et d'autres thermo tolérants tels que *Microbispora*, *icropolyspora*, *Pseudonocardia* (Ensign *et al.*, 1993 ; Lacey, 1997 ; Song *et al.*, 2001). Les actinobactéries sont actives dans les derniers stades du compostage. Ils se sont spécialisés dans l'attaque des structures plus résistantes comme la cellulose, la Kératine, l'hémicellulose et la lignine (Zermane, 2007).

### I.3.5. Les végétaux, les animaux et l'homme :

Dans une distribution normale des actinobactéries, il faut ajouter les végétaux, les animaux et l'homme. Parmi les exemples les mieux connus, il faut citer : *streptomyces scabies*, *actinomyces bovis*, *mycobacterium tuberculosis*, *mycobacterium leprae*, *nocardiaasteroides* et *micropoly sporafaeni* (Zermane, 2007). *actinomyces massiliensis* sp. nov isolée du sang d'un patient (Renvoise *et al.*, 2009), *actinomyces timonensis* sp. nov. isolée d'un patient qui atteint un osteo-articulation (Renvoise *et al.*, 2010).

#### I.4. Taxonomie des actinobactéries :

La taxonomie des actinobactéries a évolué de manière significative avec le temps avec l'accumulation de connaissances. La classification et la taxonomie des actinobactéries étaient principalement basées sur des critères phénotypiques dans lesquels les caractéristiques morphologiques, chimiques et physiologiques ont été étudiées. La morphologie de colonie, la chaîne des spores, la couleur du mycélium substrat et du mycélium aérien, les pigments diffusibles sont encore des facteurs importants dans la différenciation des genres mais ne fournissent pas d'informations adéquates pour la classification de ce phylum (Mohammadipanah et Dehhaghi, 2017).

Les actinobactéries sont des bactéries aérobies à Gram positives caractérisées par un génome à forte teneur en G + C. Actuellement, selon le Bergey's manual 2007, le phylum actinobacteria englobe 06 classes, 23 ordres, 53 familles et 222 genres (Ruan, 2013) (Tableau 2) les genres de ce phylum présentent une énorme diversité en termes de morphologie, de physiologie et de capacités métaboliques.

**Tableau 02 :** Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries (Goodfellow et al., 2012).

Classes	Orders	Familles
	<i>Actinomycetales</i>	<i>Actinomycetaceae</i>
	<i>Actinopolysporales</i>	<i>Actinopolysporaceae</i>
	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>
	<i>Catenulisporales</i>	<i>Catenulisporaceae, Actinospicaceae</i>
	<i>Corynebacteriales</i>	<i>Corynebacteriaceae, Dietziaceae, Mycobacteriaceae, Nocardiaceae, Segniliparaceae, Tsukamerullaceae</i>
	<i>Frankiales</i>	<i>Frankiaceae, Acidothermaceae, Cryptosporangiaceae, Geodermatophilaceae, Nokamurellaceae</i>
	<i>Glycomycetales</i>	<i>Glycomycetaceae</i>
	<i>Jiangellales</i>	<i>Jiangellaceae</i>
	<i>Kineosporales</i>	<i>Kineosporaceae</i>
		<i>Micrococcaceae, Beutenbergiaceae, Bogoriellaceae, Brevibacteriaceae,</i>

<i>Actinobacteria</i>	<i>Micrococcales</i>	<i>Cellulomonadaceae, Dermabacteriaceae, Dermacoccaceae, Dermatophilaceae, Intrasporangiaceae, Jonesiaceae, Micobacteriaceae</i>
	<i>Micromonosporales</i>	<i>Micromonosporaceae</i>
	<i>Propionibacteriales</i>	<i>Propionibacteriaceae, Nocardidoidaceae</i>
	<i>Pseudonocardiales</i>	<i>Pseudonocardaceae</i>
	<i>Streptomycetales</i>	<i>Streptomycetaceae</i>
	<i>Streptosporangiales</i>	<i>Streptosporangiaceae, Nocardiopticaceae, Thermomonosporaceae</i>
<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	<i>Actinomicrobiaceae</i>
<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Nitriliruptorales</i>	<i>Nitriliruptoraceae</i>
	<i>Euzebyales</i>	<i>Euzebyaceae</i>
<i>Rubrobacteria</i>	<i>Rubrobacterales</i>	<i>Rubrobacteraceae</i>
<i>Thermophilia</i>	<i>Thermophilales</i>	<i>Thermophilaceae</i>
	<i>Solirubrobacterales</i>	<i>Solirubrobacteraceae, Conexibacteraceae, Patulibacteraceae</i>

#### **I.4.1. Caractéristique morphologiques des actinobactéries :**

Les critères morphologiques font appel aux caractéristiques culturales sur différents milieux de culture et aux caractéristiques microscopiques morphologiques (**Shirling et Gottlieb, 1966**).

##### **I.4.1.1. Caractéristiques culturales ou macromorphologiques :**

D'après Bouras (2006) et Boudjella *et al.*, (2007), les caractères culturaux contribuent parfois dans la différenciation des genres d'actinomycètes entre eux. Parmi les caractères culturaux importants :

-La production d'un mycélium aérien (MA) (cas de nombreux genres) ou non (ex :

*Actinoplanes, Micromonospora et Rhodococcus*).

-La présence ou non de mycélium de substrat (MS).

-La couleur du MA et du MS, la couleur exacte peut être définie à l'aide d'une charte de couleur.

- La production et la couleur des pigments diffusibles dans le milieu de culture.

-Les couleurs sont souvent déterminées grâce à l'utilisation de chartes de couleurs.

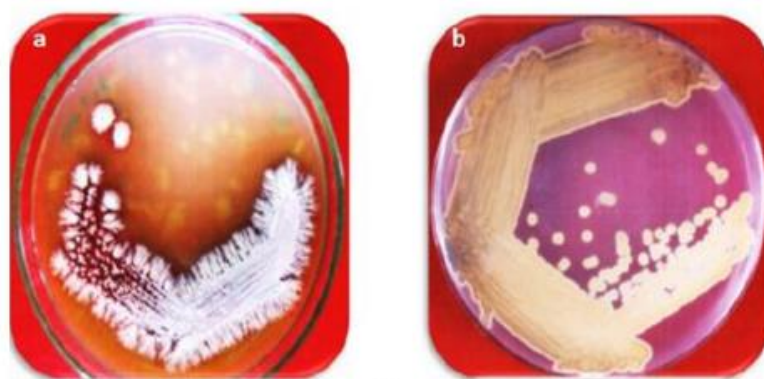
A travers cela, nous trouvons deux types de Mycélium : **a/ Mycélium aérien,**  
**b/Mycélium de Substrat.**

### **a/ Mycélium aérien :**

Le mycélium aérien est habituellement plus épais que le mycélium du substrat. Il montre une différenciation suffisante selon laquelle plusieurs isolats peuvent être séparés en un certain nombre de groupes ayant des caractéristiques morphologiques similaires dans des conditions bien précise. Ceci est désigné comme l'un des critères les plus importants pour la classification du genre *Streptomyces* en espèces, comprenant une structure (cotonnière, veloutée ou en poudre), une formation d'anneaux ou de zones concentriques et de pigmentation (**Figure 04 a**) (**Anandan, 2016**).

### **b/ Mycélium de Substrat :**

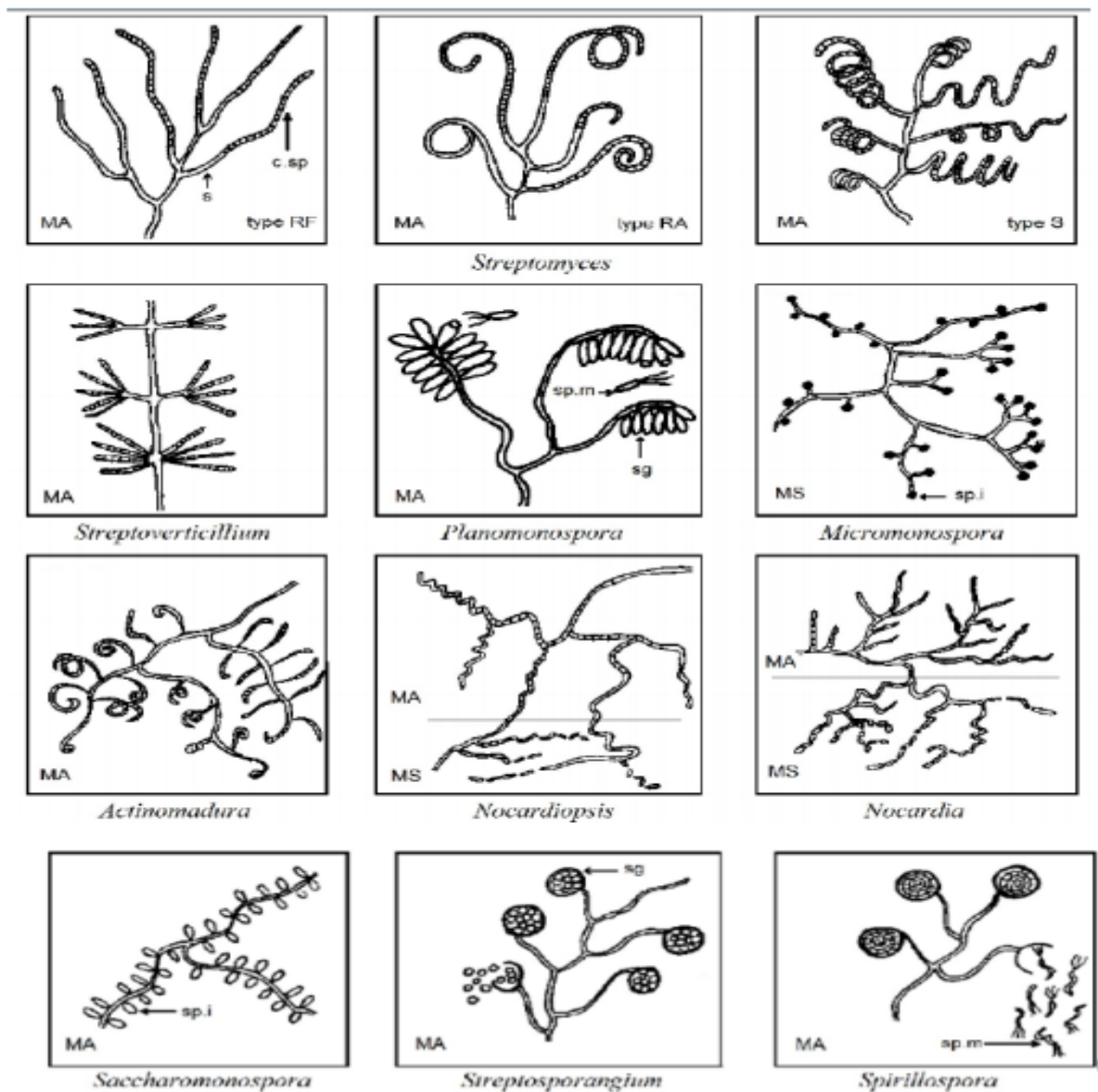
Le mycélium de substrat d'actinobactéries a différentes tailles, formes et épaisseurs. Sa couleur varie de blanc ou pratiquement incolore à jaune, marron, rouge, rose, orange, vert ou noir (**Figure 04 b**) (**Anandan, 2016**).



**Figure 04 :** Croissance d'un isolat d'actinobactérie sur milieu agar de caséine et amidon. .a. mycélium aérien. b. mycélium de substrat (**Anandan, 2016**).

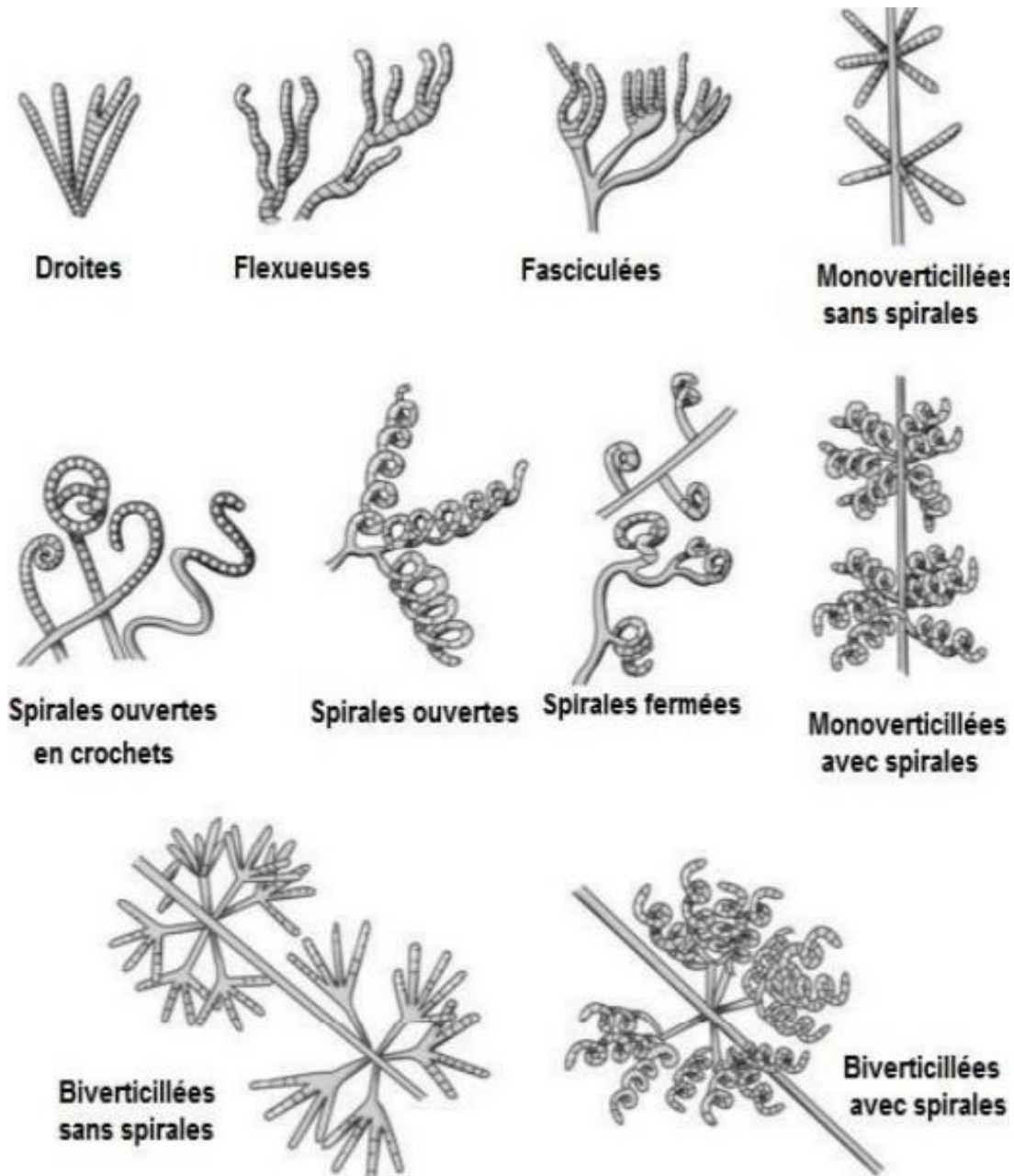
**I.4.1.2.Caractéristiques micro-morphologiques :**

Les critères micro morphologiques importants selon (Bouras, 2006) et (Boudjella, 2007) Sont : la fragmentation ou non du Mycélium, la formation de spores ; leur formes ; leur surface (lisse ou rugueuse épineuse ou chevelue) :(Figure 5 et 6 et 7) leur mobilité, la présence de sporophores, La formation d'endospores (*Thermoactinomyces*) ou la présence de structures particulières comme les sporanges, les sclérotes ou *synnemata* (*Actinosynnema*) (Demain et Solomon, 1985 ; Nouredine., 2006 ;Boudjella, *et al.*, 2007).

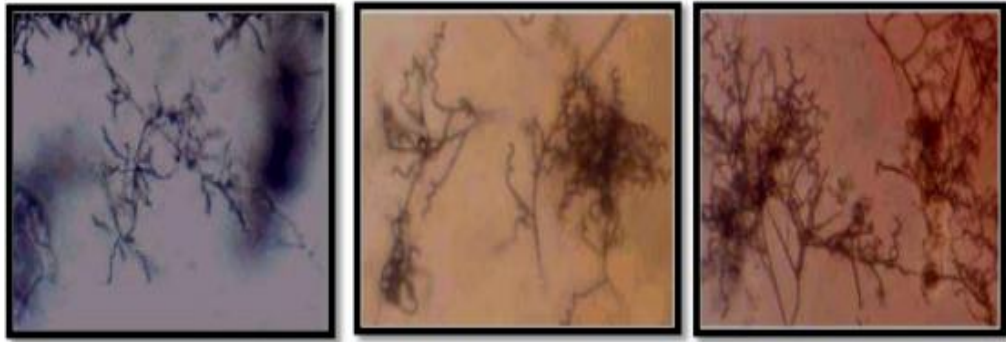


**Figure 05 :** Micromorphologie des principaux genres d'actinobactéries (Sabaou, 1988).MA, mycélium aérien; MS, mycélium du substrat; RF, Rectus Flexibilis (chaines de spores droites à flexueuses); RA, Retinaculum Apertum (chaîne en crochets ou en boucles);

S, Spira (chaînes spiralées); S, sporiphore; c.sp., chaînes de spores; sp.i., spores isolées; sp.m., spores mobiles; sg, sporanges.



**Figure 06** : Types de chaînes de spores rencontrés chez les espèces de *Streptomyces* (Goodfellow *et al.*, 2012 in Bergey's Manuel, 2012).



**Figure 07** : Mycélium du substrat avec des chaînes de spores de *Streptomyces* sur le milieu Amidon-Caséine incubée à 32°C /7 jours (Srivibool et Sukchotiratana, 2004).

#### **I.4.2. Caractéristique Chimiotaxonomique :**

La composition de la paroi des actinomycètes varie fortement d'un groupe à l'autre. On lui attribue une importance taxinomique considérable. On peut distinguer quatre types principaux de paroi sur la base de trois caractéristiques de la composition et de la structure du peptidoglycane: l'acide aminé en position 3 du tétra peptide, la présence de glycine dans les ponts inter peptidiques et le contenu en sucre du peptidoglycane (Prescott *et al.*, 2003 ; Sharma, 2014).

##### **a/ Les acides aminés :**

Les plus importants sont l'acide diaminopimélique (DAP) qui peut être sous forme isométrique LL ou DL (méso) et la glycine qui, soit présente ou absente.

Cependant, chez quelques actinobactéries, le DAP peut être remplacé par la lysine l'Ornithine ou l'acide diaminobutyrique, (Becker *et al.*, 1965), ce qui définit plusieurs types pariétaux. Exemple : type I (LL DAP + Glycine). Actuellement plusieurs techniques ont pris naissance permettant ainsi une meilleure séparation à l'instar du couplage chromatographie/spectroscopie de masse (Nozawa *et al.*, 2007).

##### **b/ Les sucres :**

Les sucres caractéristiques sont principalement les couples arabinose-galactose, arabinose-xylose, rhamnose-galactose, ainsi que le madurose ou 3-0- méthyle galactose (Lechevalier et Lechevalier., 1970). Sur la base de la composition des cellules en acides aminés et en sucres, plusieurs chimio types ont ainsi été définis.

##### **c/ Les lipides :**

Les lipides taxonomiquement importants peuvent être répartis en trois groupes : les lipides contenant une partie polaire, les *ménaquinones* et les acides *mycoliques* (**Lechevalier et Lechevalier, 1970; Collin et al., 1980**). La caractérisation des lipides est particulièrement informative pour la mise en évidence du genre *Mycobacterium*, qui présente une paroi particulière riche en acides *mycoliques*.

### I.4.3. Caractéristique moléculaire :

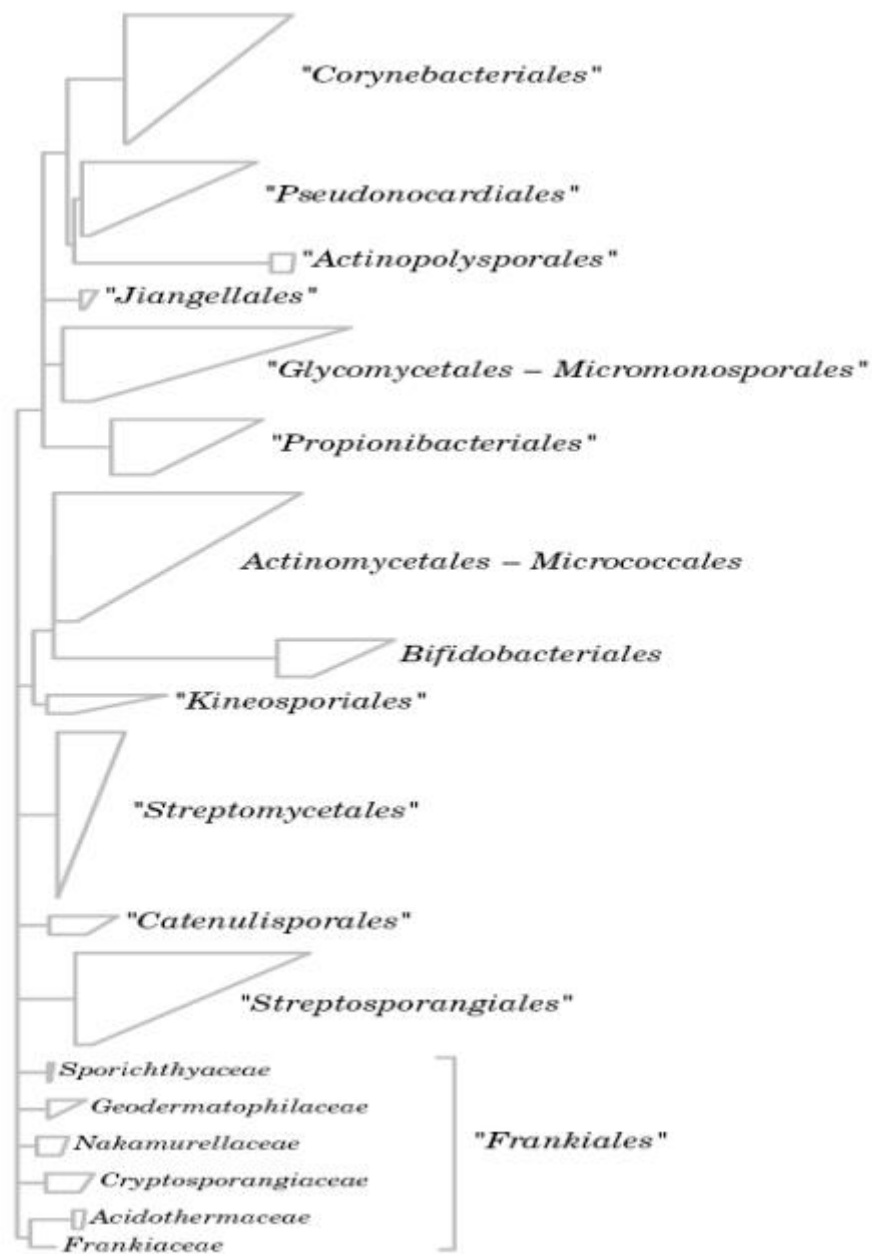
Ces dernières décennies, la biologie moléculaire s'est imposée comme un outil puissant et incontournable en taxonomie. Les principales analyses moléculaires utilisées dans la taxonomie des actinomycètes pour la détermination des espèces sont le séquençage de l'ADN ribosomique 16S, l'hybridation ADN-ADN (**Wayne et al., 1987**) et la détermination du pourcentage de G+C qui n'est obligatoirement demandé que lors d'une proposition de création de nouveaux genres. Ces critères ont permis de tracer toute la phylogénie des actinomycètes (**Loqman, 2009**).

#### a/Coefficient de Chargaff ou GC%

Les actinobactéries sont définies par un taux élevé en G+C, supérieur à 55%. Ce taux a permis de différencier la lignée des actinobactéries de celle des *Bacillaceae*, des *Lactobacillaceae* et d'autres bactéries à Gram positif (G+C inférieur à 55%). Des bactéries nonmycéliennes telles que *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter* et même *Micrococcus*, sont considérés comme faisant partie de la lignée phylogénétique des actinobactéries (**Tableau03**). Dans le manuel de Bergey de 2012, en tenant compte de la phylogénie et des signatures des nucléotides, l'ordre des *actinomycetales* a été scindé en plusieurs ordres (**Bergey's Manual, 2012**), (**Figure 08**).

**Tableau03 :** Valeurs du coefficient de Chargaff pour les différents genres d'actinobactéries (**Jacque, 1985**).

Genre	GC%
<i>Mycobacterium</i>	64 à 70
<i>Actinomyces</i>	63 à 73
<i>Nocardia</i>	67 à 69,4
<i>Streptomyces</i>	69 à 76
<i>Micromonospora</i>	71,4 à 72,8
<i>Actinoplanes</i>	70,6 à 76



**Figure 08** : Ordres de classe d'actinobactérie basée sur l'analyse des séquences ADNr 16S

(Good fellow *et al.*, 2012 in Bergey's Manual, 2012).

### **b/Séquençage de l'ADN ribosomique 16S :**

Le séquençage de l'ADNr 16S constitue un outil très rapide pour l'identification des taxa. L'étude de l'ARN ribosomique 16S, et la PCR sont des techniques moléculaires récentes, pas seulement pour les actinobactéries, avec le nombre croissant des nouvelles espèces émergentes, et dans le besoin urgent de les classifier, l'étude de la séquence de l'ADNr 16S, sa comparaison après alignement avec celles déjà connues et la construction d'un arbre qui met en évidence la distance phylogénétique entre les espèces s'avère être une technique plus rapide et plus fiables (**Prescott *et al.*, 2010**).

### **c/Hybridation ADN/ADN :**

La détection des génomes similaires avec les techniques d'hybridation ADN-ADN des souches les plus proches avec celle étudiée se basant sur la complémentarité de leur séquences, un pourcentage élevé ou égale à 97% considère deux souches comme appartenant à la même espèce (**Madigan *et al.*, 2011**).

### **I.4.4. Caractéristique physiologiques et taxonomie numérique des actinobactéries :**

En plus des caractères morphologiques, la détermination des espèces se base également sur les caractères physiologiques. Ceux-ci consistent en des tests de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques et protidiques, polymères complexes etc.

D'autres tests interviennent parfois dans la détermination des espèces, comme la résistance à certains agents antimicrobiens et la tolérance à des conditions extrêmes (température, pH, l'activité de l'eau, l'oxygène).

La taxonomie numérique est une méthode de classification développée à la fin des années 1950 qui consiste à utiliser un grand nombre de caractères physiologiques et biochimiques, et permet de définir des pourcentages de similarité entre les organismes grâce à l'utilisation de coefficients (de Jaccard, etc.). Plusieurs groupes ou « cluster » sont ainsi formés suivant les ressemblances des souches définies par un indice de similarité (**Sneath., 1989**).

#### **a/ L'oxygène**

On peut diviser les actinomycètes selon leurs types respiratoires en deux groupes (**Avril *et al.*, 1992**). Les formes fermentatives anaérobies, représentées par le genre type

*actinomyces*, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs, ils font partie de la flore de Veillons.

Les formes oxydatives aérobies, abondantes dans la nature en particulier dans le sol

### **b/ Le pH**

Pour le pH, la plupart des actinobactéries se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8 mais on peut observer une croissance à des valeurs de pH inférieurs à 4 (McKinney, 2004), telle est le cas pour les souches acidophiles comme le genre *Streptacidiphilus* (Wang *et al.*, 2006).

### **c/ La température**

La température optimale de croissance est entre 25 à 30°C, mais les espèces thermophiles peuvent croître à des températures entre 55 et 65°C (Rangaswami *et al.*, 2004).

### **d/ L'activité de l'eau**

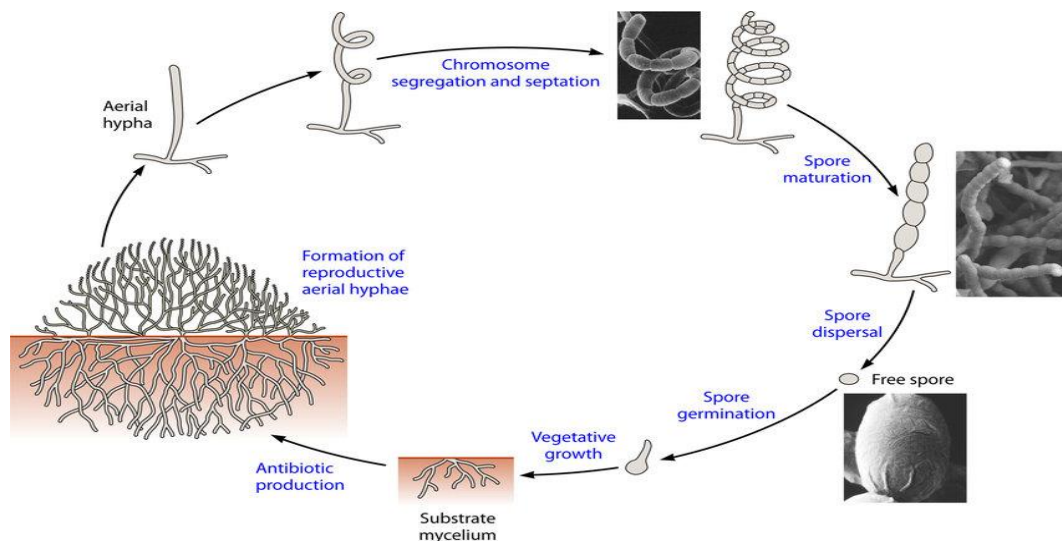
La germination des spores de la plupart des actinobactéries peut être observée à des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0.67, l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est égal à 0,98 (Zvyagintsev *et al.*, 2005).

## **I.5. Cycle de développement des actinobactéries :**

Tout comme les eucaryotes pluricellulaires, les actinomycètes possèdent un cycle de vie complexe et implique caractérisé par différents stades de croissance dont les caractéristiques sont propres à chaque espèce, ce qui amène une grande diversité morphologique (**Figure 09 un exemple de type : *Streptomyces sp***) qui est le résultat de trois processus physiologiques majeurs : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire puis la mort (Danilenko *et al.*, 2005). Les actinobactéries présentent un cycle biologique semblable à celui de certains champignons, mais leur structure procaryotique sans noyau distinct, les a classés parmi les bactéries. Sur un milieu solide, le cycle commence par la germination d'une spore qui donne lieu à un mycélium végétatif formé d'hyphes multi-nucléoïde, ramifiés et ancrés dans le milieu solide. Un mycélium aérien se développe sur ce mycélium végétatif, en utilisant ce dernier comme substrat. En effet, le mycélium végétatif s'autolyse et les produits de la lyse sont cannibalisés par le mycélium aérien (Miguélez *et al.*, 1999). La croissance des hyphes est apicale (se fait par le sommet) (Flårdh, 2010) et

s'accompagne de la formation de septa, conduisant à des unités uni-génomiques. Les cellules se différencient ensuite pour former des spores. Si les spores sont localisées dans des sporanges, on les appelle des sporangiospores.

Généralement ces spores ne sont pas résistantes à la chaleur, mais résistent bien à la dessiccation et ont de ce fait une importante valeur adaptative, les actinobactéries sont immobiles, excepté pour les spores de certains genres (*Actinoplan*, *Spirillospora*...etc.) (**Prescott et al., 2007**).



**Figure 09** : Cycle de croissance en milieu solide de *Streptomyces* (**Barka et al., 2016**).

### I.6. Métabolisme des actinobactéries :

En général, les actinobactéries sont des bactéries chimio organotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les biopolymères complexes (chitine, cellulose, lignine). Mais de nombreuses espèces sont également capables de croissance auto chimique en utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le dioxyde de carbone comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**).

Les métabolismes des actinobactéries peut être divisé en deux parties : le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire (**Strub, 2008**). Leurs propriétés sont différentes en fonction de la phase au cours de laquelle ils sont synthétisés (**Delaunay et al., 2003**).

**-Les métabolites primaires** : sont des substances produites par de microorganisme en période de croissance active. Lorsque des microorganismes sont mis en culture, ils entrent rapidement en phase de croissance (**Bill, 2007**).

**-Les métabolites secondaires** : obtenus à partir des actinobactéries constituent une source potentielle de nombreux nouveaux composés ayant des propriétés antibactériennes, anti tumorales, antifongiques, antivirales, antiparasitaires et autres. La majorité de ces composés sont largement utilisés comme médicaments pour combattre les souches de bactéries à Gram positif et à Gram-négatif multi résistantes. Les membres du genre *Streptomyces* sont des producteurs de métabolites secondaires les plus connus. Les actinobactéries ont été isolés des sols terrestres, de la rhizosphère des racines des plantes et, depuis peu, des sédiments marins. Plusieurs études ont démontré la diversité des métabolites secondaires produits par les souches d'actinobactéries en ce qui concerne leur structure chimique, leur activité biologique et leur origine. Sur la base de cette diversité, cette étude conclut que la découverte de nouveaux composés bioactifs continuera à poser un grand défi aux scientifiques (**Solecka et al., 2012**).

La production de métabolites secondaires par voie microbienne est généralement influencée et connecté au métabolisme primaire, il existe des métabolites intermédiaires issus du métabolisme primaire qui servent de précurseurs pour la biosynthèse de ces métabolites secondaires. Aussi, la variation des conditions de cultures affectent les capacités métaboliques de l'organisme et la nature des métabolites secondaires produites (**Benouagueni, 2015**).

De plus, *Streptomyces* est la source la plus importante de métabolites secondaires présentant une activité biologique d'intérêt pour la santé humaine et animale : antibactérienne (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol), antifongique (nystatine), antivirale (tunicamycine), antiparasitaire (ivermectine), immunosuppressive (rapamycine), antitumorale (actinomycine, mitomycine C, anthracycline) et des inhibiteur d'enzyme (acide clavulanique) (**Demain, 2000**). En particulier, ce genre est remarquable pour le nombre et la diversité chimique des antibiotiques qu'il produit (**Watve et al., 2001**). (**Figure 10**) et résume les différentes molécules bioactives produites par les actinomycètes.

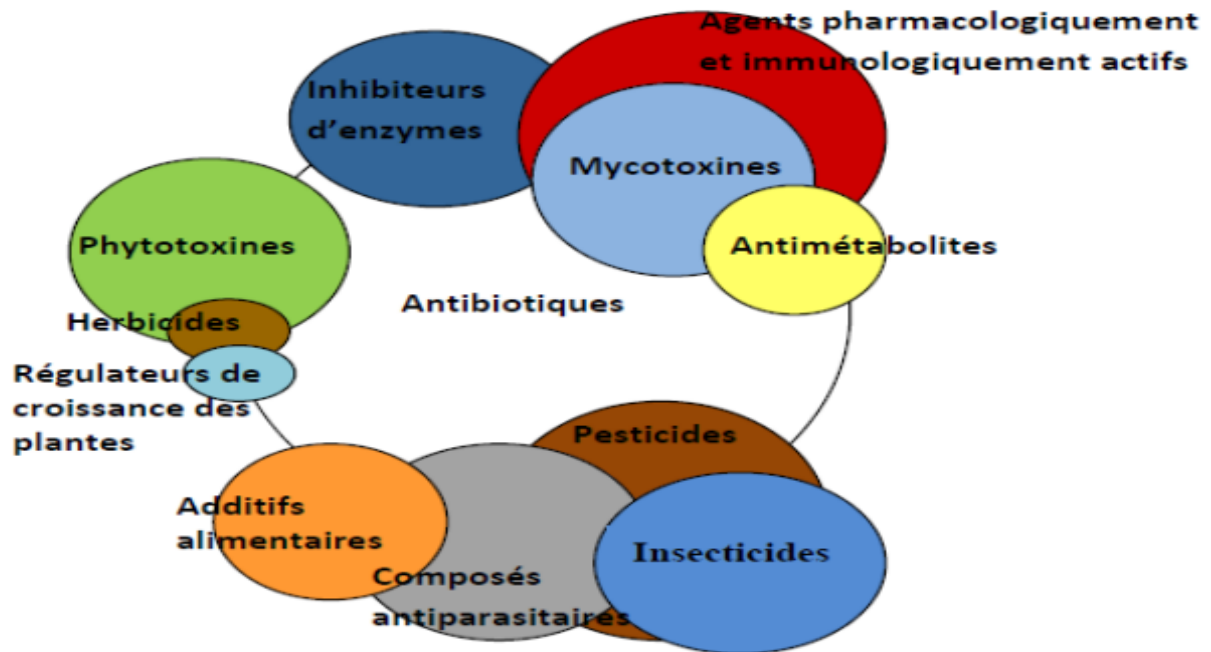


Figure10: Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes (Conn, 2005).

## I.7. Importance des actinobactéries :

La principale raison derrière l'engouement pour les actinobactéries vient du fait qu'ils possèdent des rôles importants dans le sol et dans les interactions avec les plantes, (Conn, 2005), mais également pour la synthèse de nombreux métabolites d'intérêt biotechnologique.

Il a été estimé que sur 16500 antibiotiques connus, 8700 (53%) sont produits par les actinobactéries dont 6550 (40%) par des espèces de *Streptomyces* (Choulet, 2006). En plus de la production d'antibiotiques, les actinobactéries produisent un grand nombre d'autres métabolites secondaires dotés d'une large gamme d'activités, tels que des inhibiteurs d'enzymes, immunosuppresseurs, toxines et pesticides (Dairi, 2005 ; Pizzul, 2006).

### I.7.1. Dans les domaines médical, vétérinaire et industriel :

Les *streptomyces* produisent 70 à 80% des substances bioactives naturelles connues à application pharmaceutique ou agrochimique (Berdy., 2005 ; Manteca *et al.*, 2008). Continuellement de nouveaux métabolites à différentes activités biologiques sont isolées des souches *streptomyces* (Getha *et al.*, 2005 ; Kang *et al.*, 2010).

Le premier et les plus importants métabolites produit des *streptomyces* est les antibiotiques (Watveet *al.*, 2001). De plus, *streptomyces* est la source la plus importante de métabolites secondaires présentant une activité biologique d'intérêt pour la santé humaine et animale: antibactérienne (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol), antifongique

## Chapitre 01 : Généralité sur les actinobactéries

---

(nystatine), antivirale (tunicamycine), antiparasitaire (ivermectine), immunosuppressive (rapamycine), antitumorale (actinomycine, mitomycine C, anthracyclines), inhibiteur d'enzyme (acide clavulanique) (Demain., 2000). En particulier, ce genre est remarquable pour le nombre et la diversité chimique des antibiotiques qu'il produit (Watve *et al.*, 2001).

Les cellulases sont utilisées en industrie pharmaceutique dans des formules médicamenteuses à vocation d'aide digestive. Une production significative de ces enzymes est orientée vers trois marchés principaux : l'industrie alimentaire où les cellulases sont utilisées pour faciliter la filtration des diverses suspensions riches en fibre cellulosique, l'industrie textile où elles sont utilisées pour le traitement des toiles de coton et dans la fabrication de pâte à papier ou l'addition de cellulase aux suspensions de pates en cours de lavage et surtout aux suspensions de pates de recyclage améliore significativement leur filtrabilité et conduit à des économies importantes de consommation d'eau (Scriban, 1993).

**Tableau 04 :** Importance médicale de certains antibiotiques produits par le genre *streptomyces* (Chater, 2006).

<b>Organisme ou maladie ciblée</b>	<b>Antibiotique</b>	<b>Organisme producteur</b>
<i>Typhoïde</i>	Chloramphénicol	<i>Streptomyces venezuelae</i>
<i>Tuberculose et Lèpre</i>	Rifampicine	<i>Amycolatopsis Streptomyces mediteranei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> Méthicilline résistant(ARM)	Vancomycine	<i>Amycolatopsis Streptomyces orientalis</i>
Cancer	Daunomycine	<i>Streptomyces coeruleorubidus</i>
Pathogènes résistants à la pénicilline	Acide clavulérique	<i>Streptomyces clavuligerus</i>

### **I.7.2. Dans le domaine agronomique :**

Dans la nature, les actinomycètes jouent un rôle important dans le cycle des composés organiques et ont été associés avec la production de la matière organique du sol, y compris la production des pigments noirs appelés mélanine, qui sont liés au sol acide humique (**Silva et al., 2013**), et la production d'un mélange de composés tels que l'acide acétique, l'acétaldéhyde, l'alcool éthylique, l'alcool iso butylique et l'ammoniaque (**Gerber et Lechevalier, 1965; Gottlieb, 1973**). Aussi, les espèces du genre *Streptomyces* produisent en outre un composé gazeux caractéristique, appelé la géosmine, qui donne à la terre fraîche son odeur distinctive de moisi (**Tortora, 2003**).

Les actinomycètes sont capables de dégrader les résidus organiques tenaces tels que la lignocellulose et la chitine, et contribue donc à la fertilisation du sol. Les actinomycètes sont utilisés pour la lutte biologique en raison de leurs propriétés antagonistes protège certaines plantes des maladies fongiques et bactériennes (**Bouali et al., 2017**).

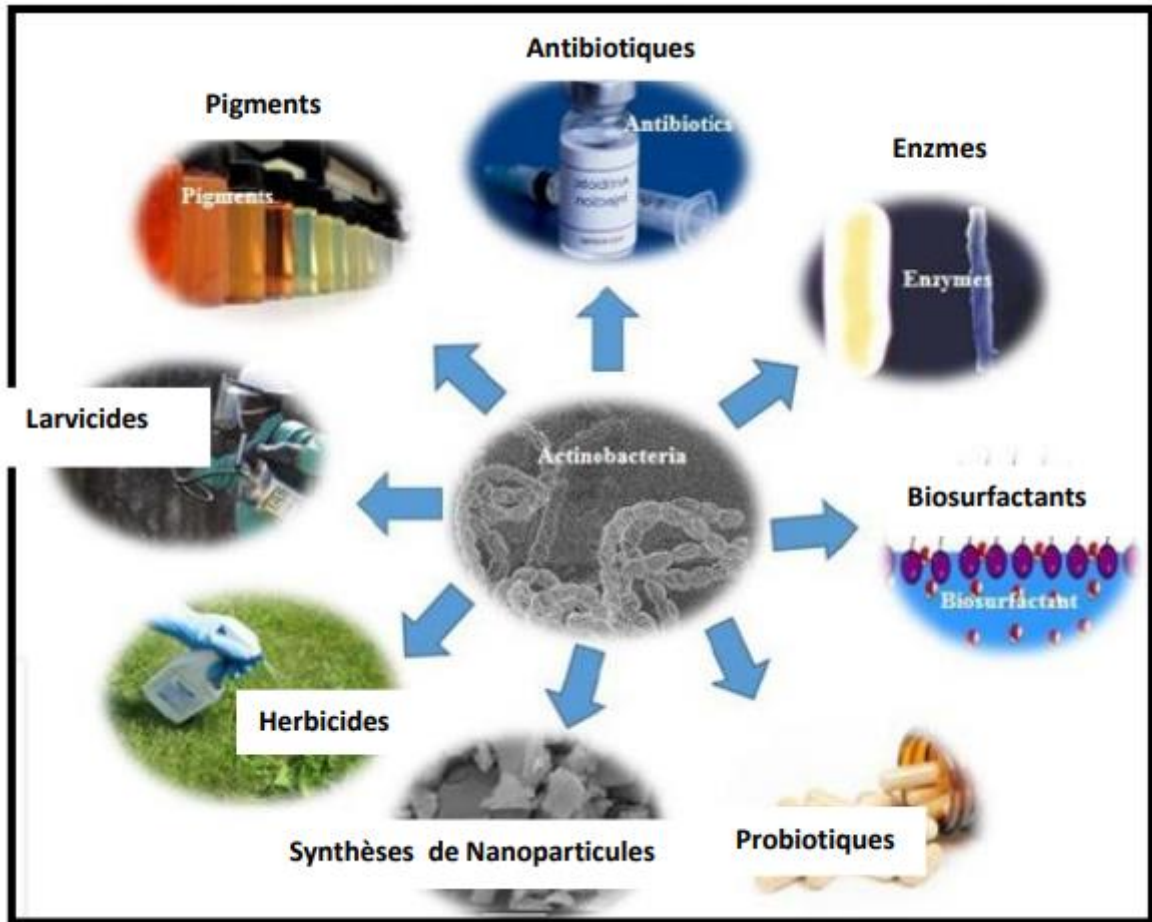
Les multiples enzymes lytiques, les antibiotiques et hormones de croissance produits ces bactéries les dotent de la protection des plantes contre phytopathogènes, ainsi que l'augmentation de la teneur en éléments nutritifs du sol (**Sastrahidayat et al., 2011 ; Kaur et al., 2013**). Avec Kasugamycine, Polyoxine et Blasticidin, ces antibiotiques sont utilisés en grande quantité depuis longtemps L'agriculture japonaise, notamment contre certaines maladies du riz (**Misato, 1982**).

Plusieurs actinomycètes sont connus pour dégrader les substances toxiques, et pour la bioremédiation. Ils conviennent très bien pour environnement hostile. Certaines peuvent pousser à des températures élevées (> 50 ° C) et sont essentielles à la méthode de compostage (**Sharma et al., 2014**), certaines espèces ont la capacité de solubiliser le phosphore (**Crawford et al., 1993**). Dans le sol, de nombreuses actinobactéries sont saprophytes et participent à la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus, tout comme les champignons.

### **I.7.3. L'importance en biotechnologie :**

Plusieurs sociétés de biotechnologie comme *diversa*, *Cubiste* et *protéus*, ainsi que des établissements universitaires travaillent actuellement sur de nouvelles stratégies pour les applications pharmaceutiques de nouveaux composés produits par les microorganismes marins et extrême philes dont les actinobactéries. Plusieurs antibiotiques produits par les

actinobactéries marines ont été rapportés (Maskey *et al.*, 2003 ; Mahyudin *et al.*, 2012). Les actinobactéries représentent une grande proportion de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété de molécules bioactives de haute valeur commerciale entre autres des antibiotiques. (Figure 11) ci-dessous présente une brève description des applications importantes des actinobactéries.



**Figure 11** : Applications biotechnologiques des actinobactéries. (Anandan, 2016).

***Chapitre 02 : Isolement et  
criblage des activités  
antimicrobiennes des  
actinobacteries (comparaison  
des résultats antérieurs)***

## Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actinobactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

### II. Activité antimicrobiennes des actinobactéries isolés de différents écosystèmes :

#### II.1.Nature des échantillons :

Dans tous les articles analysés, nous avons constaté que presque tous les échantillons sont des échantillons de sols d'origines différentes **tableau 05**.

**Tableau05** : Nature des échantillons étudiés dans les articles analysés

Nature de l'échantillon	Description	Référence
Sol	Potentiel antimicrobien des actinobactéries isolé de deux écosystèmes forestiers microbiologiquement inexplorés du Nord-est Inde.	Ranjita Das1 <i>et al.</i> , 2018
Sol	Diversité et activités antimicrobiennes des actinobactéries isolées des sédiments de mangrove tropicale en Malisie	Learn-HanLee <i>et al.</i> ,2014
Sol	Potentiel de biosynthèse antimicrobienne et diversité des actinobactéries du sol cultivables des écosystèmes forestiers du nord-est de l'Inde.	Priyanka Sharma <i>et al.</i> ,2020
Sol	Isolement des actinobactériens productrices de molécules	Affafahmed <i>et al.</i> ,2018

Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actionactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

	antimicrobiennes à partir d'échantillons de sol	
Sol	Criblage de l'activité antimicrobienne des actinobactéries à l'aide d'une méthode modifiée de stries croisées.	Sonashiavelho-pereira <i>et al.</i> ,2011
Sol	Isolement et caractérisation des actinobactéries des sols du Sahara algérien à activités antimicrobiennes.	Harir <i>et al.</i> ,2017
Sol	Diversité, nouveauté et activité antimicrobienne des actinobactéries endophytes des plantes de mangrove dans la réserve naturelle nationale de l'estuaire de Beilun au Guangxi, en Chine.	Lhong-kejang <i>et al.</i> ,2018
Eau	Exploration de la diversité et du potentiel antimicrobien des actinobactéries marines du fjord de Comau dans le nord de la Patagonie, au Chili	Agustinaundabarrena <i>et al.</i> ,2016
Air	Caractérisation des actinomycètes isolés de l'air intérieur de l'église du monastère Sainte-Catherine en Égypte	Hesham Abdulla <i>et al.</i> ,2007
Eau	Bioprospection des actinobactéries issues de	Zothanpuia Ajitkumarpassari <i>et al.</i> ,2018

Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actinobactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

	sédiments d'eau douce pour leur potentiel à produire des composés antimicrobiens.	
Air	Activité antimicrobienne des actinobactéries isolées des entrailles des termites souterrains.	R.A.Arango <i>et al.</i> , 2016
Sol	Réduction de la maladie de fonte des semis à l'aide d'actinomycètes qui produisent des composés antifongiques avec des caractéristiques bénéfiques.	Fatmawati <i>et al.</i> , 2019
Sol	Criblage des actinomycètes marines de Banten West Coast et purification de leurs antibiotiques.	Sunaryanto <i>et al.</i> , 2010
Sol	Isolement et caractérisation des actinomycètes du sol et évaluation de leurs activités antibactériennes contre les agents pathogènes.	Charousova <i>et al.</i> , 2018
L'eau	Isolement et caractérisation des actinobactéries à partir de deux algues marines <i>asparagopsisarmata</i> et <i>zonariatournefortii</i> a intérêt biotechnologique.	M Beichiet <i>al.</i> , 2021

## Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actinobactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

---

Les *actinomycètes* sont une partie importante des micro-organismes dans la plupart des sols (plus d'un million par gramme). Le sol est aussi la source la plus importante d'actinomycètes prolifiques, dont beaucoup produisent des antibiotiques et d'autres métabolites utiles. C'est donc l'habitat le plus intensément étudié et le plus exploité pour la recherche des actinomycètes, mais malgré cela il existe encore de nombreuses lacunes dans nos connaissances sur les processus joués par les actinomycètes dans le sol. Plus de 20 genres ont été isolés et les *streptomyces* étant omniprésent et les plus nombreuses (**Goodfellow, 1983**).

Les *streptomyces* sont communs dans les habitats naturels du sol, généralement la principale composante de la population totale d'actinomycètes (**Hayakawa, 2008**).

### II.2. Isolement des actinobactéries :

L'isolement des actinomycètes dans un mélange de communautés microbiennes naturelles est compliqué à cause de leurs durées de croissance lente par rapport aux autres bactéries du sol. Cela a conduit au développement et à l'efficacité d'une des méthodes suivantes (**Mahmoud et Kalendar., 2016**) :

#### II.2.1. Options nutritionnelles :

Dans cette méthode, les milieux sont formulés avec des nutriments qui sont préférentiellement utilisés par les actinomycètes car l'échantillon contient d'autres genres de microorganismes. Par conséquent, un environnement isolé doit être conçu pour réduire la compétition pour le développement microbien sans affecter négativement la croissance microbienne actinomycètes (**Hirsch et Christensen 1983 ; Kumar et Jade jà, 2016**). Les sources d'azote, telles que les protéines et les acides aminés, jouent un rôle vital dans l'isolement différentiel des actinomycètes. Voici un exemple de L-arginine utilisée comme une source sélective d'azote et favorise la croissance des actinomycètes. Cet acide aminé peut être remplacé par des actinomycètes avec de la glycine par *Streptomyces*. Kuster et Williams (1964) ont étudié plusieurs sources de carbone et l'azote et ont conclu que l'amidon (ou le glycérol), la caséine et les nitrates sont un mélange le plus sélectif.

D'autre part, (**Lingappa et Lockwood 1962**) ont suggéré d'utiliser la chitine est la seule source de carbone et d'azote. Plusieurs médias sélectifs tels que gélose à la vitamine et l'acide humique, la gélose de Kuster, la gélose à l'amidon et à la caséine, la gélose au nitrate

Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actionactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

d'amidon, gélose au sel inorganique d'amidon, glycérine et glycine, la gélose à la chitine est populaire pour l'isolement spécifique des actinomycètes (**Kumar et Jadeja2016**).

**Tableau 06** : Composition des milieux de culture utilisés pour l'isolement des actinomycètes dans les articles analysés.

Milieu d'isolement	Référence
Gélose de Chitine + Vitamine	Ranjita Das1 <i>et al.</i> , 2018
Gélose de caséine + amidon	Learn-HanLee <i>et al.</i> ,2014
Gélose de caséine + amidon	Priyanka Sharma <i>et al.</i> ,2020
ISP2	Affafahmed <i>et al.</i> ,2018
Gélose de caséine + amidon	Sonashiavelho-pereira <i>et al.</i> , 2011
ISP4	Harir Mohamed <i>et al.</i> ,2017
Gélose de caséine + amidon+ nitrate	Lhong-kejang <i>et al.</i> ,2018
Gélose de caséine + amidon	Agustinaundabarrena <i>et al.</i> ,2016
Gélose de caséine + amidon	HeshamAbdulla <i>et al.</i> ,2007
ISP3	ZothanpuiaAjitkumarpassari <i>et al.</i> ,2018
Colloïdale chitine agar (CCA)	R.A.Arango <i>et al.</i> , 2016
Gélose de caséine + amidon	Fatmawati <i>et al.</i> , 2019
Agar de Bennet et gélose de caséine + amidon	Sunaryanto <i>et al.</i> , 2010
Gélose de caséine + amidon	Charousova <i>et al.</i> , 2018
Gélose de caséine + amidon	M Beichi <i>et al.</i> , 2021

A travers les résultats étudiés que nous avons obtenus dans (**Tableau 06**) précédent, nous concluons que le milieu de culture les plus utilisé pour l'isolement des actinomycètes dans les articles analysés est la Gélose de caséine avec l'amidon.

### II.2.2. Inhibition sélective :

Pour inhiber sélectivement les bactéries non-actinomycètes, de nombreux chercheurs utilisent des antibiotiques dans le milieu de culture pour obtenir une inhibition sélective de divers biotes. Les agents antifongiques se sont révélés particulièrement utiles pour isoler les actinomycètes. Porter *et al.*, (1960) ont rapporté des tentatives infructueuses pour obtenir une inhibition bactérienne sélective avec des antibiotiques, mais Dulaney *et al.*, (1955) ont

## Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actionactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

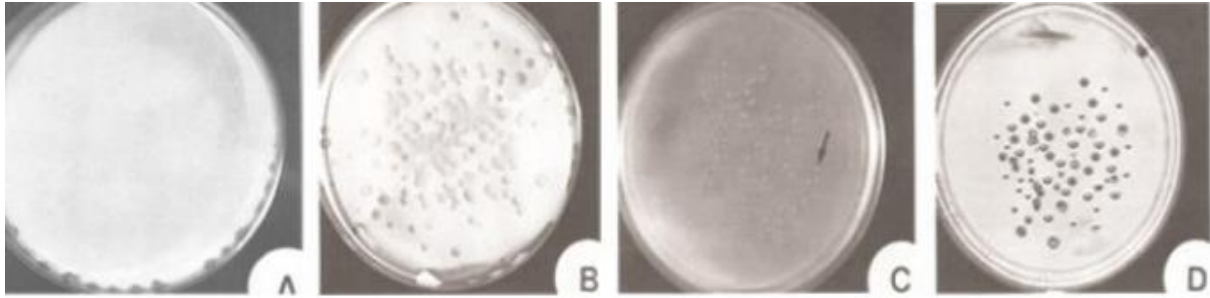
---

recommandé un mélange d'antibiotiques antibactériens et antifongiques pour permettre le développement sélectif des actinomycètes. Certains chercheurs ont utilisé des antibiotiques comme agents sélectifs. Par exemple, Beech et Carr (1955) ont découvert que le cycloheximide et la gliotoxine étaient des inhibiteurs puissants et sélectifs des levures et des moisissures dans le jus de pomme et le cidre. Phillips et Hanel (1950) ont trouvés que le cycloheximide peut être inactif contre les représentants de 27 espèces de bactéries et ont suggéré que cet antifongique pourrait être utilisé pour débarrasser les cultures bactériennes des moisissures contaminants. En ce qui concerne l'isolement préférentiel des actinomycètes, Crook *et al.*,(1950) ont trouvé que le propionate de sodium était un antifongique utile pour l'isolement de *Streptomyces*. (Corke et Chase 1956), dans leurs investigations microbiologiques de sols de forêts acides fortement envahis de moisissures, ont étudié l'utilisation du propionate de sodium et du cycloheximide comme agents antifongiques. Ils ont rapporté que le cycloheximide est le composé le plus efficace des deux (**Porter *et al.*, 1960**).

### II.2.3. Isolement sur les membranes à filtres :

Hirsch et Christensen ont adopté en 1983 une méthode basée sur l'utilisation de membranes filtrantes de taille de pores appropriée placées à la surface du milieu pour isoler et dénombrer sélectivement les actinomycètes du microbiote mixte (**Tiwari *et al.*, Gupta, année 2013**). La méthode est basée sur la capacité des actinomycètes à se multiplier et à traverser les pores du filtre, tandis que les bactéries et les champignons restent à la surface de la membrane. Les filtres à membrane sont de fines structures microporeuses en forme de feuille composées d'esters de cellulose purs, sans inhibiteurs, avec des tailles de pores allant de 0,025  $\mu\text{m}$  à 14  $\mu\text{m}$  (**Polsinelli et Mazza, 1984**). Les filtres à membrane stériles placés sur un milieu de gélose n'emprisonnent pas l'air entre le filtre et la surface de la gélose(**Figure12**).

Lorsqu'il est appliqué, le filtre ne doit pas se rompre ou détruire son intégrité. Un inoculum liquide ou solide a ensuite été appliqué à la surface du filtre et les boîtes inoculées ont été incubées jusqu'à ce que la croissance bactérienne soit visible. Le filtre à membrane est ensuite retiré du milieu gélosé dans des conditions stériles, et la boîte est remise en culture jusqu'à ce que les actinomycètes se développent (**Figure12**) (**Subhashini, 2018**).



**Figure12:** Méthode d'isolement des actinomycètes par les filtres à membrane (Subhashini, 2018).

Divers chercheurs ont utilisé des membranes filtrantes pour isoler des actinomycètes appartenant aux familles des *streptomycetaceae*, des *micromonosporaceae* (mésophiles et thermophiles), des *nocardiaceae* et des *actinobacteriaceae*. Par conséquent, cette procédure convient à l'isolement sélectif des espèces taxonomiques d'actinomycètes. Les avantages offerts par cette technique comprennent sa simplicité et sa capacité à isoler les actinomycètes à partir d'une grande variété d'échantillons sans l'utilisation d'antibiotiques antimicrobiens non discriminatoires ou de conditions nutritionnelles restrictives. De plus, les techniques de filtration peuvent compléter les procédures existantes conçues pour l'isolement des actinomycètes (Hirsch et Christensen, 1983).

### **II.3.Criblage et évaluation de l'activité antibactérienne des actinobactéries :**

Les actinobactéries ont la capacité de produire divers métabolites biologiquement actifs présentent également différentes activités biologiques. Le filtre ou bien le criblage est la première étape de tout programme de bio prospection microbienne. Le dépistage peut être défini comme l'utilisation de procédures hautement sélectives pour réaliser la détection des micro-organismes uniques d'intérêt isolés de la majeure partie du microbiote. Par conséquent, le dépistage doit permettre d'en rejeter plusieurs en une ou quelques étapes microorganismes sans valeur, tandis que de petits pourcentages peuvent être facilement détectés les Micro-organismes bénéfiques présents dans la population humaine. Le filtre se compose généralement de deux étapes, le dépistage primaire et le dépistage secondaire. Filtre primaire permet la détection et l'isolement des micro-organismes avec des applications dans des secteurs potentiellement intéressants. Le dépistage initial ou bien le criblage primaire est généralement effectué sur plaques de gélose. Il détermine seulement quels micro-organismes peuvent produit un composé mais n'a pas une bonne compréhension de sa production ou de son potentiel de performance (Balagurunathan *et al.*, 2020). Sur la base des résultats du

## Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actionactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

---

criblage primaire, les isolats positifs ont été soumis à la fermentation (**Sapkota *et al.*, 2020**), le criblage secondaire consiste à tester les extraits et les filtrats de la culture de l'organisme efficace (**Williston *et al.*, 1947**), généralement parla technique du puits de gélose, comparée aux organismes de test standard (**Pandey *et al.*, 2004**).

### **II.3.1. Méthodes par diffusion en milieu gélosé :**

Le choix d'une méthode de criblage appropriée influence fortement le processus de détection de l'activité antimicrobienne des microbes ou de leurs extraits/composés. Le test de diffusion en gélose est utilisé pour évaluer l'activité antimicrobienne des microbes, de leurs extraits et de leurs composés (**Balagurunathan *et al.*, 2020**).

#### **II.3.1.1. Principe de la méthode :**

La diffusion en agar se réfère au mouvement des molécules à travers la matrice qui est formée par le gélifiant de l'agar. Lorsqu'elle est réalisée dans des conditions contrôlées, le degré de mouvement de la molécule peut être lié à la concentration de la molécule. Ce phénomène constitue la base de l'essai de diffusion en gélose utilisé pour déterminer la sensibilité ou la résistance d'une souche bactérienne à un agent antimicrobien. Il existe deux méthodes courantes utilisées en vertu de ce principe qui comprend la méthode de diffusion sur disque et la méthode de diffusion des puits (**Balagurunathan *et al.*, 2020**).

#### **II.3.1.2. Méthode de diffusion sur disque / méthode Kirby-Bauer :**

Le test de diffusion sur disque développé en 1940 (**Balouiri *et al.*, 2016**). Au début des années 1950, il y avait peu de normalisation du contenu de disque, de la taille de l'inoculum ou des conditions d'incubation entre les laboratoires effectuant les essais. Les études réalisées à l'université de Washington au milieu des années 60 ont abouti à la technique souvent appelée « méthode Kirby-Bauer », publiée par Bauer et ses collègues en 1966. La méthode de diffusion de disque décrite par Bauer et ses collègues a été continuellement élargie et améliorée par le « Comité Nationale des Normes de laboratoire Clinique » (maintenant appelé clinical and laboratory) (**Tenover, 2009**). Dans cette procédure bien connue, les géloses sont inoculées avec un inoculum normalisé du microorganisme d'essai. Ensuite, des disques de papier filtre (d'environ 6 mm de diamètre), contenant la masse d'essai à la concentration désirée, sont placés sur la surface de gélose. Les boîtes de Pétri sont incubées dans des conditions appropriées. Généralement, l'agent antimicrobien se diffuse dans la gélose et inhibe la germination et la croissance du microorganisme d'essai, puis les diamètres des zones d'inhibition de croissance sont mesurés (**Balouiri *et al.*, 2016**). Des résultats qualitatifs sont

## Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actionactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

---

fournis, catégorisant les bactéries comme des souches sensibles, intermédiaires et résistantes, selon la taille de la zone inhibitrice (**Schumacher et al., 2018**). La diffusion discale est une méthode relativement peu coûteuse et facile, il s'agit généralement d'une méthode qualitative, de nombreuses variables peuvent directement baisser la taille des zones et donc donner des résultats peu fiables tels que la densité de l'inoculum, la phase de croissance et les variations de profondeur de la gélose (**Carballo et al., 2012**).

### **II.3.1.3. Méthode de diffusion des puits d'agar :**

La méthode de diffusion des puits d'agar est largement utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits microbiens. De même que dans la méthode de diffusion par disque, la surface de la gélose est inoculée en répartissant un volume microbien sur toute la surface de la gélose. Ensuite, un trou d'un diamètre de 6 à 8 mm est perforé aseptiquement avec un alésage stérile ou une pointe, et un volume (20 à 100 µl) de l'agent antimicrobien ou de la solution d'extraction à la concentration désirée est introduit dans le puits. Ensuite, les plaques d'agar sont incubées dans des conditions appropriées en fonction du microorganisme d'essai. L'agent antimicrobien se diffuse dans le milieu gélose et inhibe la croissance de la souche microbienne testée (**Balouiri et al., 2016**). Dans la méthode de diffusion par disque, le disque de papier filtre imprégné d'extrait ou de molécule est placé sur la surface des plaques de gélose préalablement ensemencées avec des agents pathogènes d'essai, tandis que dans la méthode de diffusion par puits d'agar, les surnageant sans cellules, extrait naturel, ou les composés purifiés dissous dans des solvants appropriés sont chargés dans un milieu gélosé de criblage préalablement ensemencé avec des agents pathogènes d'essai. Dans les deux méthodes, la matière bioactive chargée dans le disque ou dans le puits diffuse dans le milieu et produit une zone d'inhibition (**Balagurunathan et al., 2020**).

### **II.3.1.4. Autres méthodes de diffusions :**

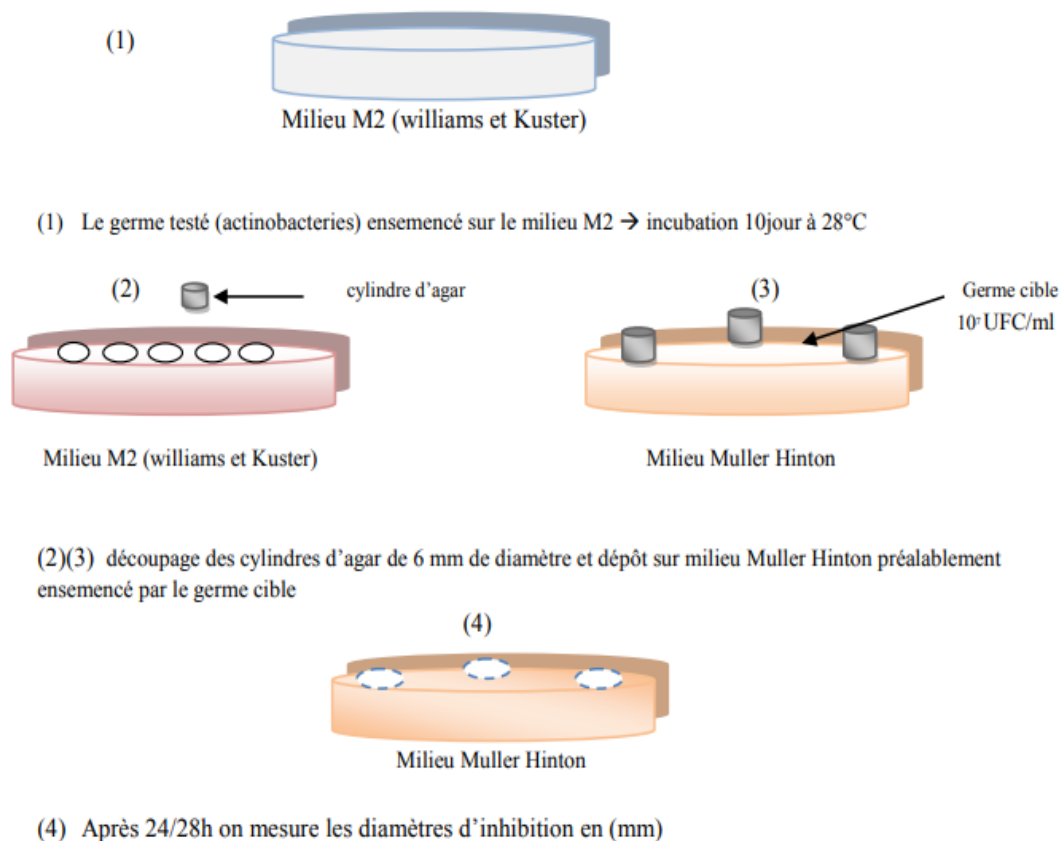
#### **II.3.1.4.1. Technique des cylindres d'agar :**

L'activité antibactérienne des isolats peut être évaluée par la méthode des cylindres d'agar sur le milieu Muller Hinton. L'antagonisme est une propriété de certains microorganismes par la production de métabolites secondaires. Sur la base de la détermination de l'activité antagoniste, les métabolites secondaires de ces microorganismes sont isolés, caractérisés et explorés pour le développement d'antibiotiques. En général, l'antagonisme par la production de métabolites secondaires est la propriété native des micro-organismes

## Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actinobactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

filamenteux tels que les actinobactéries, les champignons. La technique des cylindres d'agar est une méthode simple utilisée pour la détection de l'activité antagoniste des actinobactéries.

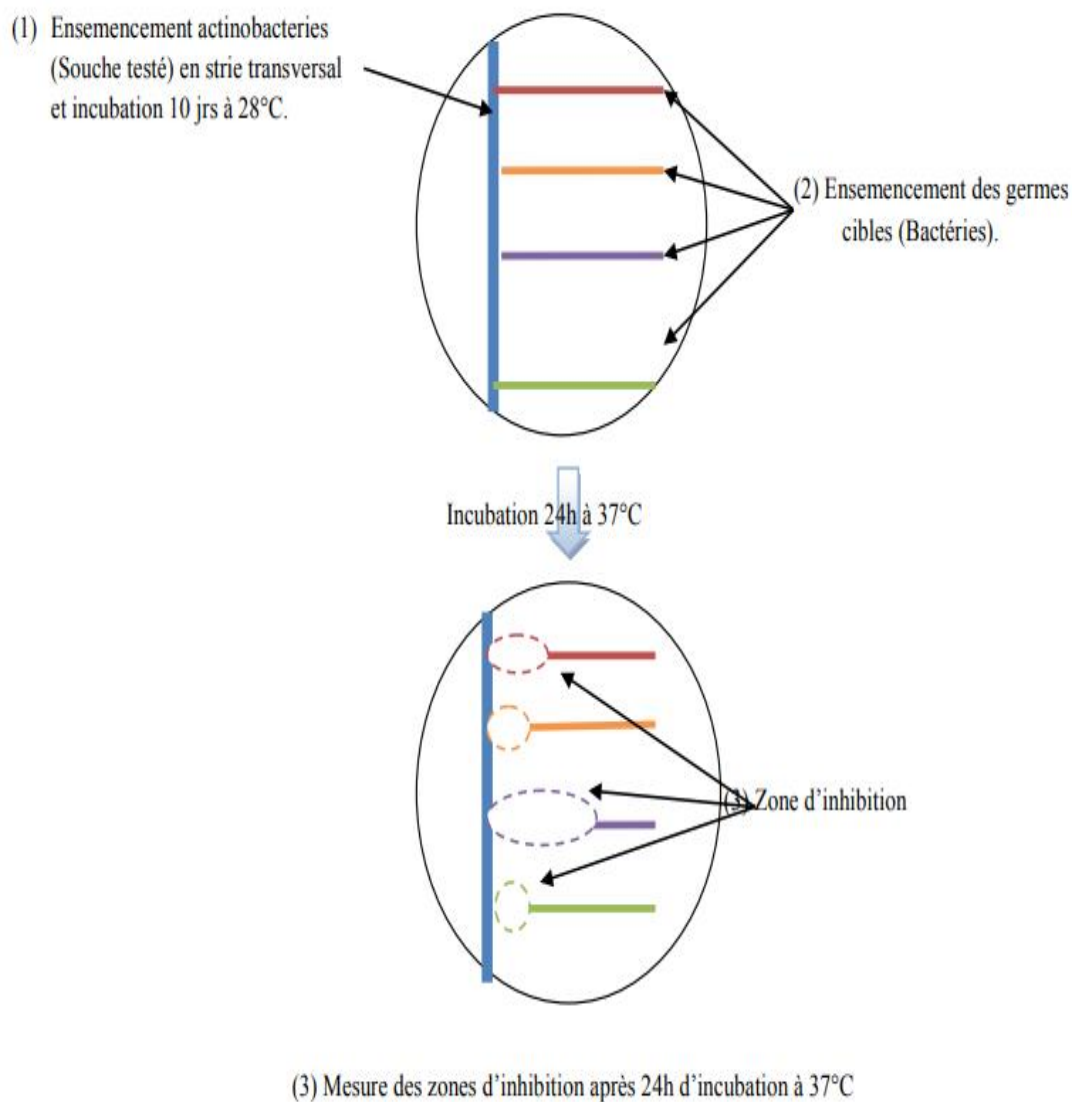
Cette méthode consiste à ensemencer les souches à tester sur milieu Williams est incubé pendant 10 jours à 28°C. Après incubation, des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre sont découpés stérilement à l'aide d'un emporte-pièce à partir de ce milieu et déposés à la surface d'une boîte contenant le milieu Muller Hinton (MH) préalablement ensemencé par tous les germes cibles. Les boîtes ensemencées sont maintenues à 4°C pendant 2h avant d'être incubées pour permettre la diffusion des substances actives tout en empêchant momentanément la croissance des microorganismes cibles. Les zones d'inhibition ont été mesurées après 24h d'incubation à 37°C pour les bactéries. **(Figure 13)** illustre les étapes de cette méthode. Le choix du milieu Mueller-Hinton, souvent rencontré dans la littérature, a été imposé par sa spécificité et sa richesse permettant une bonne croissance aux bactéries-tests et offrant des résultats clairs en raison de sa transparence **(Reghioua *et al.*, 2006)**.



**Figure13** : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode des cylindres d'agar.

**II.3.1.4.2. La méthode à stries croisées (Rothrock et Gottlieb, 1981) :**

L'activité antibactérienne des isolats actinobactéries peut être mise en évidence par la méthode de stries croisées sur milieu Williams. Les souches testées doivent être ensemencées en un seul trait à la surface du milieu puis incubées à 28°C pendant 10 jours. Une culture jeune des germes cibles sont ensemencés perpendiculairement au strie longitudinale de la souche d'actinobactéries, Les boîtes sont incubées à 37°C en fonction de la température de croissances des germes cibles pendant 24h à 48h, la lecture des résultats s'effectue en mesurant la distance (zone d'inhibition) entre les bordures de la souche cible et la souche test (actinobactéries) (**Figure14**).



**Figure14** : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode de stries croisées.

#### **II.3.1.5. Facteurs influençant la dimension de la zone d'inhibition :**

La taille de la zone d'inhibition fournit une indication de l'activité, cependant, un certain nombre de facteurs, va affecter les résultats (**Carballo et al., 2012**) ; à savoir : la densité de l'inoculum, le minutage de l'application des disques, la composition du milieu de culture, la durée d'incubation, la profondeur de la gélose et espacement des disques imprégnés(**Lega, 2010**).

#### **II.4. Production de biomolécules par les techniques de fermentation :**

La fermentation est l'art de tout programme ciblant les produits bioactifs issus des microorganismes, y compris les actinobactéries et aussi La fermentation est la technique de conversion biologique de substrats complexes en composés simples par divers microorganismes tels que les bactéries et les champignons. Après la sélection des cultures actives sur la base du criblage primaire, elles doivent être soumises à une culture, en général, dans des milieux liquides, ou dans des milieux solides pour la production ultérieure de produits bioactifs qui seront par la suite purifiés, caractérisés et testés in vivo. Les conditions et les milieux de fermentation doivent être optimisés pour chaque souche actinobactérienne pour la production de produits souhaitables (**Balagurunathan et al., 2020**).

La faible activité de l'eau ( $A_w$ ) associée à la solide state fermentation signifie que ces processus favorisent les champignons et les actinomycètes qui peuvent se développer à une faible activité d'eau (**Glasse et Ward, 2014**). Les organismes filamenteux préfèrent généralement les constituants solides du sol pour s'ancrer, se développer et aussi pour produire des métabolites secondaires. Pendant l'incubation, les champignons et les actinobactéries sécrètent des métabolites secondaires extracellulaires dans le milieu environnant. Après incubation, les excroissances mycéliennes doit être éliminées et les métabolites sécrétés ont extraits du milieu gélosé par une méthode d'extraction solide-liquide à l'aide de différents solvants organiques. A noter que certains organismes filamenteux produisaient plus de métabolites dans les milieux solides que dans les milieux liquides (**Balagurunathan et al., 2020**). Le niveau d'humidité inférieur auquel la SSF peut se produire est d'environ 12% car en dessous de ce niveau toutes les activités biologiques cessent. La limite supérieure est en fonction du pouvoir absorbant et donc de la teneur en humidité, qui varie en fonction de la nature du substrat (**krishna, 2005**).

#### **II.4.1. Types de la fermentation solide :**

La fermentation à l'état solide peut être grossièrement divisée selon les besoins des micro-organismes en deux catégories: processus de culture « pure » ou « non pure ». Dans les cultures pures, toutes les réactions biologiques sont déterminées par un seul type de microbe (**Chen, 2013**). Dans le cas d'une seule souche, l'utilisation du substrat est relativement spécifique, ce qui affecte directement le coût et la productivité lors d'une SSF. De plus, la maintenance et la surveillance de la stérilité d'une seule souche tout au long de la production est une tâche assez difficile. Au contraire, un système de co-culture mixte, c'est-à-dire l'utilisation de plus d'une culture, conduit à une large gamme de substrats ; la stérilité et l'ingénierie des souches sont non plus requise (**Martínez-Medina et al., 2019**).

#### **II.4.2. Avantages et limites :**

La SSF offre des avantages distincts par rapport à la fermentation submergée, à savoir : l'économie d'espace nécessaire pour fermentation, la simplicité du milieu de fermentation, une productivité de fermentation plus élevée, une concentration finale plus élevée de produits, une grande stabilité des produits, une répression catabolique plus faible, une demande de stérilité plus faible en raison de la faible activité de l'eau utilisée dans la SSF, la non-nécessité de machinerie complexe, une plus grande compacité du récipient de fermentation en raison d'un volume d'eau plus faible, un meilleur rendement du produit, un volume moindre de solvant nécessaire à la récupération du produit, des rendements supérieurs, l'absence d'accumulation de mousse, et un contrôle plus facile des contaminants (**Kapilan, 2015**). Malgré ses potentialités et ses applications extrêmement diversifiés, il y a encore des inconvénients importants à résoudre. Il est clair que certaines limites de la mise à l'échelle sont toujours observées. Dans ce cas, le choix du microorganisme, du substrat / support et du bioréacteur sont prédominants (**Soccol et al., 2017**).

#### **II.4.3. Fermentation submergée (Fermentation liquide) :**

La fermentation submergée (SmF) est défini comme la croissance de microorganismes dans un bouillon nutritif pouvant contenir environ 50 g/L de solutés qui sont soit dissous soit en suspension sous forme de particules solides, et une teneur en eau de 95 %. Ce système de fermentation permet d'obtenir une grande variété de produits à partir d'une grande diversité de microorganismes et utilise des milieux de culture bien définis, garantissant une bonne reproductibilité entre les expériences.

## Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actionactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

C'est une méthode utilisée principalement pour produire des enzymes, des antibiotiques et d'autres produits (**Martínez-Medina *et al.*, 2019**). Dans cette fermentation, les éléments importants sont l'organisme lui-même, le milieu, la stérilisation et les facteurs environnementaux (**Knight *et al.*, 2003**).

Finalement, (**Tableau 07**) représente une globale comparaison entre la fermentation solide et liquide (submergée).

SSF	SMF
Les organismes nécessitant moins d'eau pour la croissance sont préférés comme les microorganismes filamenteux.	La concentration du milieu est bien inférieure à la teneur en eau.
Support inerte (naturel ou artificiel), contenant tous les composants pour la croissance sous forme de solution.	Les ingrédients transformés requis sont chers.
Moins de risques de contamination en raison de la faible disponibilité de l'eau.	L'activité plus élevée de l'eau devient la principale cause de contamination dans les smf.
Moins de consommation d'énergie pour l'aération et le transfert de gaz.	Une pression d'air élevée consomme plus d'énergie et le transfert de gaz dans le smf est médiocre.
Le facteur limitant de la croissance est la diffusion des nutriments.	Un mélange vigoureux facilite la diffusion.
Beaucoup de difficultés pour mesurer la quantité de biomasse présente et d'autres processus en ligne.	Des capteurs en ligne sont disponibles et l'échantillonnage est facile pour la mesure de la biomasse.
Le traitement en aval est facile, moins coûteux et prend moins de temps.	L'eau rend le processus en aval difficile et très coûteux.

## **II.5. Extraction liquide-liquide :**

L'extraction par solvant extraction liquide-liquide (ELL) est un processus par lequel un composé passe d'un solvant à un autre en raison de la différence de solubilité ou de coefficient de distribution entre ces deux solvants non miscibles (ou légèrement solubles).

L'extraction liquide-liquide est une méthode de séparation importante dans la recherche et l'analyse chimique. En tant que procédé commercial, il est fréquemment utilisé pour la récupération en aval d'une fermentation des produits tels que les antibiotiques, les acides aminés, les stéroïdes, etc. (**Balagurunathan et al., 2020**) , les Avantages de L'extraction liquide-liquide présente de nombreux avantages parmi lesquels : Le coût : Ce sont des techniques qui ne demandent pas d'investissement de gros matériel ou de réactifs. Le matériel nécessaire à la mise en œuvre de ces techniques est du matériel de base de laboratoire comme de la verrerie, des pipettes, une centrifugeuse et une hotte à solvants ; la concentration des échantillons (l'utilisation de solvants organiques volatiles permet la concentration du soluté par évaporation du solvant. Si l'on part d'une prise d'essai de 1 ml, et que si l'extrait est repris par un volume final de 100 µL, la purification et la possibilité d'extraire une gamme très étendue de molécules (**Abe et al., 2010**).

Le procédé de l'extraction comporte trois étapes (**Emuri et al., 2010**)

a/ Mélange des deux liquides non miscibles, l'un d'entre eux contenant le soluté.

b/ Obtention de l'équilibre physico-chimique, conduisant à une démixtion.

c/ Séparation des deux nouvelles phases liquides obtenues basée sur la différence des masses volumiques.

### **II.5.1. Procédures courantes d'extraction liquide-liquide :**

Plusieurs méthodes d'extraction couramment utilisées dans les laboratoires Préparez et analysez. L'un de ces programmes est l'extraction par lots. La procédure utilise un volume donné d'un solvant d'extraction et d'une solution qui contient les molécules, les deux liquides étant immiscibles. Le programme généralement utilise une ampoule à décanter (**Figure15**). Après une brève agitation (généralement avec un agitateur mécanique) pour séparer les deux couches de liquide. Une bonne séparation de deux liquides et séparation non destructive d'un liquide ou de l'autre est important pour de bons résultats d'extraction. Le processus d'extraction par lots permet la séparation rapide et facile et offre de nombreux avantages, en

particulier lorsque l'efficacité d'extraction du soluté cible est importante et le processus implique uniquement certaines opérations d'extraction. Idéalement, les séparations sont quantitatives, mais une séparation parfaite n'est jamais possible (**Moldoveanu et David, 2015**).



**Figure 15:** dessin schématique d'une ampoule de décantation avec deux couches distinctes de liquides (**Moldoveanu et David, 2015**).

#### **II.5.1.1. Extraction simple :**

L'extraction simple consiste à extraire le maximum de soluté en une seule étape. Présent à l'origine dans la solution A à partir du solvant B. Le solvant B sera basé sur sa capacité à dissoudre le soluté, c'est-à-dire le coefficient de partage favorable à B. En pratique, la solution A et le solvant B sont en contact dans un tube fermé voie scellée, puis une agitation vigoureuse est temps nécessaire pour la pratique un équilibre de concentration s'établit entre les deux phases. L'agitation peut manuellement ou assisté par courants de foucault ou mécanique (**crémaillère rotative**) (**Abe et al., 2010**).

#### **II.5.1.2. Extraction multiple :**

Les extractions multiples sont utilisées dans deux cas (**Todd, 2014**) :

-Les rendements d'extraction simples ne sont pas idéaux, ce qui signifie que le coefficient de distribution n'est pas assez grand pour être extrait en une seule fois presque tous les solutés ne sont utilisés qu'une seule fois. Dans ce cas, il peut être nécessaire de répéter l'opération d'extraction pour obtenir un taux d'extraction satisfaisant. C'est ce qu'on appelle l'extraction

## Chapitre 02 : isolement et criblage des activités antimicrobiennes des actionactéries ( comparaison des résultats antérieurs).

---

par épuisement. Les différents extraits obtenus sont par la suite mélangés puis concentrés pour isoler le soluté.

-L'extrait n'est pas suffisamment purifié et doit d'abord être ré extrait pour éliminer les substances interférentes. Les solutés sont généralement redis sous en phase aqueuse. Ce processus est souvent appelé décapage.

# *Conclusion générale*

### **Conclusion générale :**

Le présent mémoire porte sur l'étude bibliographique de l'activité antimicrobienne des actinobactéries. Enfin et pour conclure, nous pouvons dire, que les actinobactéries font partie des groupes bactériens importants, représente une composante nécessaire de la population microbienne des sols.

Les actinobactéries sont des microorganismes d'intérêts industriels par excellence. Ces microorganismes sont les plus recherchés pour leur capacité de produire beaucoup de métabolites secondaires. Le présent travail, a été consacré à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des actinobactéries isolés dans trois écosystèmes différents (l'air, l'eau, et le sol).

L'analyse de 15 articles scientifiques a révélé deux axes principaux. Le premier lié à l'isolement des actinomycètes (l'échantillonnage, sans prétraitement, les milieux sélectifs et les conditions d'incubation) et le deuxième consiste à trouver une activité antimicrobienne et antifongique contre les souches testées avec une technologie spécifique. D'après cette étude nous avons trouvé que :

-Le milieu de culture le plus utilisé pour l'isolement des actinomycètes dans les articles analysés est la Gélose de caséine plus l'amidon.

-L'amidon représente la source de carbone la plus utilisée dans les milieux d'isolement sélectif avec 23% de même pour la caséine qui occupe 29% des sources d'azote utilisés.

-Les concentrations de NaCl utilisées varient en fonction des conditions physicochimique de l'échantillon et du genre isolé.

-L'évaluation de l'activité antimicrobienne est assurée par l'application des approches de criblage où une multitude de techniques décrites dans la littérature ont été rapporté dans ce travail.

-La technique des stries croisées a donné un pourcentage plus important d'isolats actifs par rapport à la technique des cylindres d'agar. On pourrait donc supposer que la technique des stries croisées est une technique préliminaire pour l'étude de l'activité antimicrobienne surtout lorsqu'il s'agit d'une importante collection de souches à tester. Cette technique devrait être complétée par d'autres techniques telles que la technique des cylindres d'agar, les tests de filtrat de culture.

## Conclusion générale

---

- La fermentation et l'extraction des biomolécules se fait selon des protocoles bien précis et optimisés, d'une part pour préserver la qualité et la pureté des molécules, et d'autre part, pour garantir une bonne production.

*Références*

*bibliographiques*

## Références bibliographique

---

### Références bibliographiques :

#### A

**A**be, E., Delye, S. G., & Alvarez, J. C. (2010). Extraction liquide liquide: théorie, applications, difficultés. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 22, No. 2, pp. 51-59). EDP Sciences.

**A**isaka, K., Tamura, S., Arai, Y. and Uwajima, T. (1987). Hyperproduction of Nacetylneuraminate lyase by the gene-cloned strain of Escherichia coli. *Biotechnol. Lett.* 9(9).633-637.

**A**lwash M. S., Ibrahim N. and Ahmad W. Y. (2013). Identification and mode of action of antibacterial components from *Melastomamalabathricum* leaves. *J. Infect. Dis.* 9(2). 46-58

**A**nandan R., Dharumadurai D., Manogaran G.P.(2016). An Introduction to Actinobacteria. In: Dhanasekaran D., Jiang Y. (eds) *Actinobacteria: Basics and Biotechnological Applications*. Intech, Rijeka, Pp. 3-37

**A**ndriambololona T. (2010). Etude biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d'Ankafobe. Thèse de doctorat. UNIVERSITE D'ANTANANARIVO, Pp. 5-10

**A**ouar, 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

**A**vril J. L., (1992). *Bactériologie clinique*. 2éd. Paris: ellipses., p511.

#### B

## Références bibliographique

---

**B**alagurunathan R., Radhakrishnan M., Shanmugasundaram T., Gopikrishnan V and Jerrine J (2020). Protocols in actinobacterial research. Springer Protocols Handbooks New York , U.S.A . <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0728-2>

**B**arka E., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Klent HP., Clément C., Ouhdouche Y., et Wezel GP van (2016). Taxonomy, physiology and natural products of Actinobacteria. *MicrobialMolBiolrev.*, 80: 1 – 43

**B**arka EA et al. Taxonomie, physiologie et produits naturels des actinobacteries. *Science biologique [en ligne]*, 2016, vol.80, n°1, p.1-43 (consulté le 25/05/2017)

**B**agre I., Bahi C., Gnahoue G., Djaman A. J. and Guede G F. (2007). Composition phytochimique et evaluation in vitro de l'activite antifongique des extraits des feuilles de *Morinda morzinoises* baker (milne-redhead (Rubiaceae) sur *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*. *J. sci. pharm. Boil.* 8 (1). 15-23

**B**altz, R.H., 2019. Natural product drug discovery in the genomic era: realities, conjectures, misconceptions, and opportunities. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 46, 281–299

**B**alouiri M., Sadiki M., Ibsouda S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of pharmaceutical analysis.* 6.71-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

**B**ergey's Manuel, (2007). Garrity. G.M.; Lilburn. T.G; Cole. J.R; Harrison. S.H.,Euzéby. J; and Tindall. B.J. In: Part 10: Taxonomic Outline of the Bacteria and Archeae. Copyright, Michigan State University Board of Trustees

**B**ecker B.; Lechevalier M. P. ; Lechevalier H. A., 1965. Chemical Composition of Cell-Wall Preparations from Strains of Various Form-Genera of Aerobic Actinomycetes. *Appl. Environ Microbiol*, 13(2), 236-243

**B**enouagueni S. (2015). Recherche de nouvelles souches d'actinomycètes productrices de molécules antifongiques (cas des eaux du lac Mellah d'El Kala). Thèse De Doctorat en

## Références bibliographique

---

microbiologie. Université Badji Mokhtar-Annaba

**B**erdy J. 2005. Bioactivesmicrobiol metabolites. Journal of antibiotics. 58: 1-26

**B**ill I. (2007). La biologie de A à Z. Ed. Dunod, Paris

**B**oudjellal-bencheikh F. (2012).Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles D'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par Actinoalloteichus sp. AH97. Thèse de doctorat en sciences agronomiques, Ecole nationale supérieure agronomiques El-harrach, Alger.

**B**ourass,N . (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, Saccharothrixalgeriensis. Thèse de Doctorat. Université de TiziOuzou (Algerie). pp 186

**B**oudjella. H. (2007). Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des Streptosporangium des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par trois souches. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique ElHarrach – Alger.

**B**ouali H., Hamza K., Bouras N., Aouiche A., Meklat A., Mokrane S., Hamza K. Et Sabaou N. juin (2017). Effet de milieux de culture sur la croissance et la production de chloramphenicol chez deux souches de saccharothrixspal 54 et pal 42 isolées d'un solpalmeraie de ghardaïa. vol. 7, n°1: 71-83

## C

**C**arballo G.L., Gómez-Estaca J.G., Catalá R., Muñoz P.H and GavaraR.(2012). Active antimicrobial food and beverage packaging. In Yam L.L and Lee D.S(eds). Emerging food packaging technologies.Principales and practice. (27-54).Elsevier, Cambridge, UK(Woodhead Publishing).

**C**hater K. F. (2006). Streptomyces inside-out: a new perspective on the bacteria that provideus with antibiotics. Phil. Trans. R. Soc. B. 361. 761-768.

## Références bibliographique

---

**C**hen Y.G ., Zhang Y.Q., Tang S.K ., Liu Z.X., Xu L.H ., Zhang L.X and Li W.J . (2010a) .*Nocardiosis terrae* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from saline soil. *Antonie van Leeuwenhoek*. 98.31–38.

**C**olombié V. (2005).Description de la production de spiramycine par *Streptomyces ambofaciens*. Modélisation métabolique, simulation et capteur logiciel. Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, p174

**C**ollins M.D., Goodfellow M. and Minnikin D.E. (1980). - Fatty acid, Isoprenoidquinone and polar lipid composition in the classification of *Curtobacterium* and related taxa. *J. Gen. Microbiol.*, 118, 29-37.

**C**onn, V.M. (2005). - Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and *Arabidopsis*. Thèse de Doctorat. Flinders University. pp 29

**C**rawford D.L., J.M. Lynch, J.M. Whipps, et M.A. Ousley. (1993). Isolation and Characterization of Actinomycete Antagonists of a Fungal Root Pathogen. *Appl Environ Microbiol* 59:3899–3905

## D

**D**anilenko V.N., Mironov V.A., Elizarov S.M. (2005). Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes: A Review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41(4), 319–329.

**D**elaunay S., Rondags E. et Germain P. (2003). Production d'antibiotiques par biotechnologies. *Techniques de l'ingénieur. Opérations unitaires, génie de la réaction chimique*. J 6 008 1-12

**D**emain, A.L. (2000). Small bugs, big business: the economic power of the microbe. *Biotechnol Adv*, 18(6): 499-514

## Références bibliographique

---

**D**igal D. (2003). Interaction entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactéricivores: effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse doc : université Cheikh Anta Diop De Dakar. Pp. 157.

### E

**E**nsign, J. C., Normand, P., Burden, J. P., & Yallop, C. A. (1993). Physiology of some actinomycetes genera. *Research in Microbiology*, 144(8), 657-660

**E**unice J.A., Prosser J. I. (1983). Mycelial growth and branching of *Streptomyces coelicolor* A3 (2) on solid medium. *Journal of genetic microbiology*, 129, 2029-2036

### F

**F**atmawati, U., Meryandini, A., Nawangsih, A. A., & Wahyudi, A. T. (2020). Damping-off disease reduction using actinomycetes that produce antifungal compounds with beneficial traits. *Journal of Plant Protection Research*, 233-243.

**F**lårdh, K., 2010. Cell polarity and the control of apical growth in *Streptomyces*. *Current Opinion in Microbiology* 13, 758–765.

### G

**G**etha K.; Vikineswary S.; Wong W. H.; Seki T.; Ward A.; Goodfellow M., 2005. Evaluation of *Streptomyces* sp. strain g10 for suppression of *Fusarium* wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*., (32):24-32

**G**erber N.N. and Lechevalier H.A. (1965). - Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from actinomycetes. *Appl. Microbiol.*, 13, 935-938

## Références bibliographique

---

**G**lassey J and Ward A. (2015). Solid State Fermentation. In Bora N., Dodd.C and Desmaures.N (Eds.). Diversity, Dynamics and Functional Role of Actinomycetes on European Smear Ripened Cheeses. (217-225).Springer.Switzerland. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-10464-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-10464-5_10)

**G**ottlieb D. (1973).General Consideration and implication of the Actinomycetales. In: Actinomycetales characteristics and practical importance. Edited by G. Sykes and F. A. Sk

**G**oodfellow M., Williams S.T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annal Review of Microbiology*,37, 189–216.

**G**oodfellowM. (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria phyl.nov. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology*. Springer New York.1455–1616.

**G**ottlieb, D. (1973). General consideration and implication of the Actinomycetales. In: Actinomycetales characteristics and practical importance. Edited by G. Sykes and F.A. Skinner. Academic Press, London, New York.

**G**oodfellow, M., & Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual review of microbiology*, 37(1), 189-216

## H

**H**ayakawa, M. (2008). Studies on the isolation and distribution of rare actinomycetes in soil. *Actinomycetologica*, 22(1), 12-19

**H**irsch, C. F., & Christensen, D. L. (1983). Novel method for selective isolation of actinomycetes. *Applied and environmental microbiology*, 46(4), 925-929

**H**oshino, S., Wakimoto, T., Onaka, H., Abe, I., 2015b. Chojalactones A–C, Cytotoxic Butanolides Isolated from *Streptomyces* sp. Cultivated with Mycolic Acid Containing Bacterium. *Org. Lett.* 17, 1501–1504. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b00385>

## Références bibliographique

---

### I

**I**keda, H., Shin-ya, K., Omura, S., 2014. Genome mining of the *Streptomyces avermitilis* genome and development of genome-minimized hosts for heterologous expression of biosynthetic gene clusters. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 41, 233–250

**I**mada C. (2005). Enzymes inhibitors and other bioactive compounds from marine actinomycetes. *Antonie van Leeuwenhoek*. 87. 59-63

**J**acque A. (1985). Contribution à l'étude des antifongiques : Recherche de nouvelles substances produites par les actinomycetales. Thèse doctorat d'état en pharmacie. Université Nancy I, France

### K

**K**ang J. H., Kondo.F. 2004. *Streptomyces* sp strain isolated from river water has high bisphenol A degradability. *Letters in Applied Microbiology*. 39: 178-180

**K**aur T., Sharma D., Kaura A., and Manhasa R.K., (2013) Antagonistic and plant growth promoting activities of endophytic and soil actinomycetes, *Archives OfPhytopathologyAnd Plant Protection*, 46: 1756–1768

**K**umar, R. R., &Jadeja, V. J. (2016). Isolation of actinomycetes : A complete approach. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 5(5). 606-618

### L

**L**arpent J.P., Sanglier J.J. (1989). *Biotechnologies des antibiotiques*. Masson. Paris, 481 p.

**L**acey J. (1997). *Actinomycetes in soils, composts and fodders*. The Society for Applied Bacteriology Symposium Series No. 7., 2, 231–51

## Références bibliographique

---

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

**L**echevalier M.P. and Lechevalier H.A. (1970b). Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 20: 435-443

**L**ega I. (2019). Evaluation des propriétés antibactériennes, in vitro, d'extraits de feuilles d'argemonemexicanal (Papaveraceae). Doctorat en pharmacie. Université de Ouagadougou- Burkina faso.

**L**oqman, S. (2009). La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne: Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine (Doctoral dissertation, Reims)

## **M**

**M**adigan M.T., Martinko J.M. and Stahl D.A. (2011). Clark D.P. Brock biology of microorganisms. 13th Edition Hardcover.

**M**ahyudin NA., Blunt JW., Cole ALJ., Munro MHG. (2012). The isolation of a new S-methyl benzothioate compound from amarine derived Streptomyces sp. *J Biomed Biotechnol.*, doi:10.1155/2012/894708

**M**ariat F., Sebald M. 1990. Actinomycétales..In: LeMinor. L., Véron M. Bactériologie.médicale.Medecine-Sciences.Flammation.France. Deuxième partie : 933-999

**M**askey RP., Helmke E., Laastsch H. (2003b). Himalomycin A and B: isolation and structure elucidation of new fridamycin type antibiotics from a marine Streptomyces isolate. *J Antibiot.*,56:942–949. McNeil MM., Brown JM. (1994). The medically

**M**iguélez, E.M., Hardisson, C., Manzanal, M.B., 1999. Hyphal death during colony

## Références bibliographique

---

development in *Streptomyces antibioticus*: morphological evidence for the existence of a process of cell deletion in a multicellular prokaryote. *The Journal of Cell Biology* 145, 515–525

**M**isato T. (1982). - Present status and futur prospects of agricultural antibiotics. *J. pestic Sci.*, 7, 301-305

**M**oldoveanu S and David V. (2015). Solvent extraction. In *Modern Sample Preparation for Chromatography*. (131-189). Elsevier.<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-54319-6.00006-2> 131

**M**ohammadipanah F and Dehghani M. (2017). Classification and taxonomy of actinobacteria. In Wink J et al. (eds.). *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*.(51-77).Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1_4)

## N

**N**osawa Y., Sakai N., Arai K., Kawasaki Y. and Harada K. (2007). Reliable and sensitive analysis of amino acid's in Marfey'smethode. *J. Microbiol. Meth.* 70: 306-

## O

**O**lano, C., García, I., González, A., Rodriguez, M., Rozas, D., Rubio, J., Sánchez-Hidalgo, M., Braña, A.F., Méndez, C., Salas, J.A., 2014. Activation and identification of five clusters for secondary metabolites in *Streptomyces albus* J1074. *MicrobBiotechnol* 7, 242–256. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12116>

**O**rtiz-Ortiz, L., Bojalil, L.F., Yakoleff, V., 2013. *Biological, Biochemical, and Biomedical Aspects of Actinomycetes*. Elsevier

**O**skay, T., Aykol, N., & Sahillioğlu, M. (2005). Metastatic Crohn's disease in a child. *Clinical and experimental dermatology*, 30(4), 358-360

## Références bibliographique

---

### P

**P**andey B., Ghimire P and Agrawa V.P. (2004). Studies on the antibacterial activity of the Actinomycetes isolated from the Khumbu Region of Nepal. *Journal of biological sciences*. 23.44-55

**P**erry J.J., Staley J.T., et Lory S. (2004). *Microbiologie*. Paris, Dunod. Pp. 497–498

**P**olsinelli., M and Mazza P.G. (1984). Use of membrane filters for selective isolation of actinomycetes from soil. *FEMS Microbiology Letters* 22 (2) 79-83

**P**rescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., Willey, J.M., Sherwood, L.M., Woolverton, C.J., 2003. *Microbiologie*. 2e éd. Bruxelles: De Boeck 1139

**P**rescott, L., Harley, J.P., Klein D.A. (2003). *Microbiologie tome II*. De Boeck (Berlin), 2<sup>ème</sup> édition, pp539

**P**rescott L., Sherwood L. and Woolverton C.J. (2010). *Microbiologie*. De Boeck. 3<sup>ème</sup> édition. Paris. 589-603

**P**rescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., 2007. *Microbiologie*. De Boeck & Larcier, Bruxelles, pp. 805–825

### R

**R**envoise A., Roux V., Raoult D. *Actinomyces timonensis* sp. nov., isolated from a patient osteoarticular sample. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2010 Jul, 60(Pt 7), 1516-21

**R**utledge, P.J., Challis, G.L., 2015. Discovery of microbial natural products by activation of silent biosynthetic gene clusters. *Nature Reviews Microbiology* 13, 509

## Références bibliographique

---

**R**uan, J. (2013). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 5 and the study of Actinomycetes systematic in China. *Wei sheng wuxue bao= Acta microbiologica Sinica*, 53(6), 521-530

### **S**

**S**anglier, J. J., Wellington, E. M. H., Behal, V., Fiedler, H. P., Ghorbel, R. E., Finance, C., Prinzis, S. (1993). Novel bioactive compounds from actinomycetes. *Res. Microbiol.* 144(8). 661-663.

**S**apkota A., Thapa A., Budhathoki A., Sainju M., Shrestha P and Arya S. (2020). Isolation, characterization, and screening of antimicrobial-producing actinomycetes from soil samples. *International journal of microbiology* .1-7. <https://doi.org/10.1155/2020/2716584>

**S**abaou, N. 1988. Contribution à l'étude des Actinomycètes, des sols des palmeraies Algériennes : systématique et écologie. Thèse de Doctorat en Microbiologie des sols Université des Sciences et de la technologie Houari Boumediene .Alger . 192p

**S**astrahidayat I.R., Djauhari S., Prasetya B., and Saleh N., (2011) Biocontrol of dampingoff disease (*Sclerotium rolfsii* SACC.) using Actinomycetes and vsm fungi on soybean and impact to crop production and microorganism diversity in rhizosphere zone, *Inter.J. Acad. Res.*, 3:114–119

**S**criban R. 1993. *Biotchnologie. 4<sup>ème</sup> édition*. Technique et documentation Lavoisier. Paris

**S**chumacher A., Vranken T., Malhotra A., Arts J. J. C and Habibovic P. (2018). In vitro antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 37:187–208. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-017-3089-2>

## Références bibliographique

---

**S**hirling, E.B., et Gottlieb, D. (1966). Retrospective evaluation of international Streptomyces project taxonomic criteria- the Boundary Microorganisms. Toppan Printing Co Ltd., 161, 9-41

**S**harma, M. Dangi. P and Choudhary. M. (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. Vol .3, n°2: 812

**S**ilini, S. (2012). Contribution à l'étude de la biodégradation de la méthyléthylcétone en réacteur batch par les actinomycètes isolés à partir des boues activées de la station d'épuration d'El-Atmania

**S**ilva. M.S, Sales. A. N., Magalhães-Guedes .K.T., E. S. Dias, and Schwan R.F.. Brazilian Cerrado Soil Actinobacteria Ecology. 2013. VO2013, Article ID 503805, 10 pages

**S**maoui, S. (2010). Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés (Doctoral dissertation).

**S**neath. P.H.A. (1989). – Numerical taxonomy. in : Bergey's Manual of systematic Bacteriology, Williams S.T., Sharpe M.E. and Holt J.G. (Eds.), Volume 4. Williams and Wilkins Co., Baltimore. pp. 2303- 2305

**S**ong J., Weon H.Y., Yoon S.H., Parrk D.S., GoS G., Suh J.W. (2001). Phylogenetic diversity of thermophilic actinomycetes and Thermoactinimycetes isolated from mushroom composts in Korea based on 16S RNA gene sequence analysis. FEMS Microbiology Letters , 202, 97-102

**S**olecka J., Zajko J., Postek M., Rajnisz A. (2012). Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. Open. Life. Sci. 7(3).373-390

**S**rivibool R., and Sukchotiratana M. (2006). Bioperspective of actinomycetes isolates from coastal soils: A new source of antimicrobial producers. Songklanakar. J. Sci. Technol., 28, 493-499. Srivibool, R., Jaidee, K., Sukchotiratana, M., Tokuyama, S., & Pathom-aree, W.

## Références bibliographique

---

(2010). Taxonomic characterization of Streptomyces strain CH54-4 isolated from mangrove sediment. *Annals of microbiology*, 60 (2), 299-305.

**S**trubC..Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrixalgeriensis*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse INP-ENSAT. France

**S**ubhashini D.V. (2018). Rapid technique for selective isolation of actinomycetes from soil. *Advances in plants & agriculture research*.8(6):569–571.

### **T**

**T**an H., Deng Z., Cao L. (2009). Isolation and characterization of actinomycetes from healthy goat faeces.

**T**enover F.C. (2009). Antibiotic susceptibility testing. *Encyclopedia of microbiology* (third edition). Oxford, Academic press. 67-77. <http://doi.org/10.1016/b978-012373944-5.00239-x>

**T**iwari K and Gupta R.K. (2013). Diversity and isolation of rare actinomycetes : an overview. *Critical reviews in microbiology.*, 39(3). 256–294. <http://dx.doi.org/10.3109/1040841x.2012.709819>

**T**odd D.B. (2014). Solvent extraction. In Henry C and al (eds). *Fermentation and biochemical engineering Handbook* 3ed. (225-238). Elsevier, Oxford. <http://doi.org/10.1016/B978-1-4557-2553-3.00012-X>

**T**ortora. 2003. *Introduction à la microbiologie*. septième édition. p 352-353

### **W**

**W**ang J., Soisson S., M., (2006) Platensimycine is a selective Fab F inhibitor with potent antibiotic properties. *Nature.*, 441: 99-110.

## Références bibliographique

---

**W**atve, M.G., Tickoo, R., Jog, M.M., and B.D. Bhole(2001). How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Arch Microbiol.* 176, 386–390

**W**ayne, L.G., Brenner, D.J., Colwell, R.R., Grimont, P.A.D., Kandler, O., Krichevsky, M.I., Moore, L.H., Moore, W.E.C., Murray, Rge., Stackebrandt, E., 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 37, 463–464

**W**illiams S.T., Wellington E.M.H. (1984). Ecology of Actinomycetes. In : Goodfellow, M., (Eds.), *The biology of the Actinomycetes*. London, p.481-528

**W**illiams S.T., Wellington E.M.H.( 1982a). Actinomycetes. In: Eds. Page A.L., Miller R.H., Keency O.R.: *Methods of Soil Analysis, part 2, Chemical and Microbiological Properties*, second ed. American . Society of Agronomy/Soil Science Society of America, Madison, p. 969–987

**W**illiams S.T and Davies F. L. (1965). Use of Antibiotics for Selective Isolation and enumeration of Actinomycetes in Soil. *Microbiology.* 38(2).251-261

**W**illiston E.H., Zia-Walrath P and Youmans G.P. (1947). Plate methods for testing antibiotic of actiomyetes against virulent humain type Tubercle bacilli. *Journal of bacteriology.* 54(5). 563-568

## Z

**Z**ermane F. (2007). Etude des caractéristiques culturelles des actinomycètes impliquées dans la biodégradation de la cellulose, des substances pectiques et des composés organiques de synthèse,p.33-38

**Z**vyagintsev D. G., Zenova G., Sudnizin I.I., and Doroshenko E. A., (2005) The ability of Soil Actinomycetes to Developat an Extremely Low Humidity., 405: 461-463.