



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : de microbiologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master deux en

Microbiologie générale

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des

Micro-organismes

Intitulé :

Etude de l'activité antibactérienne et antifongique d'une collection d'actinomycètes

Présenté et soutenu par : BELAIDI INES

Le : 30 /06/2015

SAHOUR FELLA

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr HAMIDECHI M.A. Prof. UFM Constantine

Rapporteur : Mr BOUDEMAGH A. Prof. UFM Constantine

Examineur : Mr KITOUNI M. Prof. UFM Constantine

*Année universitaire
2014 – 201*

Je dédie ce mémoire

A mes cher parent ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur

Encouragement

A mes sœurs radia et wissem

A mon frère khalil

A yanis et racim

A tous mes amies et amie qui sont chers : hadjer , amira

Karin, batoul, raouf,.....

Fella

Je dédie ce mémoire :

A mes parents :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A ma sœur Rayene

A mon frère Aymen

A toute ma famille pour son soutien de tous les instants.

A tous mes collègues et mes amies en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

INES

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, nous tenons à remercier «Allah» qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au sein du laboratoire de Zoologie de l'université des frères Mentouri Constantine1.

*L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par Monsieur « A. **BOUDEMAGH**» professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine1. Nous tenons vivement à lui exprimer notre profonde gratitude pour, ses orientations et sa compréhension.*

*Nous remercions très sincèrement **Mr M.A. HAMIDECHI**. Professeur à l'université des frères Mentouri Constantine 1 et **Mr. M. KITOUNI**. Professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine1 d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également aux doctorantes **Hocinat Amira** et **medjemedj Maissa** pour leur aide précieuse, pour leurs conseils scientifiques, pour leurs soutiens et leurs gentillesse et encouragements et leurs bonnes humeurs.*

Liste des figures

Figure 01 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes vivant (bleu et vert) et morts (blancs) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores	4
Figure 02 : Observation au microscope électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre <i>Nocardia</i> qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre <i>Streptomyces</i> en sporulation	5
Figure 03 : Cycle de développement des actinomycètes	7
Figure 4 : Principaux germes responsables d'infection nosocomiales et leur fréquence.	24
Figure 5 : Activité antibactérienne de la souche SAiC contre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	29
Figure 6 : Activité antibactérienne des souches SA14, SA3, SA31 contre <i>Pseudomonas sp</i>	29
Figure 7 : Activité antibactérienne de la souche S contre <i>Pseudomonas sp</i>	30
Figure 8 : Activité antibactérienne des isolats Sel22, Sel S15,-5 contre <i>Staphylococcus aureus</i>	33
Figure 9 : Activité antibactérienne des isolats Sels, Sol20, SS10 ⁻⁵ ISP ₂ SH ₆ contre <i>Streptococcus sp</i>	33
Figure 10 : Activité antibactérienne de l'isolat Sol20 contre <i>Staphylococcus aureus</i>	33
Figure 11 : Activité antifongique des actinomycètes du sol agricole contre la levure contre <i>Candida albicans</i>	36
Figure 12 : Activité antifongique des actinomycètes du sol agricole <i>Fusarium oxysporum</i>	36
Figure 13 : Activité antifongique des actinomycètes du sol agricole contre <i>Aspergillus niger</i>	37
Figure14 : Activité antifongique des actinomycètes du sol agricole contre <i>Aspergillus fumigatus</i>	37
Figure 15 : Activité antifongique des actinomycètes des boues activées contre <i>Fusarium oxysporum</i>	38
Figure 16 : Activité antifongique des des actinomycètes des boues activées contre <i>Aspergillus niger</i>	38
Figure 17 : Activité antifongique des actinomycètes des boues activées contre <i>Candida albicans</i>	38
Figure 18 : Activité antifongique des actinomycètes des boues activées contre <i>Aspergillus fumigatus</i>	38

Liste des tableaux

Tableau 1 : Habitats de certains actinomycètes	8
Tableau 2 : Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol	9
Tableau 3 : Caractéristiques des souches bactériennes tests	25
Tableau 4: Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir du sol agricole	28
Tableau 5: Sensibilité des souches testées vis-à-vis des substances antibactériennes sécrétées par les différents actinomycètes isolés à partir de sol agricole	29
Tableau 6 : Activité antimicrobienne d'actinomycètes isolés à partir des boues activées	30
Tableau 7: Sensibilité des différentes bactéries tests vis-à-vis des substances antibactériennes sécrétées par les actinomycètes isolés à partir des boues activés	31
Tableau 8: Activité antibactérienne d'actinomycètes isolés à partir de la Sebkhah d'El-Oued.	31
Tableau 9: Sensibilité des souches testées vis-à-vis des substances antibactériennes sécrétées par les différents actinomycètes isolés à partir de la sebkhah.	34
Tableau 10: Activité antifongique des actinomycètes isolés à partir du sol agricole.	36
Tableau 11 : Activité antifongique d'actinomycètes isolés à partir des boues activées	37

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNr : Acide désoxyribonucléique ribosomal

ARNr : Acide ribonucléique ribosomal

ATCC: American type culture collection

AW: activité d'eau

C° : degré Celsius

Cm : centimètre

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

ERV : les entérocoques résistants à la vancomycine

ERC : Les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes

g : Gramme

GLM : glucose -extrait de levure -extrait de malte

GYEA: Glucose-Yeast-Extract-Agar

h: heure

HIV : human immunodeficiency virus (Virus de l'immunodéficience humaine)

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance (High Performance Liquid Chromatography)

ISP: International Streptomyces Project

M: Molaire

m: mètre

mg /ml : Milligramme/ millilitre

MgSO4: sulfate de magnésium

min : Minute

ml : millilitre

mm: millimètre

MNGA : milieu nutritif modifié glucosé et gélosé

NaCl : Chlorure de Sodium

NDM-1 : New Delhi métallo-bêta-Lactamase.

nm: nanomètre

OMS : Organisation mondiale de la Santé

PDA : Potato Dextrose Agar

pH : potentiel d'hydrogène

P/V : Poids/Volume

R : résistant

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SARM : Staphylococcus aureus Multi Résistant à la méthicilline

UFC : Unité Formant Colonie

UV : Ultra-Violet

µg/ml : Microgramme/ millilitre

Table des matières

INTRODUCTION	1
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. LES ACTINOMYCETES	3
1. Introduction.....	3
1.1. Propriétés générales des actinomycètes.....	4
1.2. Morphologiques.....	5
1.3. physiologie de développement	6
1.3.1. L'oxygène.....	6
1.3.2. Le pH.....	6
1.3.3. La température	6
1.3.4. L'activité de l'eau (Aw)	6
1.3.5. Tolérance en NaCl.....	6
1.4. Cycle de développement	7
1.5. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature	7
1.5.1. Les actinomycètes de sol	8
1.5.2. Actinomycètes dans les sols de rhizosphères de plante	9
1.5.3. Les actinomycètes du compost et matériel relatif.....	10
1.5.4. Les actinomycètes de l'air	10
1.5.5. Les actinomycètes aquatiques	10
1.5.5.1. Les actinomycètes des eaux douces	10
1.5.5.2. Les actinomycètes marins	11
1.6. Importance des actinomycètes	11
1.6.1. Dans les domaines médical, vétérinaire et industriel.....	12
1.6.2. Dans le domaine gronomique.....	12
1.7. Métabolisme antibiotique des actinomycètes	12
1.7.1. La production des antibiotiques	13

1.7.2. La production des antifongiques.....	14
2. Les molécules antibactériennes et antifongiques des actinomycètes isolés à partir des différents écosystèmes	14
2.1. Les actinomycètes producteurs d'antibiotiques isolés à partir du sol.....	14
2.2. Les actinomycètes isolés à partir des eaux	17
2.3. Les actinomycètes isolés à partir des sédiments marins	18
2.4. les actinomycètes isolés à partir des racines de plantes	19
3. La résistance aux antibiotiques	19
3.1. La résistance aux antibiotiques.....	19
3.2. Les mécanismes de résistance.....	20
3.3. Bactéries résistantes aux antibiotiques.....	20
4. Les bactéries opportunistes	21
5. Les infections nosocomiales.....	22
5.1. Principaux agents infectieux des infections nosocomiales.....	23

PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

1. Origines des actinomycètes.....	25
2. Revivification des souches d'actinomycètes.....	25
3. Souches bactériennes tests.....	25
4. Souches fongiques tests.....	26
5. Etude de l'activité antibactérienne.....	26
5.1. Préparation des inocula de bactéries-tests.....	26
5.2. Technique des cylindres d'Agar.....	26
5.3. Lecture.....	26
6. Etude de l'activité antifongique.....	27
6.1. Préparation des inocula	27
6.1.1. Inoculum levurien.....	27
6.1.2. Inoculum fongique.....	27
6.2. Mise en évidence des activités antifongiques.....	27
6.3. Lecture.....	27

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Activité antibactérienne	28
1.1. Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir du sol agricole.....	28
1.2. Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir des boues activées.....	29
1.3. Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir de Sebkha.....	31
2. Activité antifongique	36
2.1. Activité antifongique des actinomycètes isolés à partir du sol agricole.....	36
2.2. Activité antifongique des actinomycètes isolés à partir des boues activées.....	37
CONCLUSION	40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	42
ANNEXE	51
RESUME	53
ABSTRACT	54
ملخص	55

Le sol, les eaux et les environnements marins sont divers habitats écologiques lesquels ont été rapportés comme sources potentielles de produits naturels très utiles comme les antibactériens et les antifongiques (**Rakotoniriana, 2006**). Depuis l'avènement de ces molécules, une nette amélioration de la qualité et de la durée de vie a été constatée. Cependant, leur utilisation intensive a eu pour conséquence l'adaptation des bactéries à ces remarquables substances (**Desnottes, 1995**).

L'apparition de nouvelles maladies infectieuses (sida, grippe aviaire, etc.), la réémergence d'agents infectieux anciens qui était totalement éradiqués et maîtrisés comme le choléra la méningite, la fièvre jaune, etc.) (**Données OMS, 1997**) ont conduit à une utilisation abusive des antibiotiques contre ces maladies. L'utilisation non contrôlée et systématique est l'un des facteurs essentiels dans l'évolution de la résistance microbienne (**Leif et Larson 2000 ; Maccrain et al., 2005**).

En 1945, Fleming mit en garde la population, dans un article du New York Times daté du 26 Juin 1945, contre une utilisation abusive de la pénicilline pouvant conduire à la propagation des bactéries résistantes. Cinq ans plus tard, à Paris et à Londres, la moitié des souches de Staphylocoque était résistante à la pénicilline (**In Briand, 2009**). A partir de cette époque, le problème de la résistance des antibiotiques s'est propagé dans le monde et devient un problème mondial.

Récemment, l'OMS a déclaré par le biais de sa directrice générale Margaret Chan lors de la journée mondiale de la santé organisée le 7 Avril 2011: « *...Si nous ne prenons pas d'urgence des mesures pour corriger cette situation et en protéger les acquis, nous allons vers une ère post-antibiotiques, dans laquelle de nombreuses infections courantes ne pourront plus être soignées et recommenceront à tuer* ».

Ces constats expliquent l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes d'origines biologiques. Celles-ci sont souvent recherchées à partir des microorganismes isolés d'échantillons prélevés de différents écosystèmes, dans le but découvrir des microbes nouveaux et par-là de nouvelles molécules biologiquement actives. Les actinomycètes sont les acteurs les plus prometteurs pour la production de nouveaux métabolites à activité antimicrobienne, environ 75% des antibiotiques découverts entre 1971 et 1980 appartiennent aux actinomycètes (**Iwai, 1992, Tiraby et Etienne, 1983 ; Nolan et Cross, 1988**).

Les actinomycètes sont des bactéries à Gram positif à majorité filamenteuses, représentent la principale source naturelle de métabolites anti-cellulaires (**Higashide,**

1984). Ce sont des bactéries omniprésentes dans presque tous les milieux même ceux où la vie est extrêmement hostile (**Goodfellow et William, 1983 ; Okami et Hotta, 1988**).

L'isolement d'actinomycètes à partir d'écosystèmes peu ou pas exploités offre surement des possibilités de découvrir des bactéries possédant un patrimoine génétique nouveau permettant, la découverte de souches nouvelles ou rares autres que les *Streptomyces* pourvu d'un potentiel inexploité.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés en premier, à la description de données bibliographiques concernant les actinomycètes, leurs présences dans les différents écosystèmes, l'évolution des résistances bactériennes et les infections nosocomiales. La seconde partie dite expérimentale est totalement dédiée à la mise en évidence des activités antibactériennes et antifongiques d'une collection de 41 souches d'actinomycètes isolées à partir de différents écosystèmes extrêmes.

1. Les actinomycètes

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes, qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Rastogi et Kishore, 1997**). Cela explique leurs dénominations en grec « Champignons à rayons » ou « Champignons rayonnants », expression utilisée pour les désigner en anglais (*Ray fungi*) et aussi en allemand et en russe. Les actinomycètes appartiennent à la classe des Actinobacteria. Ce sont des bactéries à Gram positif de haut GC % généralement compris entre 60 et 75 %. Le phylum des Actinobacteria est grand et complexe (**Stackebrandt, 1997**) il regroupe 5 ordres, 13 sous-ordres, 48 familles, et plus de 200 genres bactériens.

1.1. Propriétés générales des actinomycètes

Lorsque les actinomycètes croissent sur un substrat solide comme la gélose, le réseau ramifié d'hyphes formé se développe à la fois à la surface du substrat et à l'intérieur de ce dernier (**Figure 1**) pour former un mycélium végétatif (**Prescott, 2010**). La plupart des actinomycètes ne sont pas mobiles, chez les quelques genres dotés de mobilité, celle-ci est limitée aux spores flagellées (**Prescott, 2010**). La composition de la paroi cellulaire varie fortement d'un groupe à l'autre et prend une importance taxinomique considérable (**Prescott, 2010**). La paroi ne renferme ni chitine ni cellulose mais du peptidoglycane, et leur cytologie est celle des bactéries. Ce sont des bactéries hétérotrophes utilisant des molécules organiques préfabriquées, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimio-autotrophique (**Hubert et Lechevalier, 1985**). Ils peuvent vivre dans les écosystèmes riches en matière inorganique. Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyenne est environ 2 à 3 heures (**Beckers et al., 1982**).

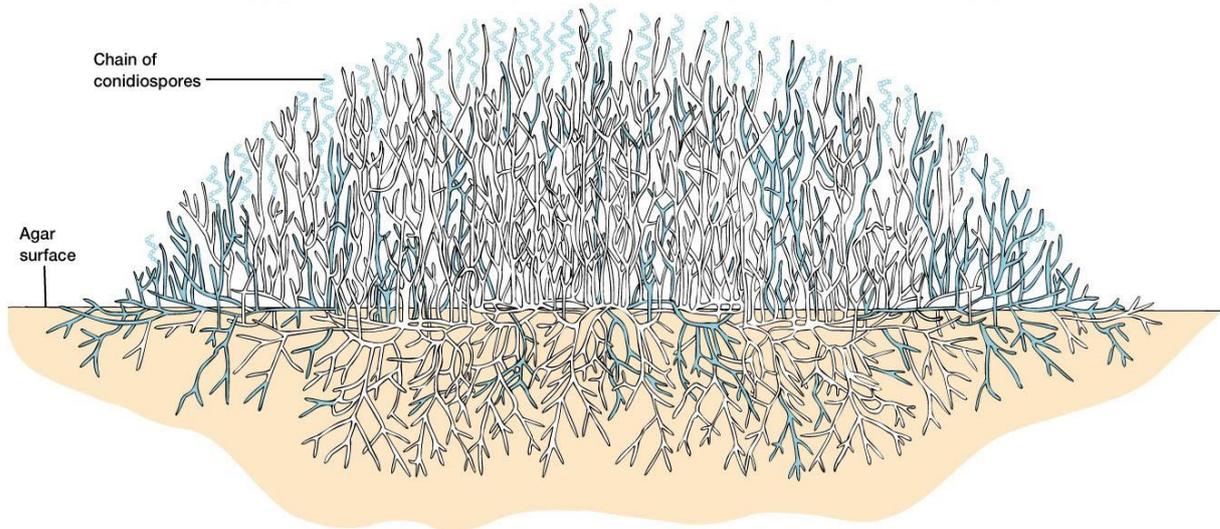


Figure 1 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes vivants (bleu et vert) et morts (blancs) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores (Prescott, 2010).

1.2. Morphologie

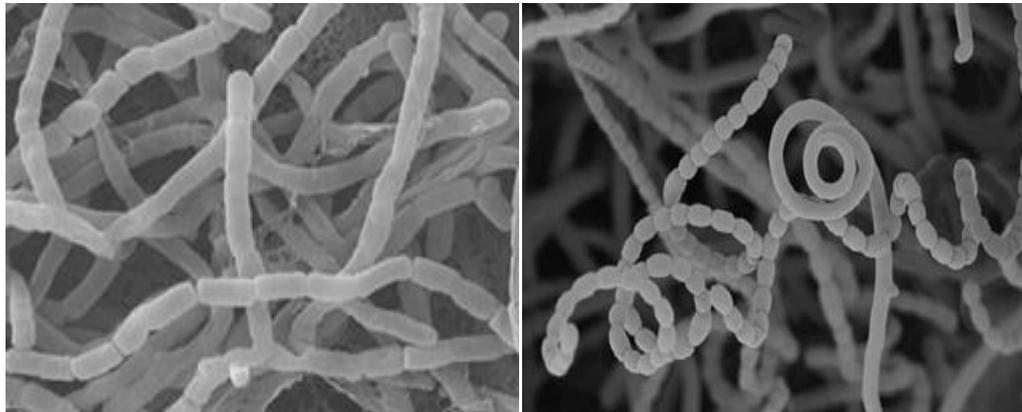
Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium). Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (Lechevalier, 1985).

Les colonies formées sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- * Colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
- * Colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
- * Colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

Le mycélium des actinomycètes présente une grande diversité de morphologies. On rencontre des espèces dont le mycélium est rudimentaire au point d'être inexistant (la plupart des *Mycobacterium*), d'autres au mycélium fugace, qui se fragmente (certaines

Nocardia), et enfin des espèces au mycélium développé et persistant comme dans le genre *Streptomyces*. Les mycéliums fragmentaires et permanents sont illustrés sur la figure 2.



(A)*Nocardia*

(B)*Streptomyces*

Figure 2 : Observation au microscope électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre *Nocardia* qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre *Streptomyces* en sporulation (BELYAGOUBI, 2014).

Les différents groupes d'actinomycètes peuvent se sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores hautement résistantes à la chaleur et autres adversités. Les conidies peuvent, suivant les groupes, être produites :

- isolément (*Micromonospora*)
- deux à deux longitudinalement (*Microbispora*)
- en courtes chaînes (*Actinomadura*)
- en longues chaînettes (*Streptomyces*)

Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, sinuées ou en spirales. De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores (*Streptoverticillium*).

1.3. Physiologie de développement

La croissance des actinomycètes est influencée par plusieurs paramètres physiologiques en particulier: l'oxygène, le pH, la température...etc.

1.3.1. L'oxygène

On peut diviser les actinomycètes selon leurs types respiratoires en deux groupes.

* 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 (**Avril et al., 1992**).

* Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces*, sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol (**Avril et al., 1992**).

1.3.2. Le pH

Pour le pH, la plupart des actinomycètes 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**)

1.3.3. 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**).

1.3.4. L'activité de l'eau (Aw)

La germination des spores de la plupart des actinomycètes 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**).

1.3.5. Tolérance en Na Cl

Selon leurs exigences en NaCl, les microorganismes sont divisés en deux groupes :

* Les halophiles : ont besoin de sel (NaCl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (P/V) pour les faiblement halophiles, jusqu'à 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes.

* Les halotolérants : acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolèrent de 6 à 8 % de NaCl (P/V)) ; les modérément tolérants (tolèrent de 18 à 20 % de NaCl (P/V)) et les extrêmement tolérants (se développent de 0 % jusqu'à saturation en NaCl) (**Nanjani, 2011**).

1.4. Cycle de développement

Les actinomycètes ont un cycle de développement complexe (**Figure 3**). Il débute par la germination d'une spore, qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes qui se ramifie. Le développement du mycélium de substrat vers la partie superficielle donne le mycélium "secondaire" ou aérien, les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores, qui sont des agents de dissémination (**Kimet al., 2004**).

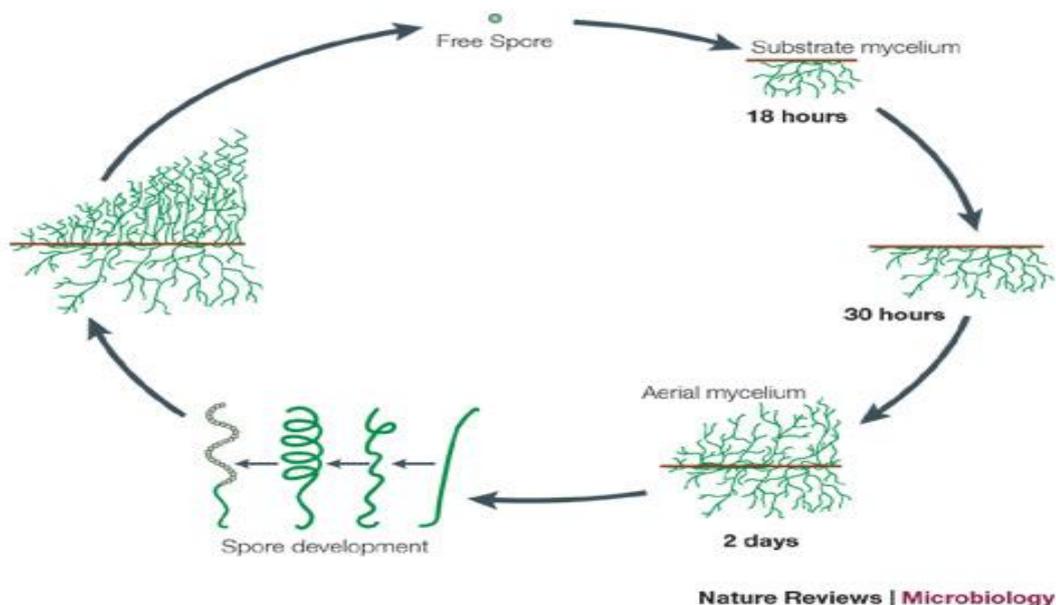


Figure 3 : Cycle de développement des actinomycètes (**Breton et al., 1989**).

1.5. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature

Les actinomycètes sont un groupe de bactéries omniprésent qui se produisent dans la multiplicité d'environnement naturel et synthétique. Ils se trouvent dans différentes niches tels que le sol, l'air, l'eau douce, les océans et sur une variété de matériel comme l'engrais, les résidus de végétaux de compost et des produits alimentaires (**Tab.1**) (**kumaret al., 2003**).

Tableau 1 : Habitats de certains actinomycètes (Grigorova et Norris, 1990).

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

1.5.1. Les actinomycètes de sol

Le sol est le milieu naturel pour les interactions biologiques, pour la végétation et comme habitat pour la faune. Le sol a un rôle majeur dans la détermination de la qualité globale de notre environnement en ce qui abritent de multitude produits chimiques ; organiques ; et inorganiques libérés par les êtres humains soit intentionnellement comme dans le cas de produits chimiques agricoles ou accidentellement. L'environnement du sol est dominé par une phase solide composée de minéraux inorganiques, les plantes, les animaux et les résidus microbiens dans divers stades de décomposition, et une salle de microbiote et de métabolisation (**Stotzky, 1986**).

Le sol héberge de divers genres de micro-organismes. Les actinomycètes sont moins dominants que des bactéries et plus importants que des champignons. Les actinomycètes composent habituellement à 10-50% de la communauté microbienne totale déterminée par la méthode d'électrodéposition dans la terre vierge et cultivée. Leur nombre varie considérablement dans différents types de sol s'étendant de 10^5 à 10^6 g dans des zones tempérées.

Un nombre peu élevé d'actinomycète a été enregistré dans la région de l'Antarctique, dans les tourbes acides et les sédiments des différentes eaux. Leurs présences est maximum dans les couches supérieures du sol, il diminue avec la profondeur. Dans le sol sec alcalin leur abondance relative est haute. Les actinomycètes les plus abondants dans le sol sont les espèces de *Streptomyces* qui peuvent former plus de 2/3 des colonies sur

des plaques de dilution, les *Nocardia* sp représentent jusqu'à un tiers et les *Micromonospora* atteignent les 5% (Alexander, 1961). Lechevalier et Lechevalier (1967) ont isolé 5000 actinomycètes issus de 16 sols différents. Plus de 95% étaient des *Streptomyces*.

Tableau 2 : Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol (Lechevalier et Lechevalier, 1967).

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

Les cendres volcaniques et les rizières sont les types de sols propres Japon. Les actinomycètes étaient nombreux ($80 \times 10^5 \text{g}^{-1}$) dans le sol cultivé de cendre volcanique de montagne et moins dans les rizières ($26 \times 10^5 \text{g}^{-1}$). Ils étaient moins dans les sols vierges que dans le sol cultivé. (Kumar *et al.*, 2003).

1.5.2. Actinomycètes dans les sols de rhizosphères de plantes

La majorité des actinomycètes sont trouvés dans divers types de sols tels que les champs agricoles, les forêts tropicales et les grottes naturelles (Gomes *et al.*, 2000; Nakaewet *al.*, 2009). Certains des actinomycètes sont distribués dans les parties rhizosphériques du sol. Le terme de rhizosphère, tout d'abord utilisé par Martin et Kemp (Hiltner ,1904) et défini comme une zone du sol qui entoure les racines des plants. La densité de ces derniers est plus élevée dans cette zone que dans les sols dépourvus de

racines (sols en vrac) (Lynch, 1990). Cette différence est liée à la sécrétion des petits composés organiques par les racines sous forme d'exsudats qui fournissent la nutrition et les sources d'énergie pour la croissance microbienne (Soderberg et Baath, 1998). On sait depuis longtemps que les exsudats contiennent des acides organiques, des acides aminés, des acides gras, des vitamines et des monomères des glucides ; la composition et la quantité des exsudats racinaires varie selon les espèces végétales et les conditions abiotiques tels que de la température et l'humidité de sol (Martin et Kemp, 1980). Cette flore microbienne de la rhizosphère comprend principalement les bactéries, les champignons et les actinomycètes. Les interactions entre les microorganismes procaryotes et les racines des plantes peuvent avoir des effets bénéfiques, nuisibles ou neutres sur la plante en fonction du type d'interaction symbiote et les conditions de sol (Smith et Read, 1997).

1.5.3. Les actinomycètes du compost et matériel relatif

Les microbes mésophiles y compris les actinomycètes effectuent la décomposition des substrats riches en nutriments et créent une température plus élevée qui fournissent des conditions idéales pour la croissance rapide des actinomycètes thermophiles. *Thermoactinomyces*, *Saccharomonospora*, *Micropolyspora*, *Pseudonocardia* et *Streptomyces* sp, *Thermonospora* ont été isolés à partir de tels substrats auto-chauffée. Les espèces de *Thermomonospora* se développent particulièrement bien pendant la deuxième phase de préparation d'engrais pour la culture de champignon tandis que les *Streptomyces diastaticus* et *Thermoactinomyces vulgaris* prédominent dans le compost cuit à la vapeur et sa poussière. (Kumar et al., 2003).

1.5.4. Les actinomycètes de l'air

Les actinomycètes peuvent être démontrés dans l'air par l'utilisation de méthodes de piégeage et d'échantillonnage appropriés. La diffusion aéroportée est principalement liée à la quantité de la poussière à laquelle les spores et le fragment mycélien s'accrochent. N'importe quelle action qui touche le sol sec de la terre jachère, telle que les premières gouttes de pluie, lance des particules de sol dans l'air, produit une augmentation du nombre de *Streptomyces* aéroportés. (Kumar et al., 2003).

1.5.5. Les actinomycètes aquatiques

1.5.5.1. Les actinomycètes des eaux douces

Des actinomycètes sont largement distribués dans un environnement aquatique, mais cela ne prouve pas qu'ils fassent partie de la flore microbienne indigène. L'occurrence et l'importance des actinomycètes dans l'eau douce ont été étudiés par

plusieurs chercheurs (**Erikson 1941, Bnrman 1973, Rowbotham et Cross 1977, Makkar et Cross 1982**). Les genres des actinomycètes qui sont fréquents dans l'eau douce incluent *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *streptomyces* de *Rhodococcus* et *Thermoactinomyces* (**Williamset al, 1983**).les actinomycètes sont généralement plus nombreux dans les courants et les rivières que dans les lacs et les réservoirs. *Streptomyces* et *Micromonospora* sont généralement plus en mousse dans l'eau de la rivière et c'est peut-être à cause de la concentration de spores hydrophobes et les hyphes de l'interface de l'eau et l'air.

Les actinomycètes rendent l'eau potable désagréable en développant le goût et les odeurs terreux ou moisi. La chimie et la distribution des composés volatils ont été sondés par **Gerber (1979)** ont conclu que la géosmine et le (trans-1, 10 diméthyl-9-trans decall) et méthyl iso-bornéol se produisent fréquemment.

1.5.5.2. Les actinomycètes marins

Certaines souches d'actinomycètes ont été retrouvées dans des environnements marins (**Singh et al, 2006 et Imadaet al, 2007**), dans des sédiments situés à plus de 4000 m de profondeur (**Khatabi et al, 2002**).Ils sont présents dans les fonds fluviaux ou lacustres. La colonisation normale du milieu marin est un point controversé, selon les uns, il existerait une flore d'actinomycètes spécifique aux sédiments marins caractérisée par sa barotolérance, son halophilie et une température optimale faible ; selon d'autres, les actinomycètes isolés de ces milieux correspondraient à des souches terricoles adaptées à la salinité marine (**Larpent et Sanglier, 1989**).Les actinomycètes sont également présents dans les lacs extrêmement alcalins, les lacs salés, en revanche il semblerait qu'ils sont absents dans les eaux minières très acides (pH <1)et les sources thermales très chaudes d'origine volcaniques (**Lechevalier, 1981**).

1.6. Importance des actinomycètes

La principale raison derrière l'engouement pour les actinomycètes 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 actinomycètes dont 6550 (40%) par des espèces de *Streptomyces* (**Choulet, 2006**).En plus de la production d'antibiotiques, les actinomycètes 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).

1.6.1. Dans les domaines médical, vétérinaire et industriel

Les actinomycètes ont fourni un nombre considérable de composés bioactifs de haute valeur commerciale, et sont recherchés de façon routinière dans le but de découvrir de nouvelles substances bioactives (Vijayakumaret al.,2007).

Les antibiotiques ont aussi trouvé une application dans les élevages industriels d'animaux. Ils sont utilisés non seulement pour combattre les maladies des animaux et des plantes, mais aussi dans l'alimentation pour augmenter les rendements zootechniques (Khachatourians.1998).

1.6.2. Dans le domaine agronomique

En plus de la production d'un grand nombre de métabolites d'importance commerciale, les actinomycètes possèdent d'autres potentiels intéressants tels que leur implication dans le processus de recyclage. En effet, ils sont vitaux pour le recyclage des nutriments et comptent parmi un nombre réduit d'organismes utilisés en bio remédiation, capable de dégrader des composés organiques complexes tels que la chitine (Zaitlin et Watson, 2006) et grâce à un potentiel enzymatique riche ainsi que des spores résistantes à la dessiccation (Pizzul, 2006). Ils ont la possibilité de s'adhérer aux interfaces non miscibles à l'eau en raison de l'hydrophobicité de leur paroi cellulaire. Ils sont aussi capables de dégrader des hydrocarbures chlorés ainsi que des composés organiques complexes (El-Shatoury et al, 2004).Le genre *Frankia* est également très important pour un bon nombre de plantes, provoquant des nodulations aux racines permettant ainsi la fixation de l'azote par la plante hôte (Zaitlinet Watson, 2006).

1.7. Le métabolisme antibiotique des actinomycètes

Les métabolites secondaire produits par les actinomycètes présentent un grand nombre d'effets biologiques diverses, d'abord des activités antimicrobiennes. L'ordre des actinomycetales sont célèbre producteur de métabolites bioactifs avec une expérience professionnelle de plus de 10 000 agents antimicrobiens à usage clinique (Demain, 2009). Les métabolites secondaires produits par les actinomycètes révèlent des activités biologiques variées tel qu'antibactériennes, antifongique, antiviral, anticancéreux, anti protozoaires, anti cholestérol. Ce groupe de composés forme un assemblage hétérogène des molécules biologiquement puissantes avec diverses structures et mécanismes d'action. La

découverte des agents antimicrobiens des actinomycètes a mené à une percée dans le monde de la médecine, en raison de leur assistance précieuse pour sauver l'homme de maladies infectieuses. la plupart des bactéries infectieuses sans traitement aux 19 siècles peut être facilement guérir maintenant avec un programme court des antibiotiques, par exemple la tuberculose (**McDermott et al., 1947**). Environ 75 % des antibiotiques sont produits par les actinomycètes. Bon nombre de ces agents antibactériens montrent un large éventail des activités. la diversité en structure de ces antibactériens est responsable de leurs activités antimicrobiennes de large spectre et diverse mécanisme d'action. Ils ont montré une forte puissance contre un grand nombre d'organismes Gram-positives et Gram-négatives.

1.7.1. La production des antibiotiques

Les actinomycètes sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que producteurs d'antibiotiques (**Berdy, 2005**). On estime que les deux tiers des quelque six mille antibiotiques isolés jusqu'ici sont produits par les actinomycètes. Historiquement **A. Waksman** fut le premier à démontrer la richesse des actinomycètes dans ce domaine, il isola quatre des premiers antibiotiques utiles : l'actinomycine (1940); la streptomycine (1944) ; la néomycine (1949) et la candicidine (1953). Parmi les espèces actinomycétales, les *Streptomyces* sont les plus importants producteurs d'antibiotiques et autres métabolites secondaires, 75% des antibiotiques sont produits par les espèces de streptomycètes (**Revel et al., 2000**). Les antibiotiques des actinomycètes peuvent être classés en groupes chimiques quelques exemples:

- Les aminoglycosides (streptomycine, néomycine, kanamycine, gentamicine);
- Les macrolides (érythromycine)
- Les ansamycines (rifamycine)
- Les bêta-lactames (thiénamycine)
- Les peptides (viomycine, thiostrepton, actinomycine, pristinamycine)
- Les tétracyclines (chlortétracycline, oxytétracycline)
- Les nucléosides (puromycine)
- Les polyènes (nystatine, candicidine, amphotéricine B);
- Les polyéthers (monensine) (**Berdy, 2005**).

Les antibiotiques des actinomycètes sont utilisés aussi dans le traitement de certaines maladies des plantes. La blasticidine, par exemple, est active sur *Piricularia oryzae*, un pathogène du riz (**Tomita et al., 1990**). Les antibiotiques ont trouvé

également une application en agriculture à des fins de lutte contre les maladies des animaux et des plantes et aussi pour stimuler la croissance des animaux domestiques et accroître les rendements zootechniques (**Tomita et al,1990**).

En plus des antibiotiques antimicrobiens, les actinomycètes sont une source de substances anti tumorales (actinomycine, adriamycine, rebeccamycine), insecticides(mikkomycine), miticide (tétranactine), antihelminthiques (avermectines), pesticides (antimycineA), herbicides (phosphinothricines) et de substances ayant des activités biologiques les plus diverses (immunosuppressives, immunostimulantes) (**Dietera et al,2003**).

1.7.2. La production d'antifongiques.

Les antagonistes microbiens sont largement utilisés en lutte biologique contre les champignons phytopathogènes. L'activité antagoniste de *Streptomyces* vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires et des enzymes hydrolytiques (**Prapagdee et al., 2008**).En plus des *Streptomyces*, d'autres genres appartenant aux actinomycètes sont également des producteurs de molécules possédant des activités antifongiques (**Sanglier et Trujillo,1997**).Les ramicidines sont par exemple des antifongiques produits par une souche d'*Actinomadura bibisca* (**Tomita et al, 1990**).

2. Les molécules antifongiques et antibactériennes produites par les actinomycètes isolés à partir des différents écosystèmes

Beaucoup de recherches ont été entreprises dans le monde entier, ils fournissent des informations importantes sur la production d'antibactériens et d'antifongiques. Plusieurs écosystèmes telluriques aquatiques ou autres ont fait l'objet de ces études. Les techniques sont toujours employées afin de trouver des molécules nouvelles. Une des stratégies employées pour cela est la recherche d'actinomycètes nouveaux, dans les écosystèmes les moins explorés.

2.1. Les actinomycètes producteurs d'antibiotiques isolés à partir du sol

Dans une étude menée par **Badji et al., (2006)** visant à isoler des actinomycètes rares producteurs d'antifongiques non-polyéniques à partir d'un sol saharien, plusieurs actinomycètes ont été sélectionnés. Un actinomycète nommé AC104 a été isolé à partir du milieu « chitine – vitamines B » additionné de rifampicine. Cet isolat présente une très

forte activité antimicrobienne vis-à-vis de champignons filamenteux et de bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Sur la base de ses caractéristiques morphologiques et chimiques, l'isolat a été rattaché au genre *Actinomadura*. Les études physiologiques comportant 76 tests et l'analyse de la séquence de l'ADNr 16S ont montré que l'isolat AC104 est assez différent des espèces connues d'*Actinomadura* et pourrait ainsi être original. La production d'antibiotiques a été testée sur plusieurs milieux de culture, le meilleur étant le milieu ISP2. Cinq zones actives ont été localisées par bio-autographie. Parmi ces antibiotiques, le complexe nommé 104A qui a présenté la plus forte activité antifongique. Ce produit a été purifié par HPLC en phase inverse, il s'est avéré être composé de quatre molécules différentes. Les études spectroscopiques, notamment l'UV-visible, l'infrarouge, la spectrométrie de masse et la RMN protonique, ont permis de constater que ces molécules contiennent un noyau aromatique para di-substitué par des chaînes aliphatiques. Ces composés sont différents de ceux synthétisés par les espèces du genre *Actinomadura* et semblent être des molécules nouvelles.

En 2008 **Valan Arasua et ses collaborateurs** ont isolé une nouvelle souche ERI-26 d'actinomycète (*Streptomyces* sp. ERI-26) du sol de la forêt de Nilgiri au Ghats occidental et étudiée son activité antimicrobienne contre des bactéries et des mycètes pathogènes. Ses caractéristiques culturelles dans divers milieux de culture et le profil de son rARN 16s ont fortement suggéré qu'elle appartient au genre *Streptomyces*; Ses caractères morphologiques et physiologiques ont été étudiés. L'activité antimicrobienne montrée par ERI-26 s'exerce contre des bactéries comme *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* et des fungi comme *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*. Les substances antibactériennes sont extraites au méthanol et l'activité antimicrobienne est évaluée en utilisant la technique de micro dilution en milieu liquide. La concentration minimale inhibitrice des fractions méthanoliques contre *Staphylococcus epidermitis* et contre *Candida. albicans* est respectivement de 375 et de 500 µg/ml. Ces résultats montrent que le sol des forêts peut être la source de nouvelles souches d'actinomycètes.

En 2012 **Boussabera** isolé des souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques, à partir de trois écosystèmes marocains différents. vingt-neuf souches d'actinomycètes ont été isolées sur trois milieux de culture choisis en fonction des données de la littérature (Olson, Bennett et GLM), à partir d'échantillons de sol prélevés de forêt, de dunes phosphatées et de décharge de poterie. L'activité antifongique des souches d'actinomycètes isolées a été mise en évidence sur milieu de culture Bennett par deux

techniques de diffusion sur gélose. Parmi les 29 souches d'actinomycètes isolées, 25 soit 86.20 % ont montré une activité antifongique vis-à-vis d'au moins un champignon étudié. Les extraits des trois actinomycètes représentatifs ont montré une activité inhibitrice intéressante, surtout la souche SP13' qui s'est révélée plus efficace et présente une intense activité antifongique.

Jihani (2013) a isolé vingt souches d'actinomycètes à partir d'échantillons de sol et de bois prélevés à partir d'une vieille maison dans l'ancienne médina de Fès et d'échantillons de sol prélevés de la région de Moulay Yacoub et des rives d'Oued Sebbou. L'activité antimicrobienne réalisée par la technique des cylindres d'agar et celle des stries croisées, a été déterminée contre des bactéries à Gram positif (*Bacillus subtilis* 5262, *Bacillus cereus* 14579, *Staphylococcus aureus* 7625, *Staphylococcus epidermidis* 6821), des bactéries à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* 76110, *E. coli* 7624) et la levure *Candida albicans*. Parmi les vingt isolats, douze (60 %) ont montré une activité contre au moins une des souches tests. Par ailleurs, l'analyse moléculaire des vingt isolats par amplification et séquençage partiel du gène de l'ARNr 16S a permis d'attribuer dix-huit isolats au genre *Streptomyces* et deux aux genres *Saccharothrix* et *Lentzea*. Cinq isolats à savoir (Sj32, Sj33, Sj38, Sj68 et Sj69) ont été décrites particulièrement intéressantes. Les substances bioactives produites par les cinq souches d'actinomycètes sont extraites par des solvants organiques et les molécules produites sont purifiées par HPLC. Une étude de la stabilité de l'activité antibactérienne en fonction de la température et de la protéinase K a montré que les substances bioactives seraient de nature non protéique pour Sj32, Sj33, Sj68 et Sj69 et protéique pour Sj38. La fraction active de la souche Sj32 a été démontrée active contre les cellules MRC-5 et présente une forte cytotoxicité. Enfin, l'étude de l'effet de la fraction active de la souche Sj32 sur la transcription et la traduction bactérienne in vitro, a montré que cette substance purifiée n'inhibe pas ces deux processus biologiques.

En 2014 **Wahabi** a isolé 26 souches d'actinomycètes à partir d'échantillons de sol et d'écorces d'arbres prélevés d'écosystèmes différents (sol de champ à Sousse, sol de sable avec végétation et sol de dune à Douz). Leur identification a été réalisée en se basant sur leurs caractères macroscopiques et microscopiques. L'activité antimicrobienne a été effectuée contre deux bactéries à Gram positives et trois bactéries à Gram négatives. Elle a été réalisée par trois techniques qui se basent sur le principe de diffusion qui sont la technique du cylindre d'agar, la technique des disques et la technique des puits. Parmi les 26 souches isolées, 21 souches (80.64%) ont montré une activité contre au moins une

bactérie-test étudiée dont 38% ont présenté une forte action antibactérienne. Ces derniers ont comme cible majoritaire les bactéries à Gram positives.

2.2. Les actinomycètes isolés à partir des eaux

Boughachiche *et al.*, (2011) ont isolé quatre souches d'actinomycètes à partir d'un échantillon d'eau de Sebkhah d'Ezzemoul connue par sa grande salinité (localisée à Ain M'Lila au Nord-Est Algérien). Dans des travaux antérieurs, elles ont été identifiées comme appartenant au genre *Streptomyces* et ceci par analyse d'un fragment de l'ADNr16S, des études chimio-taxonomiques, morphologiques et physiologiques. L'activité antibactérienne de ces souches a été recherchée contre les bactéries-tests suivantes : *Bacillus cereus* : résistant aux lactamines et aux sulfamides, *Streptococcus faecalis* : résistant à la pénicilline, à la tétracycline et aux cotrimoxazoles, et *Staphylococcus aureus* Mu 50 : résistant à la vancomycine). La recherche des métabolites antibactériens a été effectuée par deux techniques : la première est voisine de celle utilisée par Peterson (1954) et dans laquelle les souches de *Streptomyces* sont ensemencées en touches à la surface des boîtes de Pétri contenant les milieux AF ; Bennett ; GBA et le milieu synthétique puis incubées 14 jours à 28°C. La culture est ensuite recouverte par le milieu Mueller-Hinton faiblement gélosé ensemencé en masse avec une souche-test. Les boîtes sont observées après 24 h d'incubation à 37°C. Les zones d'inhibition sont mesurées en millimètres du bord de la colonie de *Streptomyces* à la limite de la zone où la bactérie-cible n'est pas inhibée. La deuxième technique est celle des cylindres d'agar qui consiste à ensemencer en premier lieu, les souches de *Streptomyces* en stries serrées à la surface de boîte de Pétri contenant 15 ml des milieux AF, Bennett, GBA, ou milieu synthétique. Après 14 jours d'incubation à 28°C, des cylindres de gélose de 6 mm de diamètre sont prélevés et sont déposés à la surface des milieux Mueller-Hinton ensemencés avec les germes-tests. Placées 2 h à 4°C pour permettre la diffusion des substances actives, les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 h. Les résultats montrent que deux souches présentent des activités positives, la plus active produit un seul type de molécules à caractère polaire et résiste aux changements de température et à l'exposition à la lumière. Son activité commence dès le premier jour de culture et atteint son maximum au quatrième jour. L'autre souche possède des molécules thermorésistantes dont l'activité maximale apparaît le premier jour d'incubation. La souche produit deux types de molécules actives, la première molécule est polaire et l'autre est apolaire.

En 2014 **Benouaguena et al** ont étudiés l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes isolées du lac El Mellah, parc national d'El Kala .Le screening de l'activité antimicrobienne est réalisé sur gélose ISP2, la position taxonomique de la souche E65 est établie à partir des caractères phénotypiques et l'étude moléculaire, la cinétique de croissance et de production des molécules antifongiques sur *Candida albicans* sont étudiés sur bouillon ISP1, ISP2 et GYEA, la molécule antifongique est extraite avec du dichlorométhane et révélée sur chromatographie en couche mince, avec des révélateurs chimiques et une spectroscopie UV-visible et infrarouge. Un total de 104 souches d'actinomycètes ont été isolées et examinées pour leurs activités antimicrobiennes, 21 souches étaient actives contre *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *C.albicans*. La souche E65 a montré une forte activité in vitro contre *Staphylococcus aureus* et *C.albicans* et une bonne activité contre une souche *C. albicans* résistante à la 5-fluorocytosine. Cette souche est identifiée comme *Streptomyces yatensis* appartenant au sous-groupe des « *Streptomyces violaceusniger* » du groupe « *Streptomyces hygroscopicus* ». La souche E65 produit un antifongique non polyénique, son spectre infrarouge ne correspond à aucun des composés antimicrobiens connus pour être produit par les souches du groupes « *S. hygroscopicus* ».

2.3. Les actinomycètes isolés à partir des sédiments marins

Dans cette étude **Kumar et Kannabiran (2010)** ont isolé une souche d'actinomycète à partir d'échantillons de sédiments marins récoltés sur la côte de Marakkanam de la baie du Bengale en Inde ayant une activité antifongique sur des isolats d'*Aspergillus* multi-résistants. La souche a été identifiée comme appartenant au genre *Streptomyces*. Sur des critères phénotypiques et phylogénétiques, elle a été considérée comme une nouvelle espèce du genre *Streptomyces* et dénommée *Streptomyces*VITSVK5. Son GC % est de 71 % et la séquence de son ADNr 16S montre 93 % de similarité avec *Streptomyces* MSU2261. Le milieu de culture et les conditions de croissance ont été optimisés en culture agitée par mesure du poids sec du mycélium. Onze souches d'*Aspergillus* multi-résistantes (MDR) ont été isolées des crachats de patients volontaires atteints de tuberculose pulmonaire. Ils ont trouvé que les antifongiques testés sur ces souches résistantes (amphotéricine B, itraconazole, ketoconazole et fluconazole) ont montés des CMI comprises entre 4 et 16 mg/ml. L'extrait à l'éthyle acétate de l'extrait brut de cette souche présente une activité antifongique significative sur les souches MDR

avec des zones d'inhibition comprises entre 22 et 28 mm et des CMI comprises entre 0,125 et 4 mg/ml.

2.4. Les actinomycètes isolés à partir des racines de plantes

Rakotoarimanga et al (2014) ont isolé des actinomycètes à partir des sols rhizosphériques des plantes saines de tomate, de concombre et de haricots. Le sol directement adhérent aux systèmes racinaires des plantes est collecté et séché à l'air libre puis tamisé avec un tamis à maille de 2mm de diamètre après un broyage avec un mortier. 5g du sol est dilué dans 45 ml de sulfate de magnésium ($MgSO_4$; 0,1M) préalablement stérilisé à l'autoclave à 121°C ; pendant 20min. Après une agitation, une série de dilutions d'intervalle de 10 fois allant de 10^{-2} à 10^{-4} est préparée à partir de cette solution mère. Le milieu de culture gélosé Waksman est ensemencé par les différentes dilutions et incubé à 28°C pendant une semaine. Toutes les colonies d'actinomycètes sont récupérées et purifiées par la nouvelle culture sur le même milieu de culture (Waksman). Après le test d'antagonisme des actinomycètes in vitro et in vivo contre *Fusarium* a été réalisé. Les résultats ont montré que parmi les 87 isolats d'actinomycètes provenant des sols rhizosphériques de plantes d'haricot, de tomate et de concombre, 24 sont antagonistes du champignon test F-02 et les pouvoirs inhibiteurs de ces isolats varient entre 14% et 60%. L'isolat d'actinomycète Ac66, isolé du sol rhizosphérique de la plante d'haricot a montré une inhibition élevée de 60,52%. Le traitement des graines de plantes à germer avec la solution de l'isolat Ac66 atténue significativement la virulence in vivo par le champignon F-02.

3. La résistance aux antibiotiques

Un antibiotique est une substance chimique qui, à faible dose, agit sur des cibles moléculaires spécifiques du métabolisme ou de la structure des bactéries et qui inhibe leur croissance ou les tue. Il est, par définition, produit par un micro-organisme (bactérie ou champignon microscopique) par exemple *Streptomyces griseus* qui sécrète la streptomycine ou la pénicilline G, produite par *Penicillium notatum* (**Marchand et Courvalin, 2008**).

3.1. La résistance aux antibiotiques

Il s'agit de la capacité de certaines bactéries à survivre malgré l'exposition à un antibiotique. Lorsque les bactéries de la même espèce sont insensibles à un antibiotique particulier, on parle de résistance « **naturelle** ». C'est le cas, par exemple, des streptocoques, insensibles aux aminosides. Ce type de résistance explique pourquoi les

antibiotiques sont toujours prescrits contre des infections précises, selon un dosage et une durée déterminés. Les résistances peuvent également être « **acquises** », lorsque, dans une population bactérienne, apparaît une bactérie insensible à l'antibiotique. Celle-ci peut avoir gagné cet avantage à la faveur d'une mutation spontanée au niveau d'un de ses gènes. Elle transmettra alors la capacité de résister à ses filles. Le cas s'est présenté pour le bacille tuberculeux, devenu résistant à la streptomycine et à la rifampicine à la faveur de mutations spontanées. Mais de telles mutations sont rares : elles concernent environ une bactérie sur dix millions, voire un milliard. En fait, 80 % des cas de résistance bactérienne connus sont apparus à la suite de la transmission d'un fragment d'ADN d'une bactérie résistante à une bactérie sensible, lequel fragment contenait un gène conférant la protection. Ces fragments d'ADN sont, par exemple, des molécules d'ADN circulaire ou plasmides. L'acquisition d'un seul plasmide permet à une bactérie de résister simultanément à 4 à 7 familles d'antibiotiques différentes (**Lemarchand et Courvalin 2008**).

3.2. Les mécanismes de résistance

La bactérie peut fabriquer une enzyme capable de neutraliser l'antibiotique : la pénicillinase, par exemple, inactive les pénicillines, l'acétylase inhibe le chloramphénicol, etc. Le micro-organisme peut posséder une membrane imperméable à l'antibiotique ou être capable de rejeter cette substance dans le milieu extérieur, grâce à une pompe membranaire qui refoule les molécules hors de la cellule, les empêchant de se concentrer, et donc d'agir sur la cible. Ce mécanisme est notamment impliqué dans la résistance d'*Acinetobacter*, responsable de nombreuses infections nosocomiales, autrement dit acquises à l'hôpital. Le microorganisme peut enfin présenter une modification au niveau de la cible de l'antibiotique : le site de fixation sur la cellule est modifié, ce qui empêche l'antibiotique de se lier, et par conséquent d'être efficace (**Lemarchand et Courvalin, 2008**).

3.3. Les bactéries résistantes aux antibiotiques

- ***Staphylococcus aureus***

Les bactéries de type *Staphylococcus aureus* se trouvent d'habitude sur la peau et dans le nez. Les staphylocoques peuvent causer des infections et des maladies. Certaines souches, résistantes à l'antibiotique méthicilline, sont connues sous le nom de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM). Lorsqu'elle n'est pas traitée, l'infection aux SARM peut entraîner de graves complications, parfois mortelles, comme des infections du sang, des os et des poumons (telles que la pneumonie). On rencontre le plus souvent le SARM dans des établissements de soins de santé.

- **Entérocoques résistants à la vancomycine**

Les bactéries entérocoques vivent dans les intestins humains, mais qui peuvent infecter d'autres parties du corps. Les symptômes varient en fonction du site de l'infection. Les entérocoques se propagent souvent dans les établissements de soins de santé. Les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) sont résistants à l'antibiotique vancomycine. Les personnes qui ont été traitées avec la vancomycine présentent un risque plus élevé de développer une infection aux ERV.

- **Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes**

Les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC) résistent à un type d'antibiotiques appelé carbapénèmes. Certaines de ces bactéries produisent une enzyme, le New Delhi métallo-bêta-Lactamase (NDM-1), qui les rend résistantes aux antibiotiques. Il y a peu de traitements de remplacement lorsque les bactéries, notamment celles comportant le gène NDM-1, développent une résistance aux carbapénèmes.

- **Les PAR ou *Pseudomonas aeruginosa* multirésistants**

Les *Pseudomonas aeruginosa* représentent 10 à 11% des bactéries responsables d'infections nosocomiales. Les sites de portage du *Pseudomonas* sont l'oropharynx et le tube digestif. Les souches de *P. aeruginosa* résistantes diffusent par petites épidémies et sont impliquées dans des infections respiratoires, urinaires ou cutanées. Ces souches, souvent résistantes (R) à la ceftazidime ; Certaines sont toto-résistantes retrouvées chez les patients atteints de mucoviscidose.

- **Les ABR ou *Acinetobacte rbaumannii* multirésistant (résistant à la ticarcilline)**

Les ABR sont de plus en plus souvent impliqués dans les infections nosocomiales de certains secteurs hospitaliers comme les unités de soins intensifs. On le retrouve au niveau de l'oropharynx, de la peau et du tube digestif. Elles sont redoutées à l'hôpital car la persistance de ces bactéries dans l'environnement est parfois impressionnante et est à l'origine d'épidémies.

4. Les bactéries opportunistes

Les bactéries opportunistes ne donnent habituellement pas de maladie chez les sujets sains. Elles sont dangereuses pour les personnes dont le système immunitaire est affaibli:

- immunodéprimés (par ex. avec le SIDA)
- suite à une maladie
- pendant une antibiothérapie

- sous médicament ayant un effet immunosuppresseur comme la cortisone en usage oral.

Les bactéries opportunistes sont en général responsables de maladie suite à la colonisation (accidentelle) du site. Elles provoquent: pneumonie, infection urinaire, infection du cathéter... Parfois, secondairement, il y a généralisation avec le développement rapide d'une septicémie qui peut conduire à des localisations plus profondes: endocardite, abcès profond, ostéites, méningites... Les bactéries opportunistes jouent un rôle important dans les hôpitaux. Ce sont les infections nosocomiales ou les cas d'hospitalisme. Les patients ont souvent un système immunitaire affaibli et dans l'hôpital vivent des souches de bactéries devenues résistantes à plusieurs antibiotiques par sélection au contact des différents traitements utilisés dans l'institution (**Favet, 2014**).

Les bactéries pathogènes opportunistes sont issues d'une multitude de réservoirs bactériens. On a donc des bactéries issues de la flore commensale (microbiote) de l'homme (peau, muqueuse oro-pharyngée, muqueuse vaginale et tube digestif) et des bactéries issues de l'environnement (eau, sol, végétaux et animaux). (**Chanoine et al., 2013**). Parmi l'ensemble des bactéries constituant notre flore commensale, certaines espèces sont des pathogènes opportunistes. Normalement asymptomatiques, voire bénéfiques, elles peuvent dans certaines conditions être la cause d'infections particulièrement sévères ainsi :

- *Streptococcus agalactiae* (streptocoque du groupe B ou SGB) est une bactérie commensale du tube digestif et du tractus vaginal mais est également la principale cause d'infections invasives (septicémie et méningite) chez les nouveau-nés en France. La détection systématique de *Streptococcus agalactiae* et un traitement antibiotique prophylactique au moment de l'accouchement ont permis de limiter l'incidence des infections néonatales sans toutefois les éradiquer. La mortalité liée à ces infections reste élevée (50 à 100 décès par an en France), et malgré l'antibiothérapie, 25 à 40% des enfants qui survivent gardent des séquelles neurologiques.
- méningocoque (*Neisseria meningitidis*) qui est présent dans la flore du nez et du pharynx, et qui ne provoque une méningite qu'exceptionnellement (un porteur sain sur 10 000 déclenche une méningite).

5. Les infections nosocomiales

Une infection nosocomiale est une infection contractée dans un établissement de soins. Si l'infection apparaît très tôt, moins de 48h après l'admission, on en déduit généralement que l'infection était en incubation au moment de l'admission, et qu'elle n'a

vraisemblablement pas pu être contractée dans l'établissement de soins. L'infection n'est alors pas considérée comme nosocomiale. A l'inverse, une infection qui se révèle après la sortie de l'établissement de soins peut très bien être nosocomiale. On ne considère que toute infection du site opératoire qui se révèle dans les 30 jours suivant une intervention chirurgicale soit a priori nosocomiale, c'est à dire sauf démonstration du contraire. Ce délai est porté à un an pour les infections survenant en cas de mise en place de matériel prothétique (prothèse articulaire, matériel métallique de fixation ou de suture).

5.1. Principaux agents infectieux rencontrés dans les infections nosocomiales

Globalement, les principaux germes retrouvés dans les infections nosocomiales sont les bactéries à Gram négatif dont le principal réservoir est l'humain (tube digestif). Les autres bactéries responsables des infections nosocomiales sont les germes Gram positif qui sont responsables de la majeure partie des infections liées aux cathéters, des infections de plaies et en partie des pneumonies. Les champignons représentent une faible partie des infections nosocomiales mais sont de plus en plus fréquentes. Les virus représentent environ 5% des infections nosocomiales et l'homme est l'unique réservoir en milieu hospitalier. Les principaux virus responsables d'infections nosocomiales sont les virus de l'hépatite B et C, le virus HIV, de la varicelle, le virus syncytial respiratoire en pédiatrie et virus de la grippe. Les bacilles Gram négatif sont responsables d'environ 50% des infections nosocomiales. Leur principal réservoir est humain mais peut être environnemental en raison de la capacité de certains germes Gram négatif (*Pseudomonas*, *Enterobacter*) à proliférer en milieu aqueux. Ils sont responsables avant tout d'infections urinaires, mais également pulmonaires et de plaies. Les bactéries Gram positif représentent environ 25% des infections nosocomiales. Les staphylocoques sont responsables d'environ 15% des infections nosocomiales et l'homme est le principal réservoir. On le retrouve principalement dans les infections de plaies et dans les bactériémies sur infection de cathéter intraveineux et dans les infections de matériel prothétique (orthopédie et cardiovasculaire). Environ 10 % des infections nosocomiales sont dues à des streptocoques et en particulier d'entérocoques retrouvés dans les infections urinaires et de plaies. Les entérocoques font partie de la flore digestive et peuvent coloniser par continuité le système urinaire et la peau. Les germes anaérobies, principalement responsables d'infections abdominales (cutanées et respiratoires à un moindre degré) sont retrouvés dans moins de 5% des cas. Le *Clostridium difficile* est le plus fréquent et est responsable de diarrhées associées aux antibiotiques (**Figure 4**).

Les champignons ont pris également une importance croissante avec l'utilisation d'antibiotiques à large spectre qui déséquilibrent la flore habituelle, de chimiothérapie et de l'alimentation parentérale. Certaines infections abdominales sont un autre facteur de risque, surtout pour les Candida (**Petignat, 2005**).

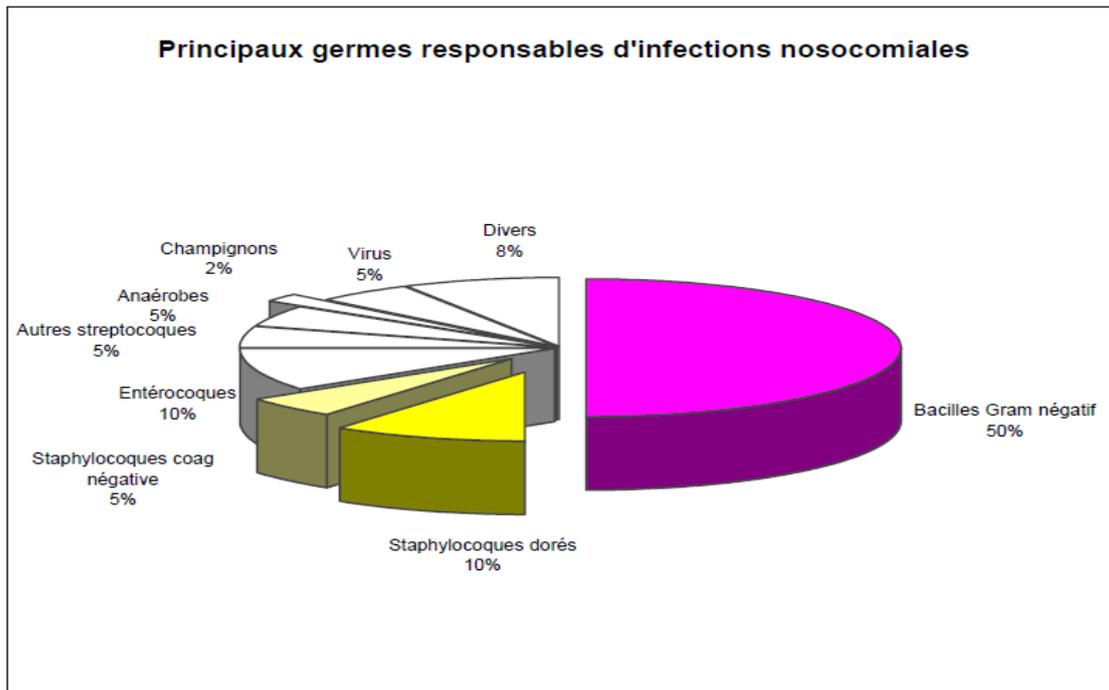


Figure4 : Principaux germes responsables d'infection nosocomiales et leur fréquence.

1. Origines des actinomycètes

Lot n°1 :

Vingt et une souches actinomycétales ont été aimablement fournies par la doctorante Hocinat Amira, laboratoire de biologie appliquée et santé. Ces souches ont été isolées à partir de deux écosystèmes (sols agricoles dans la région de Ain M'Lila et les boues activées de la station d'épuration des eaux usées d'El Athmania). Ces actinomycètes ont été conservés par congélation en présence de glycérol.

Lot n° 2 :

vingt isolats d'actinomycètes, ont été isolés à partir des sols de sebkhia de la région d'El-Oued dans le Sahara Algérien.

2. Revivification des souches d'actinomycètes

Les actinomycètes qui ont été isolés, purifiés puis conservés par congélation ont subi une revivification. 0.1 ml de chaque suspension bactérienne sont ensemencés en surface dans des boîtes de Pétri contenant le milieu GLM (**Annexe**). Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 28 °C pendant 21 jours.

3. Souches bactériennes tests

L'activité antibactérienne a été testée contre les bactéries rapportées dans le tableau 3:

Tableau3 : Caractéristiques des souches bactériennes tests.

Souches bactériennes	Gram des souches	Provenance des bactéries
<i>Streptococcus sp.</i>	+	Souche clinique
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	+	Souche de la collection Américaine ATTC Résistante à la méthicilline
<i>Proteus mirabilis</i>	-	Souche clinique
<i>Morganella sp</i>	-	Souche clinique
<i>Enterobacter sp</i>	-	Souche clinique
<i>Pseudomonas sp</i>	-	Souche clinique
<i>Proteus sp.</i>	-	Souche clinique

4. Souches fongiques tests

Candida albicans (souche clinique)

Aspergillus niger (phytopathogène)

Fusarium oxysporum (phytopathogène)

Aspergillus fumigatus (pathogène pour l'homme)

5. Etude de l'activité antibactérienne

5.1. Préparation des inocula de bactéries-tests

Pour chaque souche, un inoculum est réalisé sur gélose nutritive à partir d'une culture bactérienne de 24 heures. La densité cellulaire de cet inoculum a été ajustée par dilution dans de l'eau physiologique stérile, et comparée de visu avec la solution Mc Ferland, ce qui correspond à une concentration finale de 10^6 ufc/ ml.

5.2. Technique des disques d'agar (Tortorano *et al*, 1979)

Les 41 souches d'actinomycètes sont ensemencées en stries serrées à la surface de 15 ml de milieu GLM (glucose –extrait de levure –extrait de malte). Après 7 jours d'incubation à 28°C, des cylindres de gélose de 6 mm de diamètre sont prélevés et sont déposés à la surface du milieu Muller-Hinton préalablement ensemencé par les bactéries tests. Les boîtes de Pétri sont ensuite placées à 4°C pendant deux à quatre heures pour permettre une diffusion des substances actives puis elles sont incubées à la température de 37 °C pendant 24 heures.

5.3. Lecture

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

6. Etude de l'activité antifongique

La production de métabolites antifongiques par les souches d'actinomycètes est mise en évidence par la technique des cylindres d'agar en utilisant le milieu Sabouraud.

6.1 Préparation des inocula

6.1.1 Inoculum levurien

On réalise une suspension dense en eau physiologique stérile à partir de culture de 48h à 37°C sur milieu de Sabouraud (PH =7).Après avoir introduit 3-5ml d'eau physiologique on agite avec le vortex puis on dilue convenablement une partie aliquote de cette suspension mère afin d'obtenir une densité optique à 623nm, comprise entre 0.14et 0.16 (ce qui correspond à environ 10^6 levures/ml) (**Bastide et al.,1986**)

6.1.2 Inoculum fongique

Les champignons filamenteux sont repiqués sur milieu GYEA et incubés à 28°C pendant 14 à 21 jours. Une suspension dense de spores est Obtenue par addition de l'eau physiologique. La suspension est diluée de manière à obtenir une densité optique à 623 nm comprise entre 0.18-0.20 (environ 10^6 spores /ml)(**Bastide et al.,1986**)

6.2. Mise en évidence des activités antifongiques

La production de métabolites antifongiques par les souches d'actinomycètes est mise en évidence par la technique des cylindres d'Agar en utilisant les milieux PDA et Sabouraud pour les champignons et Müller Hinton pour la levure. L'incubation se fait à 37°Cpendant 24 à 48 heures pour les levures et à 28°C pendant 3 jours pour les champignons filamenteux.

6.3. Lecture

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

1. Activité antibactérienne

1.1. Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir du sol agricole.

Les résultats de l'activité antibactérienne vis-à-vis des souches bactériennes tests sont reportés dans le tableau 4.

Tableau 4:Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir du sol agricole.

	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	<i>Entérobacter</i> <i>sp</i> (soucheclinique)	<i>Streptococcus</i> <i>sp</i> (souche clinique)	<i>Pseudomonas sp</i> (souche clinique)	<i>Acinetobacter</i> <i>sp</i> (souche clinique)	<i>Proteus</i> <i>sp</i> (Souche clinique)	<i>Morganella</i> <i>sp</i> Souche clinique)
SA55	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	+ (8)	- (6)	-(6)
SaiGN	- (6)	- (6)	- (6)	+ (11)	- (6)	- (6)	-(6)
SA14	- (6)	- (6)	- (6)	+ (20)	-(6)	- (6)	-(6)
SaiC	+ (12)	- (6)	- (6)	+ (16)	- (6)	- (6)	-(6)
SA3	- (6)	- (6)	+(10)	+(15)	-(6)	- (6)	-(6)
SA10	- (6)	+ (18)	+ (15)	+ (13)	- (6)	+ (16)	-(6)
Sai4x	- (6)	- (6)	+ (28)	- (6)	- (6)	- (6)	+ (14)
SA31	- (6)	-(6)	- (6)	+ (22)	- (6)	- (6)	-(6)
SAi2BX	- (6)	(12)	- (6)	- (6)	+ (20)	- (6)	-(6)
S31	- (6)	- (6)	- (6)	+ (12)	- (6)	- (6)	+ (14)
SAiB1	- (6)	-(6)	-(6)	+ (17)	-(6)	- (6)	-(6)
Sai9x	- (6)	- (6)	-(6)	+ (10)	- (6)	- (6)	+(7)
SaiXB	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	-(6)	- (6)	-(6)
Sai3B	- (6)	- (6)	+ (13)	- (6)	- (6)	+ (11)	-(6)
SAi2BX (3)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	-(6)	-(6)

= 6mm : activité négative,> 6mm : activité positive

D'après le **tableau 4**, sauf pour les isolats SAixB, SAi2BX(3), tous les isolats ont montré une activité antibactérienne contre au moins une bactérie test .Les sept souches SA55 ; SAiGN, SA14, SA31, S31, SAiB1, SAi9X sont actives uniquement contre des bactéries à coloration de Gram négatif. Alors que les six souches restantes sont actives à la fois contre des bactéries à coloration de Gram positif et négatif.

Les deux plus grandes zones d'inhibition ont été obtenues par la souche SAi4X contre *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, avec un diamètre de 30 mm et contre *Streptococcus* avec un diamètre de 28 mm. Alors que la plus petite zone est observée avec la souche SAi9x contre *Morganella sp* (Souche clinique) avec une zone d'inhibition de 7 mm de diamètre(**Figure5 et 6**).La comparaison entre la sensibilité des bactéries testées vis-à-vis des substances bioactives sécrétées par nos isolats est représentée dans le **tableau5**.

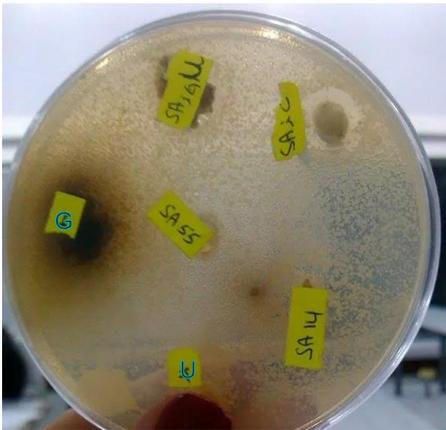


Figure 5 : Activité antibactérienne de la souche SAiC contre *Staphylococcus aureus* ATCC 43300



Figure 6 : Activité antibactérienne des souches SA14, SA3, SA31 contre *Pseudomonas* sp

Tableau 5: Sensibilité des souches testées vis-à-vis des substances antibactériennes sécrétées par les différents actinomycètes isolés à partir de sol agricole

Souche test	<i>Staphylococcus aureus</i>	Entérobactériens p	<i>Streptococcus</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp	Acinetobacter sp	<i>Proteus</i> p	<i>Morganella</i> sp
Actinomycètes actifs	2	2	4	9	2	2	3

Neuf souches d'actinomycètes sont actives contre *Pseudomonas sp.* Ce qui nous amène à dire que c'est la bactérie la plus sensible, suivie par *Streptococcus* avec quatre souches d'actinomycètes actives. Tandis que les plus résistantes sont *Proteus*, *Acinetobacter*, *entérobactériens* et *Staphylococcus aureus* avec seulement deux isolats actifs.

1.2. Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir des boues activées

Les résultats de l'activité antibactérienne des actinomycètes qui proviennent des boues activées vis-à-vis des souches bactériennes tests sont reportés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Activité antibactérienne d'actinomycètes isolés à partir des boues activées

Souche test	<i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC 43300	<i>Entérobacter</i> sp souche clinique	<i>Streptococcus</i> sp souche clinique	<i>Pseudomonas</i> sp souche clinique	<i>Acinetobacter</i> sp souche clinique	<i>Proteus</i> sp souche clinique	<i>Morganella</i> sp souche clinique
G	-(6)	-(6)	-(6)	+ (24)	+(7)	+(14)	-(6)
U	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	+(12)	-(6)	-(6)
V	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
F	-(6)	-(6)	-(6)	+ (14)	-(6)	-(6)	-(6)
S	-(6)	-(6)	+ (10)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
X	+ (20)	-(6)	-(6)	+(16)	-(6)	+ (12)	-(6)

= 6mm : activité négative, > 6mm : activité positive

Les résultats indiqués dans le tableau 6 montrent que les trois souches G, U, F sont actives uniquement contre des bactéries à Gram négatif. Tandis que la souche S agit sur une bactérie à Gram positif seulement. La souche X est active à la fois contre des bactéries à coloration de Gram positif et négatif. La souche V n'est pas active contre toutes les bactéries testées.

Les deux plus grandes zones d'inhibition sont obtenues par la souche G contre *Pseudomonas* sp avec un diamètre de 24 mm (**Figure 7**). La souche X est active contre *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 avec un diamètre de 20mm.



Figure 7 : Activité antibactérienne de la souche S contre *Pseudomonas* sp

La sensibilité des bactéries testées vis-à-vis des substances bioactives sécrétées par les isolats d'actinomycètes isolés des boues activées est représentée dans le **tableau 7**.

Tableau 7: Sensibilité des différentes bactéries tests vis-à-vis des substances antibactériennes sécrétées par les actinomycètes isolés à partir des boues activés

Souche testes	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Entérobacter sp</i>	<i>Streptococcus sp</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>Morganella sp</i>
Actinomycètes actifs	1	0	1	3	2	2	0

Sur les sept bactéries tests étudiées, *Entérobacter sp* et *Morganella sp* apparaissent comme les souches les plus résistantes, alors que *Pseudomonas sp* est la plus sensible aux antibactériens produits par nos actinomycètes.

1.3. Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir de Sebkh

Les résultats de l'activité antibactérienne des actinomycètes qui proviennent de la Sebkh d'El-Oued vis-à-vis des souches bactériennes tests sont représentés dans le tableau 8.

Tableau 8: Activité antibactérienne d'actinomycètes isolés à partir de la Sebkh d'El-Oued

	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Entérobacter sp</i>	<i>Streptococcus sp</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>Morganella sp</i>
S1	+(10)	- (6)	-(6)	+(14)	-(6)	-(6)	-(6)
Sol	+(15)	+(15)	- (6)	+(12)	+(10)	+(11)	- (6)
Sels S ₁₆	+(20)	-(6)	-(6)	+(14)	- (6)	+(14)	- (6)
SS-6 ISP ₅ SH ₁	- (6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
SS-6 ISP ₅ SH ₃	+(12)	- (6)	+(11)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
Sels	+(16)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
Sol 20	+(40)	-(6)	-(6)	-(6)	+(12)	+(14)	- (6)
Sol 15 S ₁₄	+(12)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)

S-20-4	+(21)	- (6)	+(12)	- (6)	+(10)	- (6)	+(29)
SS10 ⁵ ISP ₂ SH ₆	-(6)	-(6)	+(14)	-(6)	-(6)	+(10)	- (6)
SP10 ⁶ ISP ₂ SH ₇	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	+(10)	- (6)
Sel ₂₂	- (6)	+(32)	+(20)	+(30)	+(35)	- (6)	+(32)
-5	+(28)	- (6)	+(15)	-(6)	-(6)	-(6)	+(17)
Sel S ₁₅	+(8)	+(17)	- (6)	+(20)	-(6)	-(6)	+(30)
SS-5 ISP ₅ SH ₄	- (6)	- (6)	+(25)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
Sol S ₁₈	-(6)	-(6)	-(6)	+(15)	- (6)	+(20)	- (6)
SS-6 ISP ₅ SH ₅	- (6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	+(30)	- (6)
Sol ₂₀ S ₁₇	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
SS-5 ISP ₅ SH ₂	+(15)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	+(10)
B ₆ S ₁₉	- (6)	+(25)	- (6)	+(17)	- (6)	+(40)	+(37)

= 6mm : activité négative,> 6mm : activité positive

D'après le tableau 8 les souches SS-6 ISP₅SH₅, Sol S₁₈, et SP10⁶ISP₂SH₇ présentent une activité antibactérienne vers les bactéries tests à coloration de Gram négatif seulement. Alors que les souches Sels, Sol₁₅ S₁₄, SS-6 ISP₅SH₃, SS-5 ISP₅SH₄ agissent sur les bactéries à Gram positif seulement. Les deux souches SS-6 ISP₅SH₁ et Sol₂₀ S₁₇ n'ont pas d'activité antibactérienne détectée. Les 12 souches restantes sont actives à la fois contre des bactéries à coloration de Gram positif et négatif. Les plus grandes zones d'inhibition ont été obtenues par les deux isolats Sol₂₀ contre *Staphylococcus aureus* et B₆ S₁₉ contre *Proteus sp* avec le même diamètre de 40 mm. L'isolat B₆S₁₉ contre *Morganella sp* est actif avec un diamètre d'inhibition de 37 mm. La plus petite zone est observée avec l'isolat

Sel S15 contre la bactérie *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 8 mm (Figure 8, 9,10).



Figure 8 : Activité antibactérienne des isolats Sel22, Sel S15,-5 contre *Staphylococcus aureus*



Figure 9 : Activité antibactérienne des isolats Sels, Sol20, SS10⁻⁵ ISP₂ SH₆ contre *Streptococcus sp*



Figure 10 : Activité antibactérienne de l'isolat Sol20 contre *Staphylococcus aureus*

La sensibilité des bactéries testées vis-à-vis des substances bioactives sécrétées par les isolats d'actinomycètes isolés à partir de la sebkha est représentée dans le **tableau 9**.

Tableau 9: Sensibilité des souches testées vis-à-vis des substances antibactérienne secrétées par les différents actinomycètes isolés à partir de la sebkha.

Souche tests	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Entérobacter</i> sp	<i>Streptococcus</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>Acinetobacter</i> sp	<i>Proteus</i> sp	<i>Morganella</i> sp
Actinomycètes actifs	11	4	6	7	4	8	6

Sur les sept bactéries tests étudiées, *Acinetobacter sp* et *Proteus sp* apparaissent comme les souches les plus résistantes, alors que *Staphylococcus aureus* est la plus sensible aux antibiotiques produits par les actinomycètes étudiées.

La mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'ensemble des actinomycètes de cette collection (15souches isolées à partir du sol agricole, 6 souches à partir des boues activées et 20 souches d'une sebkha). Les résultats indiquent que sur les 41souches d'actinomycètes testées, 36soit exactement (87.80%) présentent une activité vis-à-vis d'au moins une bactérie test. Ce résultat est très encourageant, il montre que nos écosystèmes peuvent offrir des actinomycètes possédant des activités antibactériennes importantes. Les résultats indiquent aussi que la moyenne des diamètres des zones d'inhibition varie d'un écosystème à un autre. Il est intéressant de signaler que les plus grandes valeurs des zones d'inhibition sont enregistrées avec les souches isolées à partir de la sebkha.

Gayathriet al., 2011 ont isolé des actinomycètes à partir de différents échantillons de sol de la sebkha de Kenadsa et confirment que les actinomycètes isolés à partir de ces milieux extrêmes possèdent un pouvoir antimicrobien remarquable par rapport à leurs homologues isolés à partir des milieux naturels normaux (rhizosphère, eau douce, sol floristique, ...etc.).

Selon ces mêmes résultats, les deux souches *Pseudomonas sp* et *Staphylococcus aureus* présentent une grande sensibilité aux antibiotiques produitspar les actinomycètes. Bien que ces souches sont considérées comme des souches très résistantes aux antibiotiques.

Le *Staphylococcus aureus* est la cause d'un grand nombre d'infections sévères, telles que les septicémies, les endocardites, les pneumonies, les infections des tissus mous, des os et des articulations. Malgré un traitement approprié, la mortalité due à ces infections à Staphylocoques dorés reste élevées elles atteignent (20 à 30 %). Aujourd'hui, 90 % des

souches de *Staphylococcus aureus* sont non seulement résistantes à la pénicilline G mais aussi aux pénicillines à large spectre (CARBON *et al.*, 1991). En Algérie, le taux de résistance à la pénicilline G est d'environ 12,5 % (Smati *et al.*, 1994). Les pourcentages de résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus* (SARM) étaient les plus élevés dans les pays du Sud de l'Europe (la Grèce 44 %, l'Italie 38 %, le Portugal 38 %, la France 33 % et l'Espagne 23 %). Comparé à 2001, les pourcentages de SARM en 2002 étaient demeurés identiques pour la France mais avaient augmenté (de 19 à 22 %) pour l'ensemble de ces pays.

L'usage intensif des antibiotiques, surtout en milieu hospitalier, a conduit aussi à une sélection fréquente de souches de *Pseudomonas aeruginosa*, résistante à la majorité des antibiotiques (Véron, 1990). L'utilisation importante de la ciprofloxacine a été associée à une baisse de sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Le nombre de souches de sensibilité a diminué (Véron, 1990).

D'après les résultats obtenus dans notre étude, il est très probable que les actinomycètes isolés à partir des trois écosystèmes extrêmes étudiés, offrent de nouvelles molécules bioactives qui agissent sur les bactéries résistantes en question.

2. Activité antifongique

2.1. Activité antifongique des actinomycètes isolés à partir du sol agricole

Tableau 10: Activité antifongique des actinomycètes isolés à partir du sol agricole.

	Champignon			Levure
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Candida albicans</i>
SAiGN	-	-	+	-
SAi3B	-	-	+	-
SA 55	-	-	+	-
SAiXB	+	+	+	-
SAiC3	+	+	+	+
SAi9x	-	-	+	-
SA3	+	+	+	-
SA31	-	-	+	+
SA14	+	+	+	+
SAiB1	+	+	+	-
SAi4x	+	-	+	-
SAi2BX	+	-	+	-
SA10	-	-	+	-

(-) : pas d'inhibition, (+) : présence d'inhibition.

Les 13 souches d'actinomycètes ont présenté une activité antifongique vis-à-vis d'au moins une souche test utilisée (Tableau 10). Les deux souches SA14 et SAiC3 sont actives sur les trois champignons et la levure. Cependant, *Candida albicans* présente une résistance aux antifongiques produits par la plupart des actinomycètes, alors que *Fusarium oxysporum* est le plus sensible (Figures 11, 12, 13 et 14).



Figure 11 : Activité antifongique des actinomycètes du sol agricole contre la levure contre *Candida albicans*



Figure 12 : Activité antifongique des actinomycètes du sol agricole *Fusarium oxysporum*



Figure 13 : Activité antifongique des actinomycètes du sol agricole contre *Aspergillus niger*

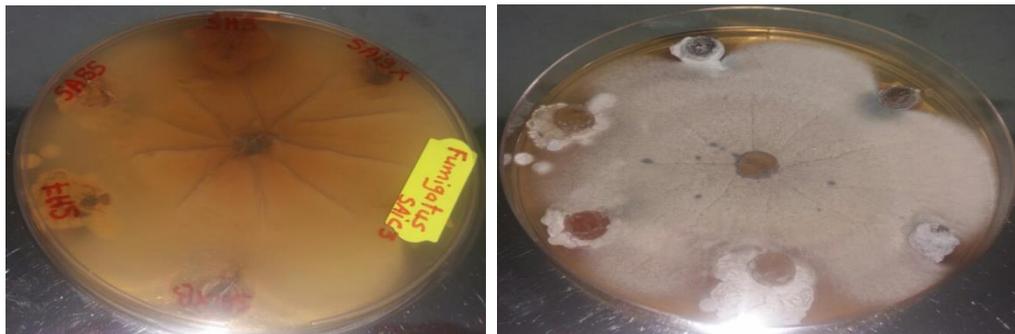


Figure14 : Activité antifongique des actinomycètes du sol agricole contre *Aspergillus fumigatus*

2.2. Activité antifongique des actinomycètes isolés à partir des boues activées

Tableau 11 : Activité antifongique d'actinomycètes isolés à partir des boues activées

	Champignon			Levure
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Candida albicans</i>
G	+	+	+	+
U	+	+	+	-
V	+	-	+	-
F	-	+	+	-
S	+	-	+	-

(-) : pas d'inhibition, (+) : présence d'inhibition.

La souche G est active contre *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporum* et *Candida albicans* (**Tableau 11**). *Fusarium oxysporum* est le plus sensible alors que *Candida albicans* est la plus résistante aux antifongiques (**Figure 15, 16, 17 et 18**).



Figure 15 : Activité antifongique des actinomycètes des boues activées contre *Fusarium oxysporum*

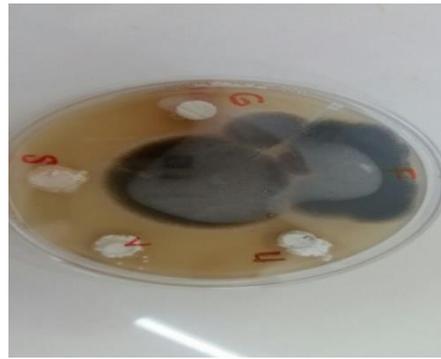


Figure 16: Activité antifongique des actinomycètes des boues activées contre *Aspergillus niger*



Figure 17: Activité antifongique des actinomycètes des boues activées contre *Candida albicans*

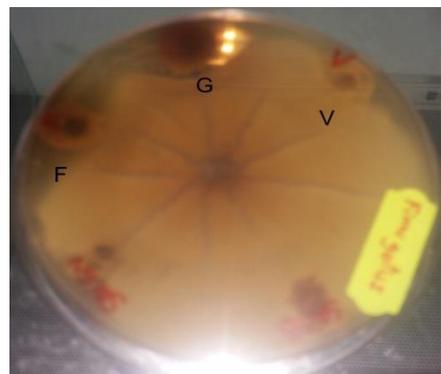


Figure 18: Activité antifongique des actinomycètes des boues activées contre *Aspergillus fumigatus*

Les champignons et les levures causent de graves pathologies qui touchent l'homme, parmi lesquelles on peut citer les mycotoxicoses (causés par *Aspergillus* et *Fusarium*), les mycoallergies (*Penicillium* et *Mucor*) et les mycoses superficielles ou profondes (dont les agents causals sont *Candida albicans*, *Microsporium* et *Trichophyton*) (Drouhet 1978). Les mycoses ont augmenté ces dernières années d'une manière drastique et se classent au quatrième rang dans les infections nosocomiales. (Beck-Saguè et Jarvis, 1990).

Parmi les molécules à activité antimicrobienne, la gamme des antifongiques est beaucoup plus restreinte que celles des antibactériens (Domenico, 1999). Les travaux de Hacène *et al.*, 1994, démontrent que 11,18 % de l'ensemble des actinomycètes isolés du sahara Algérien ont une activité antifongique. Les travaux de Hilali *et al.*, 2002 confirment également les mêmes résultats. L'arsenal en molécules antifongiques est donc très pauvre à cause de la rareté des organismes producteurs de ce type de substance. Par conséquent, les recherches dans ce domaine doivent continuer afin de palier à ce manque flagrant.

Nos résultats indiquent que 18 souches actinomycétales isolées des boues activées et du sol agricole ont montré une nette performance à produire des molécules à activité antifongique. Nous n'avons constaté que deux souches dénommées SA14 et SAiC3 isolées à partir de sol agricole qui semblent être les plus actives contre la totalité des champignons tests et même contre la levure *Candida albicans*. Il est intéressant de noter que ces résultats sont captivants et méritent d'être poursuivis.

CONCLUSION

La résistance microbienne aux molécules constitue un problème important lorsqu'elle concerne des microorganismes pathogènes. Cette résistance se traduit par la capacité acquise d'un microorganisme à résister aux effets d'un agent chimio thérapeutique pour lequel il est normalement sensible; la propagation de ses bactéries est devenue une préoccupation sanitaire majeure.

La recherche de nouvelles substances antimicrobiennes dont le spectre d'activité serait plus large tout en étant moins agressif pour l'hôte semble toujours indispensable. Parmi les nombreuses propriétés des actinomycètes, leur capacité à produire une variété de substances intéressantes, dont les antibiotiques. Ceux-ci ont été largement étudiés surtout chez le genre *Streptomyces*, largement dominant dans de nombreux écosystèmes dits non rude ou extrêmes.

Ainsi, la recherche de nouveaux écosystèmes pour l'isolement d'actinomycètes est crucial pour la découverte de nouvelles espèces et par conséquent la découverte de nouveaux produits naturels bioactifs (**Hozzein et al, 2008**).

C'est dans cette optique, que nous avons orienté notre recherche. Ainsi, dans nos résultats de l'activité antibactérienne des actinomycètes antérieurement isolés à partir des sols de sebkha, des boues activées et des sols agricoles, montrent qu'environ 90 % de ces souches sont actives. Environ 32 % proviennent du sol agricole d'Ain M'Lila, 12 % des boues activées et 46 % de Sebkha.

Les souches d'actinomycètes testées inhibent deux bactéries très résistantes à savoir *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas*.

Concernant l'activité antifongique la plus part des actinomycètes isolés à partir des boues activées et du sol agricole, présentent une activité importante contre *Aspergillus niger* et *Fusarium Oxysporum* tandis que seulement quatre souches actinomycétales sont actives contre la levure *Candida albicans* qui apparait comme la souche la plus résistante.

Nos résultats sont intéressants et montrent clairement que les actinomycètes qui proviennent des écosystèmes extrêmes sont très actifs contre les bactéries et les champignons les plus résistants. Ces recherches méritent d'après nous, des études

approfondies. Nous espérons rechercher les actinomycètes dans d'autres écosystèmes inexplorés afin d'augmenter les chances de trouver des molécules innovantes qui possèdent un potentiel important. Nous espérons également dans l'avenir, identifier au niveau de l'espèce et par des méthodes moléculaires, les actinomycètes actifs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **Aouiche**, Adel and Sabaou, Nasserline and Meklat, Atika and Zitouni, Abdelghani and Mathieu, Florence and Lebrihi, Ahmed. Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp. PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxinogènes résistants aux antibiotiques. (2012) *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, vol. 22 (n° 1). pp. 42-51. ISSN 1156-5233.
- **Avril**, J, L., & al. 1992. *Bactériologie clinique*. 2 éd. Paris : ellipses. Pp. 511.

B

- **Badji**. B, Zitouni, A. Mathieu, F. Lebrihi, A. et Sabaou, N. (2006). Composés antimicrobiens produits par *Actinomadura* Sp. AC104 isolé dans un sol saharien algérien, NRC Canada, p 373.
- **Bastide**,A.,M.de Méo.,M ,Andriantsoa,M,Laget et G.Duménial.(1986).isolement et sélection de souche d'actinomycètes productrice de substance antifongiques de structure non-polyénique.laboratoire de microbiologie .faculté de pharmacie .MIRCEN journal ,1986,2,p 453-466
- **Beckers**.h. J. A. Van Der Hoeven. J. S. 1982.Growth Rates of *Actinomyces viscosus* and *Streptococcus mutans* During Early Colonization of Tooth Surfaces in. Gnotobiotic Rats. *Infection and immunity*. Vol. 35. N°. 2. Pp: 583-587.
- **Beck-sagué** C, jarvis WR.secular trends in the epidimiology of nosocomial fungal infections in the united states 1980-1990.*J Infect Dis* 1993; 167:1247-51.
- **BELYAGOUBI** Larbi. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, P 143.
- **Benouaguénia**.S, Ranque.S, D. Gacemi Kiranea. (2014). Étude d'une souche *Streptomyces yatensis* isolée des eaux du lac El Mellah, nord-est de l'Algérie productrice d'un antifongique non polyénique. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology* .Volume 25, Issue 1, March 2015, Pages 2–10.
- **Berdy**, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot (Tokyo)* 58. Pp: 1-26.
- **BOUSSABER** Elarbi, Kadmiri Issam Meftah, Hilali Lahoucine, Hilal Abderraouf. (2012). Comparaison de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes

isolées de milieux variés. ScienceLib Editions Mersenne : Volume 4, N ° 121203
ISSN 2111-4706.

- **Briand.** Y. M. 2009. Une histoire de la résistance aux antibiotiques: à propos de six bactéries. L'Harmattan : Paris. Pp : 360.

C

- **CARBON C., POCIDALO J.J.and CREMIEUX A.C.,** 1991. les inhibiteurs des β -lactamase. Journée de pharmacologie clinique U.E.R Xavier BICHAT, Paris, France. Edition Arnette., 103. 120- PORTO A. L. F., AMPOS-TAKAK
- **Choulet.** F. (2006). Evolution du génome des Streptomyces : transfert horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy 1, pp 210.
- **Conn.** V.M. (2005). Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University.

D

- **Dairi.** T. (2005). Studies on Biosynthetic Genes and Enzymes of Isoprenoids Produced by Actinomycetes. J. Antibio, 58 (4), 227-243.
- **Demain** AL. Antibiotics: Natural products essential to human health. *Medicinal Research Reviews.* 2009;29:821-842.
- **Demain** A.L; et Lancini G. (2006). Bacterial pharmaceutical products in procaryotes 1, 812-833.
- **Desnottes** J.F. (1995). Recherche de nouveaux antibactériens, évolution des méthodes d'évaluation microbiologique. Bull.Soc.Fr. Microbial.
- **Dgigal.** 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.
- **Di Domenico** B. Novel Antifungal drugs curr opin Microbial 1999;2:509-15.
- **Dietera,** A., Hamm, A., Fiedler, H. P., Goodfellow, M., Muller, W. E., Brun, R. et Bringmann, G. 2003. Pyrocoll, an antibiotic, antiparasitic and antitumor compound produced by a novel alkalophilic Streptomyces strain. J. Antibiot. 56: 639-646.
- **Données OMS.** (1997). "Principales causes de mortalité dans le monde en 1996".
- **Drouhet.** E. Antifungal agents. Antibiot chemother 1978; 25:253-88.

- **Duraipandiyan** .V, A.H. Sasi, V.I.H. Islam, M. Valanarasu, S. Ignacimuthu. (2009). Antimicrobial properties of actinomycetes from the soil of Himalaya. *Journal de Mycologie Médicale*.

E

- **El-Shatoury**. S; Mitchell. J; Bahgat. M; and Dewedar. A. (2004). Biodiversity of Actinomycetes in a Constructed Wetland for Industrial Effluent Treatment. *Actinomycetologica*, 18 (1), 1-7.

G

- **Gayathri** A; Madhanraj P; and Panneerselvam A. 2011. Diversity, Antibacterial Activity And Molecular Characterization of Actinomycetes Isolated From Salt Pan Region of Kodiakarai, Nagapattinam DT. *Asian J. Pharm. Tech.* Vol: 1. N° 3. Pp: 79-81.
- **Gomes**, RC, Semêdo LTAS, Soares RMA, Alviano CS, Linhares LF and Coelho RR (2000) Chitinolytic actinomycetes from a Brazilian tropical soil active.
- **Goodfellow** M., O'donnell A.G. (1992). Search and discovery of industrially-significant Actinomycetes. In: *Microbial products: new approaches*. Cambridge University Press, Cambridge
- **Goodfellows** M., Williams S.T., 1983. Ecology of Actinomycètes. *Ann.Rev.Microbiol.* 37, 189-216.
- **Grigorova**, R., Norris, J.R. (Editors) (1990). Techniques in microbial ecology. *Methods in Microbiology*, Vol. 22. Academic Press, London, pp. 627.

H

- **Higashide** E. (1984). "The macrolides: properties, biosynthesis and fermentation" *Drugs pharm.Sci*, 22, pp. 452-508.
- **Hiltner** L (1904) Uber neue Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderes Berucksichtigung der Grundugungen und Brauche. *Arb Dtsch Landwirt Ges Berl* 98:59–78
- **Hozzein** WN, Ahmed MB, Abdel Tawab MS. (2008). Microbial community structure in a wastewater treatment plant in Beni-Suef City. *New Egypt. J. Microb.* 20: 189-201.

I

- **Imada.** C; Koseki. N; Kamata. M; Kobayashi. T; and Hamada-Sato. N. (2007). Isolation and characterization of antibacterial substances produced by marine actinomycetes in the presence of seawater. *Actinomycetologica*, 21 (1), 27-31.
- **Isu** N.R., Onyeagba R.A. 2002. Basic practicals in Microbiology. 2nd edition. Fasmen Communication, Okigwe. 25-45.
- **Iwai** Y., Takahashi Y. (1992). "Selection of microbial sources of bioactive compounds" in «The search for bioactive compounds from microorganisms», Springer-Verlag, New York, (Ed.), pp. 281-302.

J

- **Jean-Jacques**, S. et T. Martha. 1997. Substances bioactives produites par les actinomycètes et stratégie de sélection de souches. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* 12: 269-276.
- **Jocelyne** Favet. (2014). Ces microbes qui veulent vivre avec nous. Séminaire de microbiologie Pp2.
- **Jihani**, Siham. (2013). Isolement et identification moléculaire de souches d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de biotopes marocains et caractérisation partielle des principes actifs. DART-Europe E-thèses Portal.

K

- **Khachatourians.** G.G. (1998). Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *Can. Med. Assoc. (CMAJ)* 159 (9), 1129-1136.
- **Khattabi** A, Hilali L, Dari K, Assobhei O, Gavini F. (2002). Isolement de microorganismes d'origine marine (Maroc) antagonistes de *Yersinia ruckeri* et *Yersinia pseudotuberculosis*. *Rev. Biol. Biotech.*;2:28–32.
- **Kim** S.B., Seong C.N., Jeon S.J., Bae K.S., et Goodfellow M., (2004). Taxonomic study of neurotolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil and description of *Streptomyces yeochonensis* sp.nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 54, 211-214.
- **Kumar.**A, Bohra.C, singh.C.K.(2003).Environment pollution and management. India: New delhi-110035(Ed), Pp532-534.

- **Kumar**, S., Kannabiran, k. (2010). Antifungal activity of *Streptomyces* VITSVK5 spp. against drug resistant *Aspergillus* clinical isolates from pulmonary tuberculosis patient. Biomolecules and Genetics Division, School of biosciences and Technology, VIT University, Vellore 632014, Tamil Nadu, India.

L

- **Larpent** JP, Sanglier JJ. (1989). In: *Biotechnologie des antibiotiques*. Paris: Ed. Masson. p.481.
- **Lechevalier**, H.A., Lechevalier, M.P. (1967). *Biologie of actinomycetes*. *Ann Rev Microbiol*, 21: 71–100.
- **Lechevalier**, H. (1985). *Biology of actinomycetes not belonging to genus Streptomyces* In: *Biology of industrial microorganisms*. The Benjamin Cummings Publishing Company, INC. pp 315–360.
- **Lechevalier** M.P. (1981). *Ecological associations involving actinomycetes*. In: *Actinomycetes*. Shaal and Pulverer (Eds.). *Zbl. Bakt. suppl.*, 11, 159-166.
- **Leif** C., Larson E., 2005. *Bounty from deep: an investigation of the antimicrobial properties of two species from phylum porifera: A thesis submitted in partial fulfilment of the Honours thesis, University of Winning.*
- **Lynch** JM (1990) *Introduction: some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil*. In: **Lynch** JM (Ed) *The rhizosphere*. Wiley, Chichester, pp 1–10.

M

- **Martin** JK, Kemp JR (1980) *Carbon loss from roots of wheat cultivars*. *Soil Biology and Biochemistry* 12:551-554.
- **McDermott** W, Muschenheim C, Hadley SJ, Bunn PA, et al. *Streptomycin in the treatment of tuberculosis in humans*. *Annals of Internal Medicine*. 1947; 27:769-822.
- **McKinney**. R.E. 2004. *Environmental Pollution Control Microbiology*. CRC Press : New York. Pp: 448.

N

- **Nakaew** NW, Pathom-aree and Lumyong S (2009) *Generic diversity of rare actinomycetes from Thai cave soils and their possible use as new bioactive compounds*. *Actinomycetologica*, 23: 21-26.

- **Nanjani.** S. G & **Soni.** H. P. 2011. Isolation and characterization of extremely halotolerant and halophilic organisms from dwarka and veraval. *Bioinformatica* .Vol: 1. N°: 1. Pp: 1-15.

O

- **Okami** Y, **Hotta** K., 1988. Search and discovery of new antibiotics, In: Goodfellow M, Williams ST, Mordarski M (Ed). *Actinomycetes in Biotechnology*. Academic Press, Inc., San Diego, 33-67.

P

- **Pizzul.**L. (2006). Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Actinomycetes. Thèse de Doctorat. Université d'Uppsala (Suède). pp 39
- **Prescott.** L. M, **Harley.** J. P, **Klein.** D. A. 2010. *Microbiologie*. De Boeck : Bruxelles. 2eme edition Pp 589.

R

- **Rakotoarimanga,** N., **Zananirina,** J., **Ramamonjisoa,** D., **Ramanankierana,** H. (2014) .Lutte biologique antifongique : actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum* L., 1753) pourri, Afrique SCIENCE, p243 – 255.
- **Rakotoniriana** E.F. (2006). Les microorganismes endophytes : sources potentielles de nouveaux taxa et de composés bioactifs. [Mémoire de DEA : Biologie et Ecologie Végétale] Antananarivo : Université d'Antananarivo, 48p.
- **Rangaswami.** G. **Bagyaraj.** D. J. **Bagyaraj** D.G. 2004. *Agricultural Microbiology*. PHI: New Delhi. Pp: 440.
- **Rastogi.** B. V, **Kishore.** B. 1997. *A Complete Course in ISC Biology*. Pitambar Publishing: New Delhi. Pp: 592.
- **Ravel,** J., **E. M. H. Willington** et **R. T. Hill.** 2000. Interspecific transfer of *Streptomyces* giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 529-534.

S

- **Singh**. S.L; Baruah. I; and Bora. T.C. (2006). Actinomycetes of Lake Loktat Habitat: Isolation and screening for Antimicrobial Activities. *Biotechnol.*, 5 (2), 217- 221.
- **Smaoui** S. (2010). Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, (France).
- **Smati** F., Laouar H., Khalifa F., Bentchouala C., Hacini A., Lezzar A. 1994. Résistance à la penicillin G de *Streptococcus pneumonia* responsable d'infections graves communautaires en Algérie. *Medecine des Maladies Infectieuses*. 24: 1190-2.
- **Smith** SE, Read DJ (1997) Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London, etc.
- **Soderberg** KH, Baath E (1998) Bacterial activity along a young barley root measured by the thymidine and leucine incorporation techniques. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(10-11): 1259–1268.
- **Stackebrandt**, E., Rainey, F.A., Ward-Rainey, N.L. (1997). Proposal for a new hierarchic Classification system, *Actinobacteria* classis Nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 47(2): 479–491.

T

- **Tiraby** G., Etienne G. 1983. L'avenir des streptomycetes. *Biofuture*, 15, 33-37.
- **Tomita**, K., M. Nishito, K. Sitoh, H. Yamamoto, Y. Hashino, H. Okhuma, M. Konishi, T. Miyaki et T. Oki. 1990. Pramimidins A, B and C: new antifungal antibiotics. I. Taxonomy, production and physico-chemical properties. *J. Antibiot.* 43: 755-762.
- **Tortorano** A.M., Cabrini E. et Viviani M.A. (1979) Sensibilité *in vitro* des levures acinq antibiotiques. Comparaison de deux methodes CMI en gélose et méthode des disques. *Bull Soc Fr Myc Med.* 8: 69-74.

V

- **Valan Arasu.M,** V. Duraipandiyan, P. Agastian, S. Ignacimuthu. (2008). Antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. ERI-26 recovered from Western Ghats of Tamil Nadu. *Journal de mycologie médicale*. Vol 18 - N° P. 147-153.
- **Véron M.** 1990. Pseudomonaceae. In : Le Minor. L., Véron M. *Bactériologie médicale*. Medecine-Sciences.Flammation. France. Ch. 22: 555-587.
- **Vijayakumar. R;** Muthukumar. C; Thajuddin. N; Panneerselvam. A; and Saravanamuthu. R. (2007). Studies on the diversity of actinomycetes in the Palk Strait region of Bay of Bengal, India. *Actinomycetologica*, 21 (2), 59-65.

W

- **Wahabi Imen.** (2014). Détection d'activités biologiques à partir des Actinomycètes: Recherche de Nouveaux Antibiotiques.Pp80.
- **Wang L;** Huang. Y; Liu. Z; Goodfellow. M & Rodriguez. C. 2006. *Sreptacidiphilus oryzae sp. Nov.* an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. In. *J. Sys. Ev. Microbiol.* Vol 56. Pp: 1257-1261.

Z

- **Zaitlin. B;** and Watson. S.B. (2006). Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: Myths, tenets and truths. 40 (9), 1741-1753.
- **Zvyagintsev. D. G;** Zenova. G. M; Sudnizin. I. I; Doroshenko. E. A. 2005. The Ability of Soil Actinomycetes to Develop at an Extremely Low Humidity. Vol: 405. Pp 461-463.

Les sites web

<http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/modalites-denvoi-des-souches-1.html>.

<http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/documents-presse/comment-le-streptocoque-devient-un-pathogene-chez-les-nouveaux-nés>.

<http://www.eurekasante.fr/medicaments/antibiotiques/mecanisme-action.html>.

<http://www.unige.ch/uni3/Ateliers/SeminaireBacteriologie/Cours2.pdf>.

http://www.hpci.ch/files/formation/hh_malinf-infno-epidemiologie.pdf.

<http://www.larecherche.fr/savoirs/dossier/fin-age-antibiotiques-01-11-1998-78164>.

www.ch-perpignan.fr/docs/site/...securite/les-infections-nosocomiales.pdf.

<http://canadienssante.gc.ca/drugs-products-medicaments-produits/antibiotic-resistance-antibiotique/illnesses-maladies-fra.php>.

sante.lefigaro.fr/sante/maladie/resistances-antibiotiques/principales-bacteries-multiresistantes.

http://coursl3bichat2012-2013.weebly.com/uploads/9/6/0/7/9607940/roneo_-_12_-_rono_2.pdf.

ANNEXES

Composition des milieux de culture utilisés pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique.**Milieu GYEA**

Extrait de Malt	10g
Extrait de levure	4g
Glucose.....	4g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml
PH = 7,2	

Milieu GLM

Extrait de Malt	3g
Extrait de levure	3g
Peptone	5g
Glucose	10g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml
PH = 7,2	

Milieu Muller-Hinton

Infusion de viande	300 g
Hydrolysate de caséine	17,5 g
Amidon	1,5 g
Agar	17 g
PH = 7,4	

Milieu Sabouraud

Agar.....	15g/l
Peptone	10g/l
Glucose.....	40g/l
PH = 7,0	

PDA (Potato Dextrose Agar):

Glucose20g

Agar20 g

Extrait de pomme de terre1000 ml

Préparation de l'extrait de pomme de terre: 200g de pomme de terre non pelée et vieille, sont lavés et coupés en petits dés, ensuite mis dans un litre d'eau distillée et porté à ébullition pendant une heure. Ils sont en fin écrasés, filtrés. Compléter à un litre d'eau distillée.

RESUME

L'évolution constante de la résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses justifient l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. Dans cette étude nous avons testé l'activité antimicrobienne des actinomycètes isolés à partir d'un sol agricole, des boues activées et d'une sebkha située dans le Sahara Algérien. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la technique des cylindres d'agar vis-à-vis de sept bactéries *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter sp.* (Souche clinique) *Streptococcus sp.* (Souche clinique) *Pseudomonas sp.* (Souche clinique) *Acinetobacter sp.* (Souche clinique) *Proteus sp.* (Souche clinique) *Morganella sp.* (Souche clinique) et trois champignons filamenteux *Aspergillus niger* (phytopathogène) *Fusarium oxysporum* (phytopathogène) *Aspergillus fumigatus* (pathogène pour l'homme) et une levure *Candida albicans*. L'activité antibactérienne des actinomycètes testés montre qu'environ 90 % des actinomycètes testés, possèdent une forte activité vis-à-vis d'au moins un des microorganismes-tests. Nos germes producteurs sont également actifs contre *Pseudomonas sp.* et *Staphylococcus aureus* qui sont deux bactéries cliniques très résistantes. L'activité antifongique montre que la totalité des actinomycètes sont actifs au moins sur un des champignons-tests. Les actinomycètes isolés à partir du sol agricole et des boues activées sont les plus actifs.

Mots clés : actinomycètes, activité antifongique, activité antibactérienne, sebkha, boues activées.

ABSTRACT

The constant evolution of the bacterial resistance in antibiotics and the emergence of new infectious diseases justify the urgency to arrange new antimicrobial molecules. In this study we tested the antimicrobial activity of actinomycetes isolated from agricultural soil, activated sludge and from a sebkha situated in the Algerian Sahara. The antimicrobial activity was estimated by the technique of agar cylinders against seven bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter* sp, (clinical strain) *Streptococcus* sp, (clinical strain) *Pseudomonas* sp, (clinical strain) *Acinetobacter* sp, (clinical strain) *Proteus* sp, (clinical strain) *Morganella* spp. (Clinical strain) and three filamentous fungi *Aspergillus niger* (phytopathogenic), *Fusarium oxysporum* (phytopathogenic), *Aspergillus fumigatus* (pathogenic in humans) and *Candida albicans* yeast. The antibacterial activity of the tested actinomycetes shows that approximately 90 % of the tested actinomycetes possess a strong activity against at least one of the microorganisms-tests. Our producing germs are also active against *Pseudomonas* sp and *Staphylococcus aureus* who are two very resistant clinical bacteria. The antifungal activity shows that 63 % of actinomycetes are active at least on one of the fungi-tests. Actinomycetes isolated from the agricultural soil and activated sludge are the most active.

Keywords: actinomycetes, antifungal activity, antibacterial activity, sebkha, activated sludge.

ملخص

التطور المستمر لمقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وظهور أمراض معدية جديدة يبرر الحاجة الملحة لجزيئات جديدة مضادة للميكروبات. في هذه الدراسة اختبرنا نشاط المضادات البكتيرية المنتجة من طرف الفطريات الشعاعية المعزولة من التربة الزراعية، الحمأة المنشطة وسبخة تقع في صحراء الجزائر تم تقييم نشاط المضادات البكتيرية بواسطة تقنية اسطوانات الاجار ضد سبع بكتيريات

Staphylococcus aureus ATCC 43300, *pseudomonas sp*, *Enterobacter sp*, *Acinetobacter sp*

Proteus sp, *Morganella sp*, *Streptococcus*

و ثلاثة *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporium*

Candida فطريات

وخميرة *albicans*

ان نشاط مضادات البكتيريا للفطريات الشعاعية التي تم اختبارها يشير الى ان حوالي 90 ٪ من الفطريات الشعاعية لديها نشاط قوي على الأقل ضد كائن حي دقيق مجرب.

الفطريات الشعاعية المستعملة المنتجة للمضادات البكتيرية نشطة ضد *staphylococcus aureus* ATCC 43300 و *Pseudomonas sp* الذين هما في الأصل بكتيريتان مقاومتان للمضادات الحيوية. يظهر ان نشاط المضاد الفطريات بان 100 ٪ من الفطريات الشعاعية نشطة على الأقل ضد واحد من الفطريات الاختيارية.

الكلمات المفتاحية

النشاط المضاد للفطريات, النشاط المضاد للبكتيريا, الفطريات الشعاعية.

Nom et Prénom : BELAIDI INES

Nom et Prénom : SAHOUR FELLA

Thème : Etude de l'activité antibactérienne et antifongique d'une collection d'actinomycètes

Résumé

L'évolution constante de la résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses justifient l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. Dans cette étude nous avons testé l'activité antimicrobienne des actinomycètes isolés à partir d'un sol agricole, des boues activées et d'une sebkha située dans le Sahara Algérien. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la technique des cylindres d'agar vis-à-vis de sept bactéries *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter* sp (Souche clinique), *Streptococcus* sp (Souche clinique), *Pseudomonas* sp (Souche clinique), *Acinetobacter* sp (Souche clinique), *Proteus* sp (Souche clinique), *Morganella* sp. (Souche clinique) et trois champignons filamenteux *Aspergillus niger* (phytopathogène), *Fusarium oxysporum* (phytopathogène), *Aspergillus fumigatus* (pathogène pour l'homme) et une levure *Candida albicans*. L'activité antibactérienne des actinomycètes testés montre qu'environ 90 % des actinomycètes testés, possèdent une forte activité vis-à-vis d'au moins un des microorganismes-tests. Nos germes producteurs sont également actifs contre *Pseudomonas* sp et *Staphylococcus aureus* qui sont deux bactéries cliniques très résistantes. L'activité antifongique montre que la totalité des actinomycètes sont actifs au moins sur un des champignons-tests. Les actinomycètes isolés à partir du sol agricole et des boues activées sont les plus actifs.

Mots clés : actinomycètes, activité antifongique, activité antibactérienne, sebkha, boues activées.

Laboratoire : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Laboratoire de Zoologie.

Président : Mr. M.A. HAMIDECHI

Prof. Université des frères Mentouri Constantine

Rapporteur : Mr. A. BOUDEMAGH

Prof. Université des frères Mentouri Constantine

Examineur : Mr. M. KITOUNI

Prof. Université des frères Mentouri Constantine