

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

Université Constantine 1



Faculté des sciences de la Nature et de la vie

Département de Microbiologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Option :

Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Mise en évidence de l'activité antibactérienne de deux souches de *Streptomyces* sp. d'origine saharienne

Par

Harrouche Affef et Hammoud Najoua

Soutenu le 25/06/2014

Membres du jury :

Président : Mr. Kitouni S.	Maitre de conférences	U. Constantine1
Encadreur : Mme. Reghioua S.	Maitre assistante Classe. A.	U. Constantine1
Co-encadreur : Mme. Mergoud L.	Maitre assistante Classe. A.	U. Constantine1
Examinatrice : M. ^{elle} Bouchloukh W.	Maitre assistante Classe. A.	U. Constantine1

Année Universitaire

2013-2014

Remerciements

D'abord, nous remercions dieu le tout puissant qui nous a donné la

Volonté afin ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé, au laboratoire de Génie Microbiologique et Application,

Département de Microbiologie-Biochimie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université

Constantine 1.

*Nous remercions notre encadreur **Mme Reghioua S.** pour*

Son aide tout au long de notre travail.

*Nous tenons à remercier notre Co-encadreur **Mme Mergaud L.** pour son aide et ses encouragements.*

*Nous remercions les plus respectueux s'adressent aussi à monsieur **Kitouni M.** (professeur à l'université de Constantine 1) qui nous fait l'honneur de présider le jury de soutenance.*

*Nous exprimons nos plus sincères remerciements à Madame **Bouchloukh W.** d'avoir accepté de participer au jury.*

*Nous tenons à remercier **Mr Boulahrouf A.** de nous accueillir au sein de son laboratoire et tout les personnes de laboratoire que nous avons pu diriger tout au long de ce mémoire, en particulier **Merouane F.** à qui nous exprimons notre gratitude pour sa disponibilité, son aide et ses encouragements.*

*Au chef d'unité de bactériologie générale du laboratoire de Microbiologie du C.H.U. de Constantine **Mr Belabed** d'avoir accepté de nous encadrer.*

Un grand merci à nos familles respectives pour leur soutien et leur affection sans retenue au cours de nos longues années d'études.

Dédicaces

Je tien d'abord à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir

Donné la foi et de m'avoir permis m'en arriver là

Je dédie ce modeste travail :

A mon père et ma mère qui m'ont toujours encouragé le long de ma

vie, ainsi que leur soutien moral et physique

A mes frères pour leur tendresse et leurs permanentes

Présence à mes côtés.

A tous mes amies et surtout mes intimes : Maroua, Besma, Melek

Souha, wisal.

A toute ma famille ainsi qu'à mes camarades de la promotion 2013-2014 pour lesquels je

Port un grand respect.

Harrouche Affef

Dédicaces

Je tien d'abord à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir

Donné la foi et de m'avoir permis m'en arriver là

Je dédie ce modeste travail :

*A mon père et ma mère qui m'ont toujours encouragé le long de ma
vie, ainsi que leur soutien moral et physique*

*A mes frères et mes sœurs pour leur tendresse et leurs permanentes
Présence à mes côtés.*

*A tous mes amies et surtout mes intimes : Abla, Maroua, Besma,
Rahma, Hossam.*

*A toute ma famille ainsi qu'à mes camarades de la promotion 2013-2014 pour lesquels je
Port un grand respect.*

Hammoud Nadjoua

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Revue bibliographique	
1. Les streptomycètes	2
1.1. Généralités	2
1.2. Caractéristiques du genre <i>Streptomyces</i>	2
1.2.1. Caractères morphologiques	2
1.2.2. Caractères culturels	3
1.3. Cycle de développement	3
1.3.1. Sur milieu solide	3
1.3.2. Sur milieu liquide	4
1.4. Taxonomie	4
1.5. Habitats	5
1.5.1. Sols	5
1.5.2. Les eaux	5
1.5.3. Air	5
1.6. Bioactivité	6
2. Les antibiotiques	6
2.1. Généralités	6
2.2. Classification des antibiotiques	7
2.3. Mode d'action des antibiotiques	7
2.3.1. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne	7
• les β -lactamines	8

• les glycopeptides	8
• les fosfomycines	8
2.3.2. Action sur la membrane cytoplasmique	8
2.3.3. Action sur la synthèse des protéines	9
• Macrolides et apparentes (MLS)	9
• Aminoglycosides	9
• Tétracyclines	10
• Phénicolés	10
2.3.4. Action sur l'ADN	10
2.4. Les facteurs influençant la Production d'antibiotiques	10
2.4.1. Effet de la composition du milieu de culture	11
2.4.2. Effet du pH et de la température	12
3. La résistance aux antibiotiques	12
3.1. Définition	12
3.2. Origine de résistance	12
3.3. Les types de résistances	13
3.2.1. La résistance naturelle	13
3.2.2. La résistance acquise	13
• La résistance par mutation chromosomique	13
• La résistance par acquisition de gènes	14
3.4. Les mécanismes biochimiques de la résistance acquise	14
3.4.1. Modification de la cible	14
3.4.2. L'inactivation enzymatique	14
3.4.3. La résistance par imperméabilité	14

3.4.4. Rejet des antibiotiques hors de la cellule par efflux actif	14
3.4.5. Amplification de la cible de l'antibiotique	14
3.4.6. Apparition d'une voie métabolique alternative	14
3.5. Évolution de la résistance	14
Matériel et méthodes	
1. Souches productrices	16
1.1. Purification	16
1.2. Conservation	16
2. Etude de l'activité antibactérienne	16
2.1. Bactéries-tests	16
2.2. Sensibilité des bactéries-tests aux antibiotiques (antibiogramme)	16
2.3. Préparation des inocula de bactéries-tests	17
2.4. Technique des cylindres d'agar	17
2.5. Conservation des bactéries-tests	17
Résultats et discussion	
1. Purification des souches <i>Streptomyces</i>	18
2. Sensibilité des bactéries-tests aux antibiotiques	18
3. Mise en évidence de l'activité antibactérienne	18
Conclusion et perspectives	23
Références bibliographiques	24
Annexes	

Tableau 1 : la classification hiérarchique de la classe actinobactéria basée sur l'analyse phylogénique de l'ADNr/ARNr 16S.

Tableau 2 : Nombre approximatif de produits microbiens bioactifs. Antibiotiques : molécules possédant une activité antimicrobienne et/ou une activité antitumorale et/ou une activité antivirale.

Tableau 3 : Antibiotiques efficaces contre des cellules eucaryotes .

Tableau 4 : principales classes d'antibiotiques et leurs spectres d'activités.

Tableau 5: Mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques.

Tableau 6 : Profil de résistance des bactéries-test.

Tableau 7 : Effet du milieu de culture sur l'activité antibactérienne des deux souches de streptomycètes.

Figure1: Cycle de développement de *Streptomyces* sur milieu solide .

Figure 2 : Morphologies rencontrées au cours d'une culture liquide .

Figure 3 : Différents modes d'action des antibiotiques .

Figure 4 : Aspect macroscopique de la souche SA1 sur milieu Amidon-caséine après 14 jours d'incubation.

Figure 5 : Aspect macroscopique de la souche SA2 sur milieu Amidon-caséine après 14 jours d'incubation.

Figure 6 : Activité antibactérienne de la souche SA1 contre les bactéries tests en fonction du milieu de culture.

Figure 7 : Activité antibactérienne de la souche SA2 contre les bactéries tests en fonction du milieu de culture.

Figure 8 : activité bactérienne de la SA1 contre *Streptococcus faecalis* et *Acinetobacter baumannii*.

Figure 9 : activité bactérienne de la souche SA2 contre *Providencia* sp et *Proteus mirabilis*.

Figure 10 : Pourcentages des activités détectées en fonction du milieu de culture de la souche SA1.

Figure 11 : Pourcentages des activités détectées en fonction du milieu de culture de la souche SA2.

Introduction

L'histoire des antibiotiques tels que nous la connaissons actuellement a débuté durant la seconde guerre mondiale avec la production industrielle aux Etats-Unis des premiers médicaments à base de pénicilline. Ces traitements ont permis de sauver plusieurs millions de personnes et la production de pénicilline a véritablement fait partie de l'effort de guerre. Les laboratoires de recherches industrielles et académiques ont alors engagé un processus à grande échelle pour découvrir de nouveaux principes actifs afin d'enrayer les autres infections bactériennes connues. Au cours des décennies suivantes, les recherches entreprises ont permis de compléter l'arsenal antibactérien mis à la disposition des médecins et du grand public. La streptomycine fut isolée à partir de *Streptomyces griseus* en 1943, le chloramphénicol à partir de *Streptomyces venezuelae* en 1947, la chlortétracycline à partir de *Streptomyces aureofaciens* en 1948, l'érythromycine à partir de *Streptomyces erythreus* en 1952, etc.

Depuis les années 1950-60, de multiples dérivés semi-synthétiques d'antibiotiques naturels (par exemple les fluoroquinolones), rendus plus actifs par ajout de divers substituant, et des antibiotiques entièrement synthétiques (par exemple l'azitromycine) sont commercialisés par les entreprises pharmaceutiques. Il s'agit toutefois uniquement de molécules appartenant à des classes d'antibiotiques déjà connues. En effet, au cours de ces dernières années, les connaissances scientifiques n'ont permis la découverte que d'une seule nouvelle famille d'antibiotiques synthétiques, celle des oxazolidinones (**Slee et al., 1987 ; Swaney et al., 1998**).

Depuis leur apparition, les antibiotiques sont restés le moyen privilégié de lutte contre les infections bactériennes. Elles le sont à un tel degré du fait de leur large spectre d'action, leur innocuité, leur efficacité et surtout leurs faibles coûts. Cependant, du fait d'une utilisation anarchique, inadéquate et abusive des antibiotiques en santé humaine et vétérinaire, on assiste aujourd'hui à l'émergence de bactéries multi-résistantes. (**Savard, 2003**).

Si la découverte et l'utilisation des antibiotiques ont été à l'origine des plus grands succès de la médecine, aujourd'hui, l'émergence et la diffusion des bactéries multi-résistantes dans les populations humaines sont devenues des problèmes de santé publique très préoccupants (**Lozniewski et Rabaud, 2010**). Les *Streptomyces* sont les meilleurs candidats pour la production de nouvelles molécules biologiquement actives. L'objectif de notre travail est la mise en évidence de l'activité antibactérienne de deux souches de ce genre d'origine saharienne contre quatorze bactéries-test et sur cinq milieux de production de métabolites secondaires.

Revue bibliographique

1. *Streptomyces*

1.1 Généralités

Le terme *Streptomyces* provient du grec *Streptos* (courbé, tordu) et *Myces* (moisissure). Les espèces appartenant à ce genre sont des bactéries Gram+ avec une proportion de (G+C)% élevée (69 à 78%), formant des colonies de morphologie complexe. Les membres de ce genre sont des aérobies stricts. (Hodgson, 2000).

Le genre *Streptomyces* est le principal groupe des actinobactéries. Ces espèces sont telluriques et se trouvent à une concentration variant de 10^6 à 10^7 /g du sol. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique de la terre. Celle-ci est due aux géosmines ; un groupe de composés organiques volatils produit pendant la croissance. Le classement des espèces est basé partiellement sur la morphologie des spores. Les différences physiologiques sont basées essentiellement sur la production des antibiotiques (Jerome *et al.*, 2002).

Les streptomycètes sont très importants d'un point de vue écologique comme d'un point de vue médical. Ils peuvent présenter de 1 à 20% de la microflore terrestre cultivable. Ces microorganismes jouent un rôle majeur dans la minéralisation. Ils sont très souples au niveau nutritionnel et ils peuvent dégrader en aérobiose, des substances résistantes telles que la pectine, la lignine (constituant principal du bois dont la structure complexe et difficile à transformer biologiquement), la chitine, la kératine, le latex et des composés aromatiques. On connaît mieux les streptomycètes pour le grand nombre d'antibiotiques qu'ils synthétisent. Certains de ceux-ci sont utiles en médecine et en recherche biologique (Perscott *et al.*, 2007).

1.2. Caractéristiques du genre *Streptomyces*

1.2.1. Caractères morphologiques

Les *Streptomyces* ont une paroi et forment des chaînes de spores non mobiles dans un fin fourreau fibreux. Elles produisent des mycéliums aériens et végétatifs. Les hyphes ou filaments du mycélium aérien se différencient pour former des chaînes de conidiospores asexuées, situées aux niveaux des extrémités des hyphes. Les conidies (de trois à un grand nombre) de chaque chaîne sont souvent pigmentées et peuvent être lisses, velues ou épineuses. On distingue les espèces du genre *Streptomyces* grâce à un ensemble de caractéristiques morphologiques incluant : la couleur de mycélium aérien et végétatif, la disposition des spores, les caractères de surface des spores, l'utilisation des glucides, la production d'antibiotiques, la synthèse des mélanines, la réduction du nitrate et l'hydrolyse de l'urée et l'acide hippurique (Perscott *et al.*, 2007).

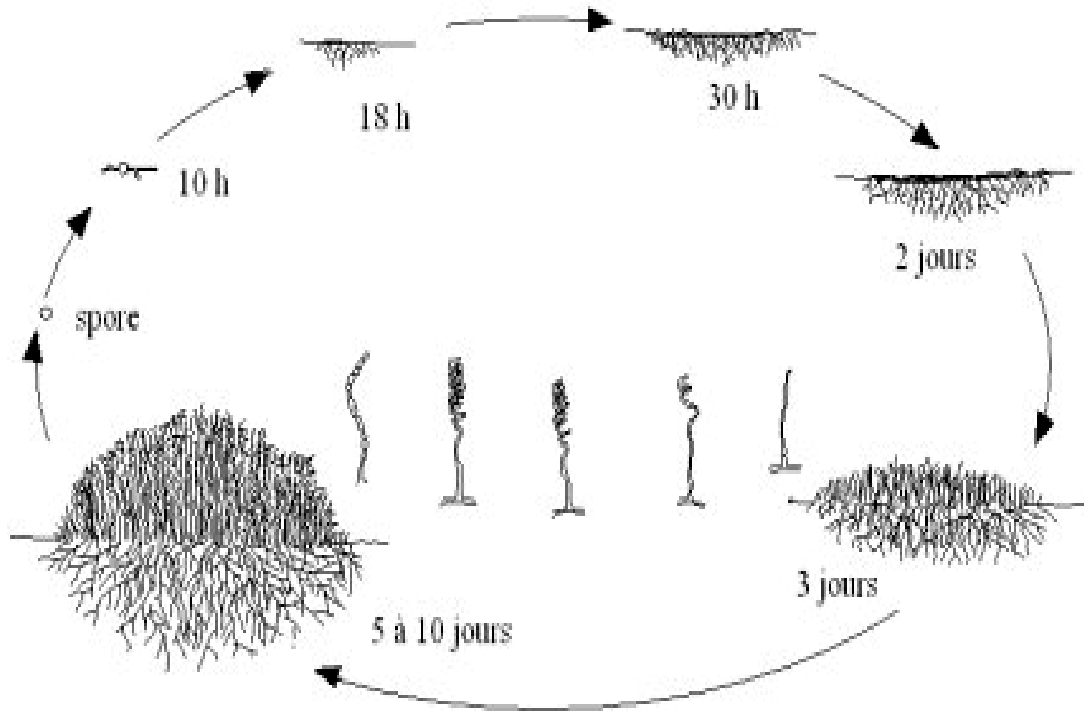


Figure1: Cycle de développement de *Streptomyces* sur milieu solide (Colombé , 2005).

10h : germination de la spore ; 18h : formation du mycélium primaire ; 30h à 2jours : développement du mycélium primaire ; 3jours : formation du mycélium secondaire ; 5 à 10 jours enroulement et cloisonnement et formation des spores du mycélium secondaire.

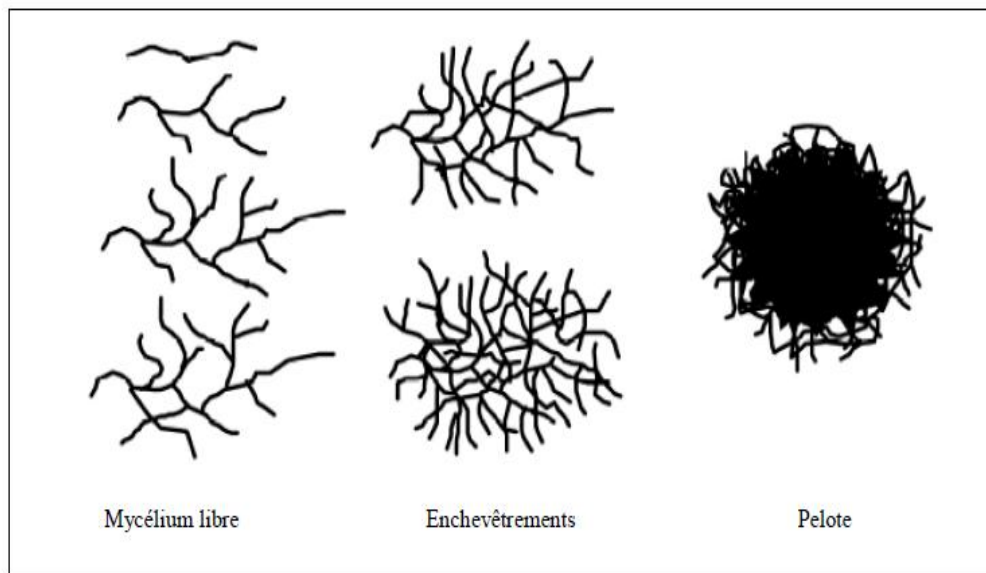


Figure 2 : Morphologies rencontrées au cours d'une culture liquide (Amanullah *et al.*, 2000).

1.2.2. Caractères culturels

Les membres du genre *Streptomyces* se développent sur les milieux simples inorganiques supplémentés par une grande variété de sources de carbone organique, dont le glucose ou le glycérol à des températures optimales de croissance se situe entre 25 et 35°C. Ce sont en majorité des souches mésophiles. Mais il existe quelques souches psychrophiles ou thermophiles. La gamme de pH optimale est comprise entre 6.5 et 8.0. Ils sont peu exigeants et ne nécessitent pas de facteurs de croissance et de vitamines. Ils se satisfont d'une source d'azote inorganique (**Chater et Merrick, 1979**). Quand une culture estensemencée à partir de conidiospores, celles-ci germent d'abord pour produire le mycélium végétatif ou de substrat. Le mycélium aérien se forme ensuite. Si le milieu a un rapport carbone sur azote suffisamment élevé, le mycélium aérien se différencie pour produire des conidiospores ; toutefois, elles ne ressemblent pas du tout aux endospores. Les conidies se pigmentent en bleu, gris, vert, rouge, violet, ou jaune mais la couleur est influencée par la composition du milieu (**Singleton, 2004**).

1.3. Cycle de

développement

La croissance peut se conduire en milieu liquide ou solide :

1.3.1. Sur milieu solide

Il débute par la germination d'une spore qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes non septées et plurinuclées, ramifié et ancré dans le milieu solide (**Hodgson, 1992**). La germination des spores comprend quatre étapes : l'activation, l'initiation, l'émergence du tube germinatif et sa croissance, pour lesquelles le degré hygrométrique joue un rôle important. Parfois, l'activation peut être déclenchée par un choc thermique, par exemple un traitement de 5 minutes à 50°C pour les spores de *Streptomyces viridochromogenes*. Puis le tube de germination croît et donne des hyphes qui se ramifient de manière apicale, l'ensemble de la colonie se développe de manière radiale. Le mycélium primaire est ancré dans le support solide. C'est cette morphologie qui lui permet l'utilisation des substances insolubles et qui donne aux *Streptomyces* la capacité de coloniser des substrats solides en comparaison avec les

Tableau 1: la classification hiérarchique de la classe *Actinobacteria* basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr / ARNr 16S (Garrity *et al.*, 2004).

Classe *Actinobacteria*

S/CI	<i>Acidimicrobidae</i>	<i>Rubrobacteridae</i>	<i>Coriobacteridae</i>	<i>Sphaerobacteridae</i>	<i>Actinobacteridae</i>
------	------------------------	------------------------	------------------------	--------------------------	-------------------------

S/CI	<i>Actinobacteridae</i>				
Ordres	<i>Bifidobacteriales</i>		<i>Actinomycetales</i>		

Ordre des *Actinomycetales*

S/O <i>Actinomycineae</i>	S/O <i>Micrococcineae</i>	S/O <i>Corynebacterineae</i>	S/O <i>Corynebacterineae</i>	S/O <i>Propionibacterineae</i>
Famille <i>Actinomycetaceae</i>	Familles <i>Micrococcaceae</i> <i>Bogoriellaceae</i> <i>Rarobacteraceae</i> <i>Sanguibacteraceae</i> <i>Brevibacteriaceae</i> <i>Cellulomonadaceae</i> <i>Dermabacteraceae</i> <i>Dermatophilaceae</i> <i>Dermacoccaceae</i> <i>Intrasporangiaceae</i> <i>Jonesiaceae</i> <i>Microbacteriaceae</i> <i>Beutenbergiaceae</i> <i>Promicromonosporaceae</i>	Familles <i>Corynebacteriaceae</i> <i>Dietziaceae</i> <i>Gordoniaceae</i> <i>Mycobacteriaceae</i> <i>Nocardiaceae</i> <i>Tsukamurellaceae</i> <i>Williamsiaceae</i>	Famille <i>Micromonosporiaceae</i>	Familles <i>Propionibacteriaceae</i> <i>Nocardiodaceae</i>
S/O <i>Psuedonocardineae</i>	S/O <i>Streptomycineae</i>	S/O <i>Streptosporangineae</i>	S/O <i>Frankinea</i>	S/O <i>Glycomycineae</i>
Familles <i>Pseudonocardiaceae</i> <i>Actinozynnemataceae</i>	Famille <i>Streptomycetaceae</i>	Familles <i>Streptosporangiaceae</i> <i>Nocardiopsaceae</i> <i>Thermomonosporaceae</i>	Familles <i>Frankiaceae</i> <i>Geodermatophilaceae</i> <i>Microsphaeraceae</i> <i>Sporichthyaceae</i> <i>Acidothermaceae</i> <i>Kineosporiaceae</i>	Famille <i>Glycomycetaceae</i>

S/cl : sous classe S/o : sous ordre

microorganismes unicellulaires et immobiles (**Miguelé et al., 2000**). Une fois que les nutriments s'épuisent, des branches spécialisées émergent à la surface des colonies formant le mycélium aérien qui se développe verticalement dans la partie aérienne. Une fois développé, le mycélium aérien couvre les colonies de surface en leur donnant un aspect poudreux, compact, poilu ou en chou fleur. C'est à cette étape que la production de métabolites secondaire est généralement déclenchée (**Viollier et al., 2001**). La formation du mycélium aérien est influencée par plusieurs facteurs, notamment : la composition du milieu de croissance, la température d'incubation et la présence des composés spécifiques (**Figure1**) (**Pine, 1970 ; Madigan et Martinko, 2007**).

1.3.2. Sur milieu liquide

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

La sporulation en milieu liquide est rare mais possible. Chez *Streptomyces griseus* la sporulation à pu être induite dans des conditions de carence en azote ou en phosphate (**Kendrick et Ensing, 1983 ; Daza et al., 1989**). Selon la source d'azote employée ; *Streptomyces antibioticus* ETHZ 7451 est également capable de produire des spores en milieu liquide (**Novella et al., 1992**). Les spores produites en ces conditions sont similaires de celles produites en milieu solide. Mais dans le cas de *S. antibioticus* ETHZ 7451 elles présentent une faible thermo-résistance (**figure 2**) (**Daza et al., 1989 ; Novella et al., 1992**).

1.4. Taxonomie

Le genre *Streptomyces* à été décrit pour la première fois par Waksman et Henrici en 1943 et classé dans la famille des *Streptomycetaceae* en se basant sur la morphologie et la composition de la paroi cellulaire. Le développement de la classification numérique a permis la reclassification de six autres genres de cette famille (*Actinopycnidium, Actinosporangium, Chainia, Elytrosporangium, Kitasatoaet Microellobosporia*) dans le genre *Streptomyces*. Ces anciens systèmes numériques utilisant les caractères phénotypiques sont fondamentalement changés par l'introduction des caractéristiques de la biologie moléculaire dans les systèmes de classification. La famille des *Streptomycetaceae* comportant entre autres le genre *Streptomyces* avec ses 463 espèces et formant ainsi la plus grande famille avec 508 espèces (**tableau 1**) (**Stackebrandt et al., 1997 ; Garrity et al., 2004**).

1.5. Habitats

Les streptomycètes sont des microorganismes très ubiquitaires que l'on rencontre sur tous les substrats naturels courants. Bien que les premières souches des streptomycètes aient été isolées de sources humaines et animales respectivement par Cohn en 1875 et Nocard en 1888, c'est le sol qui en est certainement le réservoir à partir duquel ces microorganismes peuvent envahir de nombreux biotopes (**Waksman, 1959 ; Porter, 1971 ; Lacey, 1973 ; Williams *et al.*, 1984**).

1.5.1. Sols

Les streptomycètes sont largement répartis dans tous les sols à l'exception des sites exposés à des conditions trop extrêmes. Ils sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol jusqu'à 2m de profondeur. Ils produisent des substances spécifiques telles que le di-méthyle isobornéol qui sont responsables de l'odeur d'humus caractéristique des sols (**Omura, 1992 ; Zaitlin *et al.*, 2003**).

1.5.2. Les eaux

L'opinion selon laquelle des streptomycètes peupleraient normalement le milieu marin est très controversée. Selon les uns, les souches des streptomycètes isolées de tels milieux ne seraient que des formes terricoles adaptées à la salinité de l'eau de mer. Selon d'autres, il existerait bien une flore de streptomycètes propre aux sédiments marins caractérisée par sa barotolérance, son halophilie et une température optimale faible. Les streptomycètes jouent un rôle très important dans la décomposition des débris végétaux et donnent à l'eau son odeur de terre et sa saveur (**Weyland, 1981**).

1.5.3. Air

L'air pour les streptomycètes, n'est pas un habitat, mais un moyen de transport. Les spores des streptomycètes sont des contaminants importants de notre environnement. L'exposition à ces derniers peut causer des effets néfastes sur la santé (**Gazenko *et al.*, 1998 ; Reponen *et al.*, 1998 ; Suutari *et al.*, 2002**).

Tableau 2 : Nombre approximatif de produits microbiens bioactifs (2002) d'après **Berdy, 2005**.

Antibiotiques : molécules possédant une activité antimicrobienne et/ou une activité antitumorale et/ou une activité antivirale.

Source	Antibiotiques	Autres métabolites bioactifs	Total des métabolites bioactifs	Métabolites utilisés (en thérapie humaine)	Métabolite inactifs
Bactéries (autres)	2900	900	3800	10-12 (8-10)	3000 à 5000
Actinomycétales	8700	1400	10100	100-120 (70-75)	5000 à 10000
<i>Streptomyces</i> sp.	6550	1080	7630		
Actinomycétales rares	2250	220	2470		
Champignons	4900	3700	8600	30-35 (13-15)	2000 à 15000
Total	16500	6000	22500	140-160 (100)	20000 à 25000

Tableau 3 : Antibiotiques efficaces contre des cellules eucaryotes (**Jerome et al., 2002**).

Organisme producteur	Substance produite
Antifongiques	
<i>Streptomyces griseus</i>	Cycloheximide
<i>Streptomyces noursei</i>	Nystatine
<i>Streptomyces nodosus</i>	Amphotéricine B
Antitumoraux	
<i>Streptomyces peucitius</i>	Daunorubicine
<i>Streptomyces antibioticus</i>	Actinomycine C
<i>Streptomyces caespitosus</i>	Mitomycine C
<i>Streptomyces verticillus</i>	Bléomycine
Antihelminthe	
<i>Streptomyces avermitoles</i>	Avermectine

1.5. Bioactivité

L'expérience montre que les bactéries présentant un cycle de vie incluant la formation des spores (des endospores ou d'autres types de spores) sont les plus efficaces pour la production d'antibiotiques utiles. Mais nous devons également souligner la découverte d'agents actifs contre des champignons, des tumeurs et des parasites (**tableau 2 et tableau3**) (**Jerome et al., 2002**).

Environ cinq cents nouveaux antibiotiques sont découverts chaque année dont une part importante provient des streptomycètes qui produisent encore plus de 70% des molécules utilisées en médecine et 60% des antifongiques utilisés en agriculture (**Demain, 2000 ; Sujatha et al., 2005**).

Cette considérable diversité de composés biologiquement actifs a pour conséquence la grande importance des streptomycètes dans l'industrie pharmaceutique puisque les molécules produites par fermentation sont la deuxième source de revenus de l'industrie biotechnologique après la brasserie. Les antibiotiques représentent un marché considérable de vingt huit milliards de \$ au niveau mondial (**Thomson et al., 2004**).

Les enzymes des streptomycètes sont également très intéressantes en biotechnologie, par exemple la xylose isomérase issue d'un streptomycète thermophile (**Hodgson, 2000**). La plupart produisent des enzymes extracellulaires qui leurs permettent d'utiliser les protéines, les polysaccharides tels que l'amidon, la cellulose et bien d'autres substances organiques présentes dans le sol (**Tortora et al., 2003**).

Streptomyces est le genre de bactérie le plus prolifique et la recherche d'antibiotiques commercialisables s'est centrée sur l'étude de ce genre et des genres apparentés. Il est possible que d'autres espèces bactériennes, pas encore étudiées à ce jour, produisent des antibiotiques utiles.

2. les antibiotiques

2.1. Généralités

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique (produite par un micro-organisme: champignon microscopique ou bactérie...), synthétique ou semi- synthétique, qui agit sélectivement à faible concentration et en quelques heures sur une étape du métabolisme bactérien sans exercer habituellement un effet toxique pour les organismes supérieurs (**Avril, 1980 ; perronne, 1999 ; Smaoui, 2010**). Parfois, le terme antibiotique peut avoir un sens plus large désignant en outre les antifongiques, les antiviraux, les antiparasitaires, les anticancéreux,

Tableau 4 : principales classes d'antibiotiques et leurs spectres d'activités (Zomahoun, 2005).

Familles	Mode d'action	Principaux groupe ou molécules	Spectre
Acide fusidique	Inhibition de la synthèse des protéines	Acide fusidique	Étroit
Aminosides	Inhibition de la synthèse des protéines	Amikacine, Apramycine, Gentamicine, Kanamycine, Néomycine, Streptomycine, Tobramycine	Large
Bétalactamines	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane	Groupe de la pénicilline G : pénicilline G, pénicilline V	Étroit
		Pénicilline antistaphylococciques : Oxacilline, Cloxacilline, Dicloxacilline, Mécicilline	Étroit
		Aminopénicillines : Amoxicilline, Ampicilline, Epicilline	Large
		Carboxypénicillines : Carbénicilline, Carfécelline, Ticarcilline	Large
		Uréido-pénicillines : Azlocilline, Mézlocilline, Pipéracilline	Large
		Carbapénems	Large
		Oxapénams : Acide clavunique (associé à l'amoxicilline ou à la ticarcilline), Tozobactam(associé à la pipéracilline), Sulbactam(associé à l'ampicilline).	Inhibiteurs de bétalactamases utilisés en association avec une autre bétalactamine).
Fosfomycine	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane	Fosfomycine	Large
Glycopeptides	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane	Teicoplanine, vancomycine	Étroit
Polypeptides	Action sur la membrane des bactéries	Polymyxine B, Colistine	Étroit
		Bacitracine, Gramicidine, Tyrocidine	Étroit
Quinolones et Fluoroquinolones	Inhibition de la synthèse de l'ADN	Quinolones : Acide nalidixique, Acide oxolinique, Acide pipémidique, Fluméquine	Étroit
		Fluoroquinolones : ofloxacine, Ciprofloxacine, Enoxacine ,	Large
Sulfamides	Blocage de la synthèse de l'acide folique	Sulfadiazine, Sulfadoxine, Sulfadiméthoxine, Sulfadimérazine	Large
Streptogramines	Inhibition de la synthèse des protéines	Pristinamycine, Virginiamycine, Synercid	Étroit
Tétracyclines	Inhibition de la synthèse des protéines	Tétracycline, chlortétracycline, Minocycline, Doxycycline	Large
Rifamycines	Blocage de la synthèse des ARN-messagers	Rifamycine SV, Rifaximine	Étroit
		Rifampicine	Large
Imidazolés	Coupage des brins d'ADN et déroulement de l'ADN	Métronidazole, Ornidazole	Étroit
lincosamides	Inhibition de la synthèse des protéines	Clindamycine, Lincomycine	Étroit
Macrolides	Inhibition de la synthèse des protéines	Erythromycine, Spiramycine, Azithromycine	Étroit
Nitrofuranes	Inhibition de la synthèse de l'ADN	Nitrofurazone, Furazolidone	Large
Novobiocine	Inhibition de la réplication de l'ADN	Novobiocine	Étroit
Oxazolidinones	Inhibition de la synthèse des protéines	Linezolide	Large
Phénicolés	Inhibition de la synthèse des protéines	Chloramphénicol, Thimphénicol	Large

les agents immunomodulateurs, les agents hormonologiques, les inhibiteurs d'enzymes, les herbicides et les insecticides (**Leclerc *et al.*, 1995**). La mesure de l'activité d'un antibiotique repose sur deux grandeurs : La concentration minimale inhibitrice (CMI) qui correspond à la plus petite concentration qui inhibe la croissance de la bactérie (activité bactériostatique) et la concentration minimale bactéricide (CMB) qui correspond à la plus petite concentration qui non seulement inhibe la croissance de la bactérie mais tue celle-ci (activité bactéricide) (**Cambau, 1996**).

2.2. Classification des antibiotiques

La diversité et la complexité des molécules antibactériennes rendent nécessaire leur classification. Les antibiotiques peuvent être classés selon leurs modes d'action sur les agents infectieux, en fonction des microorganismes qu'ils inhibent, selon le spectre d'action ou bien selon leurs structures chimiques. En utilisant ce dernier moyen de classement, nous pouvons distinguer plusieurs familles, elles mêmes divisées en plusieurs classes à savoir, les aminoglycosides, les β - lactamines, les chloramphénicol, les glycopeptides, les lincomycines, les macrolides, les tétracyclines, etc. (**tableau 4**) (**Smaoui, 2010**).

2.3. Mode d'action des antibiotiques

Un antibiotique agit en un site bien précis. Cette cible peut être située dans la paroi cellulaire, dans la membrane cytoplasmique, dans la machinerie de synthèse des protéines, ou dans la synthèse de l'ADN ou l'ARN (**Figure 3**) (**Singleton, 2004**). Les molécules ayant une structure de base identique sont regroupées dans une même famille. Une même structure chimique confère aux molécules un même mécanisme d'action sur les bactéries : par exemple, les pénicillines et les céphalosporines possèdent en commun un cycle (ou noyau) β -lactame qui est responsable de leur activité antibactérienne (**Leclerc *et al.*, 1995**).

2.3.1. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne

Les antibiotiques interférant avec la biosynthèse du peptidoglycane n'auront aucune action sur les bactéries naturellement dépourvues de paroi, sur les protoplastes et les sphéropastes (**Smaoui, 2010**). Le peptidoglycane, qui en est le constituant principal, est en effet spécifique du monde bactérien. Il s'agit d'un polymère formé de longues chaînes polysidiques reliées entre elles par des ponts peptidiques (**Green, 2002**). Un certain nombre d'enzymes intervient dans la synthèse du peptidoglycane dont les plus importantes sont les transpeptidases, les transglycosylases et les carboxypeptidases. (**Ghuysen *et al.*, 1996**; **Van Heijenoort, 2001 Green, 2002** ; **Rohrere et Berger--Bàchl, 2003**). L'antibiotique bloque la synthèse de la paroi par inhibition de la transpeptidase ce qui inhibe la synthèse du peptidoglycane. Ceci empêche la formation de nouvelles bactéries et peut entraîner la destruction de celles déjà existantes (**Morel et Marcy, 1973**).

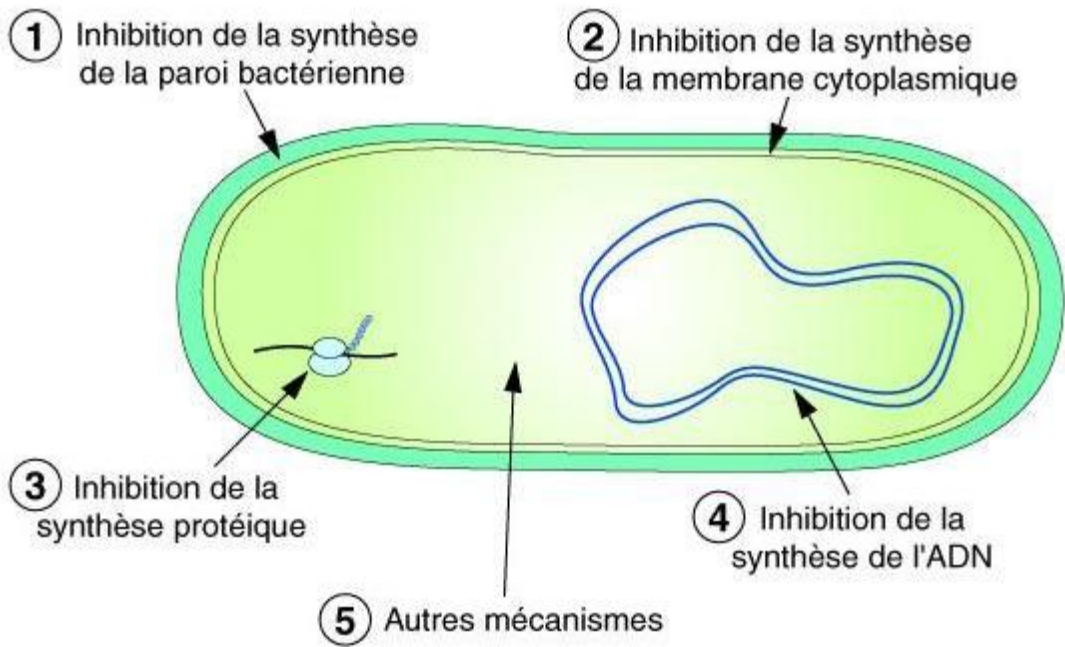


Figure 3 : Différents modes d'action des antibiotiques (Bevilacqua, 2011).

- **les β -lactamines**

Les β -lactamines se fixent sur des protéines de la membrane cytoplasmique, les PLP (Protéines liant la pénicilline). Ils bloquent leur fonctionnement inhibant ainsi la formation du peptidoglycane. Cette inhibition entraîne le blocage de la multiplication cellulaire. Le peptidoglycane est dégradé sous l'action d'autolysines, ce qui entraîne finalement la lyse bactérienne (**Calamita et Doyle, 2002 ; Prescott *et al.*, 2007**).

- **les glycopeptides**

Les glycopeptides sont la classe d'antibiotiques comprenant la vancomycine, découverte en 1956 (**Mccormick *et al.*, 1955**). Contrairement aux classes présentées jusqu'ici, les glycopeptides ne sont actifs que sur les bactéries à Gram positif. Comme les β -lactamines, leur voie cible est la synthèse de la paroi cellulaire (**Reynolds, 1989**).

- **les fosfomycines**

La fosfomycine est un antibiotique bactéricide produit par différentes espèces de bactéries du genre *Streptomyces* mais aussi par *Pseudomonas syringae*. Cette molécule agit par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (**Hendlin et Osborne, 1969**).

2.3.2. Action sur la membrane cytoplasmique

Certains antibiotiques ont pour cible la membrane plasmique bactérienne avec une action bactéricide. L'antibiotique a des propriétés de surfactant (Un surfactant est une molécule amphiphile, c'est-à-dire qui présente une tête polaire qui a des affinités pour l'eau et une queue apolaire qui a des affinités pour les substances apolaires comme l'huile). Lui permettant de s'insérer parmi les phospholipides de la membrane externe. Cela perturbe la perméabilité membranaire et permet la diffusion de substances hydrosolubles hors de la bactérie, ce qui entraîne sa destruction (**Asselineau *et al.*, 1973**). Comme, la polymyxine et la colistine sont des antibiotiques de nature polypeptidique qui altèrent la membrane plasmique des germes en s'y incorporant et en y formant des pores à l'origine d'échanges anormaux, notamment une sortie de phosphate du germe vers le milieu extérieur (**Helali, 1999; Yala *et al.*, 2001; Allain, 2006 ; Hennel, 2006**).

2.3.3. Action sur la synthèse des protéines

- **Macrolides et apparentes (MLS)**

Les macrolides représentent l'un des principaux groupes d'antibiotiques utilisés en thérapeutiques humaine et constituent avec les lincosamides et streptogramines une famille d'antibiotiques, les MLS, de structure différentes mais présentant des mécanismes d'action et un spectre antibactérien similaire.

La plupart des macrolides sont produits par des espèces de *Streptomyces* et d'autres bactéries actinomycètes du sol, mais il existe également des macrolides semi-synthétiques (**Labro, 2002**). Les macrolides et apparentés (MLS) agissent sur la synthèse protéique. La fixation de ces molécules sur le ribosome entraîne l'inhibition de l'élongation du peptide en formation. Le plus connu est l'érythromycine produit par *Streptomyces erythreus*. (Inhibiteur de synthèse de protéines au niveau de la sous-unité 50S du ribosome) (**Madigan et Martinko, 2007**).

Les macrolides, qui sont habituellement bactériostatiques, provoquent une terminaison prématurée de la synthèse polypeptidique. Ils se lient à la peptidyl transférase et ils peuvent, dans certaines conditions, inhiber la transpeptidation, et/ou déclencher une translocation abortive, conduisant à la libération d'un polypeptide incomplet (**Singleton, 2004**).

• Aminoglycosides

La majorité des aminoglycosides naturels sont obtenus à partir d'actinomycètes de type *Streptomyces*. (**Botto et Coxon, 1983 ; Kaul et Pilch, 2002**). Ces antibiotiques à large spectre, typiquement bactéricides, incluent la gentamicine, la kanamycine, la néomycine et la streptomycine. Ils sont actifs contre les bactéries Gram-négatives aussi bien que Gram-positives. Elles agissent sur diverses fonctions bactériennes par la fixation à la sous-unité 30S du ribosome. De faibles concentrations de streptomycine provoquent des erreurs de lecture de l'ARNm c'est-à-dire l'incorporation d'acides aminés incorrects. Tandis que des concentrations élevées inhibent complètement la synthèse des protéines apparemment en bloquant les ribosomes spécifiquement au début de la traduction (**Singleton, 2004**).

• Tétracyclines

Les tétracyclines produites par plusieurs espèces du genre *Streptomyces*, forment un groupe important d'antibiotiques (**Madigan et Martinko, 2007**). Ces antibiotiques inhibent la synthèse protéique en empêchant la liaison de l'aminoacyl-ARNt à la sous-unité 30S du ribosome bactérien (**Prescott et al., 2007**).

• Phénicolés

Les phénicolés se fixent sur le ribosome au niveau du site aminoacyl, inhibent l'élongation de la chaîne peptidique ce qui arrête le mouvement des ribosomes le long de l'ARN messager (**Smaoui, 2010**). Le chloramphénicol, produit à l'origine par *Streptomyces venezuelae*, est actuellement fabriqué par synthèse chimique, est un antibiotique à large spectre mais il engendre une toxicité pour l'hôte relativement importante qui limite son usage aux seuls cas où il ne peut être remplacé par un autre antibiotique (**Bousseboua, 2004**).

2.3.4. Action sur l'ADN

Les Quinolones agissent par inhibition de la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe "ADN ADN gyrase" en empêchant la réplication et la transcription de l'ADN bactérien (Anonyme, 2000; Yala *et al.*, 2001 ; Hennel, 2006 ; Anonyme, 2007).

2.4. Les facteurs influençant la Production d'antibiotiques

La production d'antibiotiques est spécifique de la souche productrice et hautement variable parmi les individus d'une même espèce. Elle est aussi instable. Cette instabilité est associée à des éléments génétiques spécifiques des amplifications, des délétions et des réarrangements dans l'ADN qui se localisent préférentiellement dans des régions du génome responsables du métabolisme secondaire. (Vining, 1987). La production d'antibiotiques peut être en association avec la cinétique de croissance de l'organisme producteur sur un milieu et ne pas l'être sur un autre milieu (Tanaka, 1992). Comme elle peut varier quantitativement et qualitativement suite à une modification des conditions de culture de l'organisme producteur (Tanaka, 1992; Higgs *et al.*, 2001).

2.4.1. Effet de la composition du milieu de culture

La composition du milieu de culture influence les capacités métaboliques de l'organisme producteur ainsi que la biosynthèse de métabolites secondaires (Mellouli *et al.*, 2003 ; Miao *et al.*, 2006 ; Yu *et al.*, 2008). Alternativement, une approche d'optimisation efficace des conditions de production de biomolécules à partir de la souche sélectionnée peut être réalisée à travers des études et des analyses des conditions physico-chimiques de la culture, ainsi que la composition du milieu de croissance et de production. Ces deux dernières caractéristiques montrent la relation étroite existante entre la production d'antibiotiques et les conditions de culture du microorganisme producteur.

Généralement, la production n'est déclenchée qu'après épuisement de l'une des trois sources principales de nutriments (source de carbone, source d'azote et phosphore). Ceci peut être expliqué par l'importance de la croissance cellulaire et sa priorité sur la production de métabolites secondaires. En effet, les systèmes de défense et de survie sont désactivés jusqu'à épuisement de ces nutriments (Vining, 1987). En fait, les travaux ont montré que la nature des sources de carbone, d'azote, de phosphore, de potassium, de magnésium et de trace d'éléments minéraux (essentiellement Mn^{2+} , Cu^{2+} et Fe^{2+}) affectent fortement la production de la molécule antimicrobienne. La source de carbone peut affecter la sécrétion des biomolécules par le microorganisme producteur. C'est le cas de l'antibiotique aminoglycoside (Gesheva *et al.*, 2005). Pour la source d'azote, la production de l'antibiotique a été étudiée sous forme d'acides aminés (Sujatha *et al.*, 2005).

Les sels minéraux, essentiellement le NaCl à des concentrations entre 0,5% et 1% et les oligo-éléments comme le fer à des concentrations de 10 à 100 fois supérieures au minimum requis pour la

croissance, améliorent nettement la production d'antibiotiques (**Dumenil et Snglier, 1989 ; Malcolm et al., 1989**). Il est à noter que plusieurs autres additifs comme le sulfate, le chlorure, l'acétate et l'arginine peuvent influencer la production de plusieurs métabolites secondaires (**Gesheva et al., 2005**).

Ainsi, la production d'antibiotiques est généralement inhibée ou diminuée quand certains substrats comme le glucose, le glycérol, les sels d'ammonium, les aminoacides et le phosphate inorganique nécessaires à la croissance microbienne sont présents à des taux dépassant certains seuils (**Bushell, 1988 ; Hobbs et al., 1989 ; Tanaka, 1992**).

D'une façon générale, les conditions optimales pour la production d'antibiotiques ne sont pas nécessairement identiques à celle permettant une bonne croissance. Les zones optimales pour le métabolisme secondaire sont généralement plus étroites que pour la croissance et varie avec la souche utilisée et le métabolite synthétisé (**Dumenil et Snglier, 1989**).

2.4.2. Effet du pH et de la température

Le choix des facteurs opérationnels comme le pH et la température dont les optima pour la production sont généralement plus bas que celles pour la croissance, sont d'une importance capitale pour la production d'antibiotiques. Chez *Streptomyces aureofaciens*, le changement de pH pendant le procédé de fermentation peut induire des modifications de l'équilibre entre la production du chlorotétracycline (CTE) et de la tétracycline (TE) dans le milieu de culture. Un pH acide favorise la production du CTC et un pH basique favorise la sécrétion de TC (**Asanza-Teruel et al., 1997**). Concernant la température l'optimum de production est obtenu à 30°C qui correspond à la température optimale de croissance (**Sujatha et al., 2005**).

3. La résistance aux antibiotiques

3.1. Définition

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce (**Leclerc et al., 1995**).

3.2. Origine de résistance

La plupart des antibiotiques sont des produits naturels, élaborés par des microorganismes telluriques, procaryotes ou eucaryotes : *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Bacillus*, et surtout *Streptomyces*. Pour éviter leur propre destruction, ces microorganismes se protègent en modifiant l'antibiotique ou sa cible. Il convient de noter que les gènes impliqués dans cette résistance participent aussi à la biosynthèse des antibiotiques car leur inactivation se traduit par l'arrêt de la production d'antibiotiques. Les microorganismes producteurs

d'antibiotiques pourraient donc être à l'origine de la diffusion de la résistance aux antibiotiques parmi les espèces pathogènes (**Leclerc *et al.*, 1995**).

La résistance aux antibiotiques peut être fréquemment codée par le microorganisme au niveau chromosomique ou plasmidique. La plupart des bactéries résistantes aux molécules antimicrobiennes, contiennent des gènes de résistance situés sur les plasmides R, plutôt que sur des chromosomes (**Perry *et al.*, 2004**). Les souches bactériennes possédant ce plasmide, peuvent produire des enzymes qui modifient chimiquement ces antibiotiques par phosphorylation, acétylation ou adénylation. La molécule modifiée perd alors son activité antibiotique (**Meyer *et al.*, 2004**).

3.3. Les types de résistances

3.3.1. La résistance naturelle

Les bactéries peuvent présenter une résistance naturelle à certaines familles d'antibiotiques. Ces mécanismes de résistance sont spontanés et assez constants. Cette résistance peut être due à l'absence de la cible (comme l'absence de paroi chez les mycoplasmes les rendant insensibles aux β -lactamines) ou à l'absence de pénétration de l'antibiotique (rôle de la membrane externe chez les bactéries Gram négatifs résistantes à la vancomycine). Cette résistance concerne l'ensemble des souches d'une même famille. Ainsi, elle définit le spectre d'activité naturelle des différentes familles et sous-familles d'antibiotiques. Par exemple, la pénicilline G est naturellement active sur des cocci Gram-positifs, sur les bacilles Gram-positifs anaérobies mais elle est inactive sur les bactéries Gram-négatives. (**Afssa, 2006 ; Scott, 2009; Guérin-Faublée, 2010**).

3.3.2. La résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ces nouveaux gènes peuvent être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome, soit par transfert d'ADN des plasmides conjugatifs ou de transposons (**Yala *et al.*, 2001 ; Summers, 2006 ; Wright, 2007**).

• La résistance par mutation chromosomique

Ce phénomène spontané est rare et n'explique qu'une faible partie des résistances rencontrées en clinique. L'antibiotique n'induit pas la mutation mais si celle-ci survient l'antibiotique favorise la souche résistante qui est alors sélectionnée. La diffusion de ce type de résistance est liée à la diffusion de la souche mutante. Cependant, on peut rencontrer des cas où une seule mutation chromosomique aboutit à une élévation de résistance très importante ; par exemple, la CMI vis à vis de la streptomycine peut être multipliée par 1000 par une unique mutation chromosomique (**Prescott *et al.*, 2000**).

•La résistance par acquisition de gènes

Les bactéries possèdent de nombreux éléments génétiques mobiles dans leur génome, dont certains contiennent des déterminants de résistance aux antibiotiques. De plus, chez les bactéries à Gram positif, ces éléments mobiles peuvent contenir de nombreux déterminants de résistances différents (**Rice, 2000**). Cette voie de transmission est responsable de 80 à 90% des résistances rencontrées chez les bactéries isolées en clinique (**Ferron, 1994**).

A travers ce mécanisme, on se trouve face à une facilité d'acquisition de résistance et même de multi-résistance contrairement à celle acquise par mutation d'ADN chromosomique. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (**Baudry et Brézellec, 2006**).

3.4. Les mécanismes biochimiques de la résistance acquise

3.4.1. Modification de la cible : ce type de résistance se produit lorsqu'une bactérie possède une version modifiée de la cible d'un antibiotique contournant ainsi l'activité de l'antibiotique dans la cellule.

3.4.2. L'inactivation enzymatique : la bactérie produit des enzymes capables de détruire les liens chimiques nécessaires à l'intégrité fonctionnelle des antibiotiques.

3.4.3. La résistance par imperméabilité : la diminution de la perméabilité par mutation affectant la structure des porines ou diminuant leurs synthèses.

3.4.4. Rejet des antibiotiques hors de la cellule par efflux actif : les bactéries possèdent intrinsèquement des systèmes d'efflux actif, dit «énergie dépendant », qui leur permettent de diminuer l'accumulation cellulaire des antibiotiques.

3.4.5. Amplification de la cible de l'antibiotique.

3.4.6. Apparition d'une voie métabolique alternative (Chopra, 2001 ; Braibant *et al.*, 2005; Zomahoum, 2005 ; Joffin et Leyer, 2006 ; Lozniewski et Rabaud, 2010 ; Smaoui, 2010) (tableau 5).

3.5. Évolution de la résistance

Depuis leur découverte, l'usage des antibiotiques n'a cessé de croître et de se diversifier. Ceci traduit le rôle précieux de ces substances dans la lutte contre les bactéries pathogènes. Après la découverte de la pénicilline par Fleming en 1929 et avant son usage thérapeutique, Abraham et Chain avaient observé que des extraits de différentes bactéries pouvaient détruire cette molécule.

Ainsi le monde bactérien était capable de s'adapter aux antibiotiques et l'on a pu observer que les bactéries isolées d'infections humaines et animales, progressivement, étaient de plus en plus résistantes aux antibiotiques successivement apparus. L'évolution de la résistance des bacilles à Gram négatif est assez

importante et ils sont responsables en milieu hospitalier de véritables infections endémiques. Le degré de résistance des bacilles à Gram négatif est inégal d'un groupe cellulaire à un autre.

De 1950 à 1966, Smith (1993) a observé que la fréquence de résistance des *E. coli* aux tétracyclines, sulfamides et streptomycine, augmentait avec le temps et que la résistance à d'autres molécules (chloramphénicol, ampicilline, néomycine, ...) suivait leur usage thérapeutique. A côté des *E. coli*, les salmonelles restent dans l'ensemble sensibles mais peuvent par acquisition de plasmides, résister aux antibiotiques majeurs tels que le chloramphénicol, les tétracyclines, les sulfamides et l'ampicilline (**Leclerc et al., 1983**). Le cas le mieux connu chez les Gram positifs est l'évolution de la résistance des *Staphylococcus aureus* à la Méthicilline (SARM) *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus* résistants aux glycopeptides et plus récemment l'émergence de bactéries (super résistantes), entérobactéries à β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (**Leclerc et al., 1995**). On note aussi la résistance des enterocoques à la vancomycine et l'émergence des souches de *Campylobacter* résistants en particulier aux quinolones et à la tétracycline.

La menace que représente, l'évolution du phénomène de résistance est directement liée au pouvoir infectieux des plasmides chez l'homme, l'animal et dans leur environnement. (**Avrain et Kempf, 2000**).

Matériel et méthodes

1. Souches productrices

Les deux souches actinomycétales sur lesquelles ce travail a été réalisé ont été isolées à partir d'un échantillon de sol aride de la région Biskra. Leur appartenance au genre *Streptomyces* a été confirmée par l'analyse de l'ADNr 16s dans le cadre d'un travail précédent par Mr. Kitouni M.

1.1. Purification

Le milieu amidon caséine (**Annexe 1**) a été utilisé pour la purification des souches de streptomycètes (**kuster et Williams, 1964**). Après ensemencement, les deux souches (SA1 et SA2) sont incubées à 30°C. La pureté des souches a été vérifiée par observation microscopique des colonies au grossissement x10 (microscope Leica DMLS).

1.2. Conservation

Les spores des souches actinomycétales purifiées sur milieu amidon caséine sont récupérées dans une solution de bouillon nutritif additionnée de glycérol 20% (v/v) et conservées à -20°C.

2. Etude de l'activité antibactérienne

2.1. Bactéries-tests

L'activité antibactérienne a été testée vis-à-vis de trois bactéries provenant de l'American Type Culture Collection (ATCC) et onze bactéries cliniques. Neuf parmi ces bactéries-tests ont été obtenues au niveau du laboratoire de bactériologie du C.H.U. de Constantine et deux du laboratoire de génie microbiologique et application.

Il s'agit de dix bactéries à coloration de Gram négative (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Providencia* sp., *Morganella morganii*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*) et quatre à coloration de Gram positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis*).

2.2. Sensibilité des bactéries-tests aux antibiotiques

Les inocula des bactéries-tests sont préparés dans des tubes à essai contenant 10 ml d'eau physiologique après isolement sur milieux spécifiques (Hectoéne et gélose au Song). L'opacité des suspensions bactériennes est équivalente à 0.5 Mc Farland (**Annexe 2**). Les disques d'antibiotiques sont déposés sur milieu Muller- Hinton préalablement ensemencé par une bactérie par écouvillonnage. Les antibiotiques utilisés sont : amoxicilline (10µg), amoxicilline + Ac. clavulanique (20/10µg), ticarcilline (75µg), piperacilline (100µg), cefazoline (30µg), cefoxitine (30µg), cephotaxime (30µg), ceftazidime (30µg), imipinème (10µg), fosfoycine (50µg), tetracycline (30µg), cefépime (30µg), aztreonam (30µg), ertapénem (10µg). Après une pré-diffusion de 30min à température ambiante, les boîtes sont incubées à

37°C pendant 24h. Après l'incubation les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés, après on a comparé les résultats des zones d'inhibition avec les standards de CASFM.

2.3. Préparation des inocula des bactéries-tests

Pour chaque bactérie-test, un inoculum est préparé à partir d'une culture de 24h sur gélose nutritive (GN) (**Annexe 1**) en faisant transférer quelques colonies dans de l'eau physiologique. L'opacité des suspensions doit être équivalente à une DO équivalente du standard Mc-farland 0.5 à une longueur d'onde de 625 nm (spectrophotomètre Shimadza UV-120-02).

2.4. Conservation des bactéries-tests

A partir des cultures bactériennes réalisées sur gélose nutritive, des colonies sont raclées et transférées dans des bouillons nutritifs additionnés de glycérol 20% (v/v) et conservées à -20°C.

2.5. Technique des cylindres d'agar (Tortorano *et al.*, 1979)

Les deux souches productrices d'antibactériens (SA1 et SA2) sontensemencées sur les Cinq différents milieux (AF, Bennett, GBA, ISP2, SC) (**Annexe 1**) en faisant des stries serrées, puis incubés à 30°C pendant une semaine (**Badji *et al.*, 2005**). Après incubation, des cylindres d'agar de 6mm de diamètre sont prélevés et déposés sur milieu Muller- Hinton préalablementensemencé par une bactérie-test. Les boîtes sont ensuite placées dans le réfrigérateur à 4°C pendant 2h (pour une pré diffusion) puis incubés à 30°C pendant 24h (**Petrosyan *et al.*, 2003 ;Abouwarda et Abu El-Wafa, 2011**). Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés.

Résultats et discussion

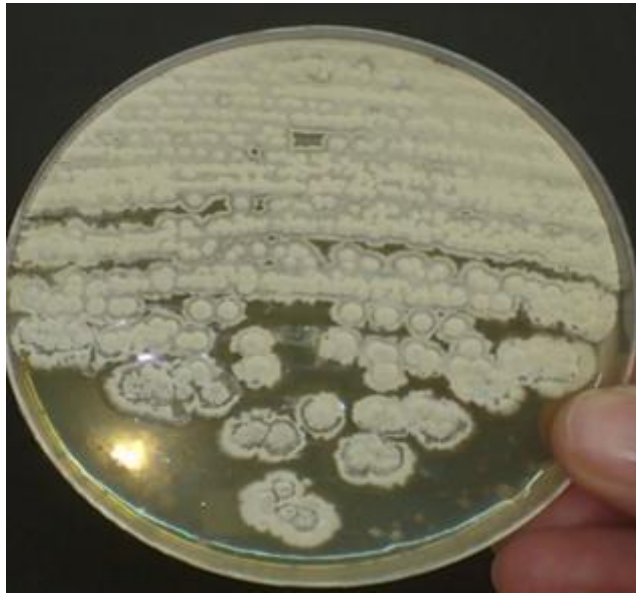


Figure 4 : Aspect macroscopique de la souche SA2 sur milieu Amidon-caséine après 14 jours d'incubation.



Figure 5 : Aspect macroscopique de la souche SA1 sur milieu Amidon-caséine après 14 jours d'incubation.

1. Purification des souches *Streptomyces*

Au cours de la purification, la reconnaissance des souches de streptomycètes a été facilitée par leur morphologie caractéristique qui les distingue des autres microorganismes. Elles sont très souvent pigmentées et d'aspect sec. La présence d'un mycélium aérien rend leur surface poudreuse. Les colonies adhérentes fortement au substrat gélosé. Leur contour est échancré et parfois leur centre porte des fructifications. Leur développement non envahissant et leur taille relativement petite les différencient des champignons (**Figure 4 et 5**).

Le milieu amidon caséine a été utilisé pour la purification des souches streptomycètes. Il contient de l'amidon et de la caséine qui par leur présence rendent les milieux moins favorables à la croissance des autres bactéries d'un côté et d'un autre côté offre la possibilité d'une bonne différenciation à nos streptomycètes.

L'observation microscopique (x10) montre les colonies des deux souches présentent des hyphes ramifiées plus fines que celles observées chez la plupart des champignons.

2. Sensibilité des bactéries-tests aux antibiotiques

La sensibilité des bactéries-tests aux 14 antibiotiques utilisés a donné les résultats présentés dans le **Tableau 6**. Les diamètres des zones d'inhibition ont été déterminés et interprétés selon les indications du comité de l'antibiogramme de la société française de Microbiologie (CASFM 2007). L'interprétation des diamètres a permis de classer les bactéries-test en trois classes : bactérie sensible, bactérie intermédiaire et bactérie résistante.

3. Mise en évidence de l'Activité antibactérienne

Les résultats rassemblés dans le (**Tableau 7**) montrent que les deux souches (SA1 et SA2) sont actives contre les deux groupes de bactéries-tests (Gram positif et Gram négatif), 10 parmi 14 souches testées et elles sont : *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii*, *Providencia* sp., *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter* sp., *Staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres d'inhibition de la souche SA1 quantitativement plus importants que ceux de la souche SA2. Ce qui suppose une meilleure activité par rapport à la souche SA2 ; alors que qualitativement les zones d'inhibitions obtenues avec cette dernière sont plus performantes.

La mise en évidence de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (technique des cylindres d'agar). Le choix du milieu de Muller-Hinton a été dicté par sa spécificité et sa richesse permettant une bonne croissance aux bactéries-tests et offrant des résultats claires à cause de sa transparence.

Tableau 6 : Profile de résistance des bactéries test (interprétation selon les indications du CASFM).

Famille d'ATB	Pénicilline			Céphalosporine		Glycopéptide	Aminoside		Tétracycline	Macrolide		Lincosamide	phénicolé	sulfamide
	AM	AMC	P	FOX	CZ	VAN	GEN	AK	TE	E	SP	L	C	SMX
Bactérie tests	R	R	/	I	R	/	S	S	/	/	/	/	S	S
<i>Morganella morganii</i>	R	R	/	S	R	/	S	/	/	/	/	/	R	S
<i>Providencia sp</i>	R	R	/	S	R	/	S	/	/	/	/	/	R	S
<i>Escherichia coli</i>	R	S	/	R	R	/	S	S	S	R	R	R	S	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	/	/	R	S	/	S	S	/	/	S	/	S	/	S
<i>Proteus mirabilis</i>	R	R	R	S	R	/	S	S	R	R	R	R	R	R
<i>Enterobacter sp</i>	R	R	/	R	R	/	R	S	/	R	R	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	/	R	R	/	R	R	S	R	R	R	S	/
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	/	/	/	/	/	/	R	R	/	/	/	/	S	S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	R	/	/	/	S	S	R	/	/	/	/	/
<i>Escherichia coli ATCC</i>	S	S	/	S	S	/	/	/	/	S	/	/	/	S
<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	/	/	S	S	/	S	/	/	/	/	/	/	/	S
<i>Acinetobacter baumannii</i>	/	/	/	/	/	/	R	R	/	/	/	/	/	/
<i>Streptococcus faecalis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
<i>Bacillus cereus</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R

R : résistante S : sensible I : intermédiaire

Tableau 7 : Effet du milieu de culture sur l'activité antibactérienne des deux souches de streptomycètes.

		Diamètre d'inhibition (mm)										
		SA1					SA2					
		GBA	AF	SC	Bennett	ISP2	GBA	AF	SC	Bennett	ISP2	
Bactéries-tests	Gram (+)	<i>Bacillus cerus</i>	17	16	21	14	17	6	6	6	6	6
		<i>Streptococcus faecalis</i>	6	14	14	11	16	6	6	6	6	6
		<i>Staphylococcus aureus</i>	6	6	6	6	6	21	6	6	6	6
		Pourcentage(%) des activités détectées par milieu	33.33	66.67	66.67	66.67	66.67	33.33	6	6	6	6
	Gram (-)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6	12	19	14	13	6	6	6	6	6
		<i>Acenitobactère baumannii</i>	6	15	18	20	18	23	6	6	6	6
		<i>Providencia sp.</i>	13	6	6	6	6	22	6	6	6	6
		<i>Proteus mirabilis</i>	6	14	19	16	15	24	6	6	6	6
		<i>Morganella morganii</i>	14	6	20	6	6	23	6	6	6	6
		<i>Enterobacter sp.</i>	6	6	17	6	20	6	6	6	6	6
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	6	6	6	6	6	24	6	10	6	6
		Pourcentage(%) des activités détectées par milieu	28.57	42.86	71.43	42.86	57.14	71.43	6	14.28	6	6
	Pourcentage total des activités détectées par milieu		30.95	54.76	69.05	54.76	61.9	52.38	6	7.14	6	6

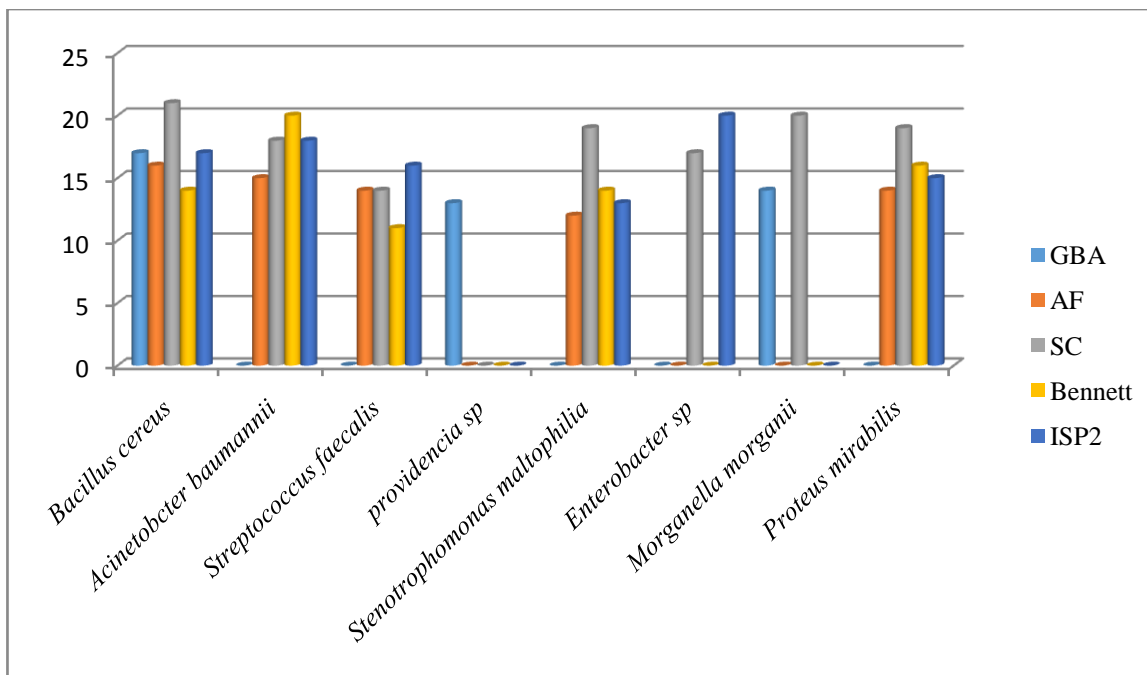


Figure 6 : Activités antibactériennes de la souche SA1 contre les bactéries tests en fonction du milieu de culture.

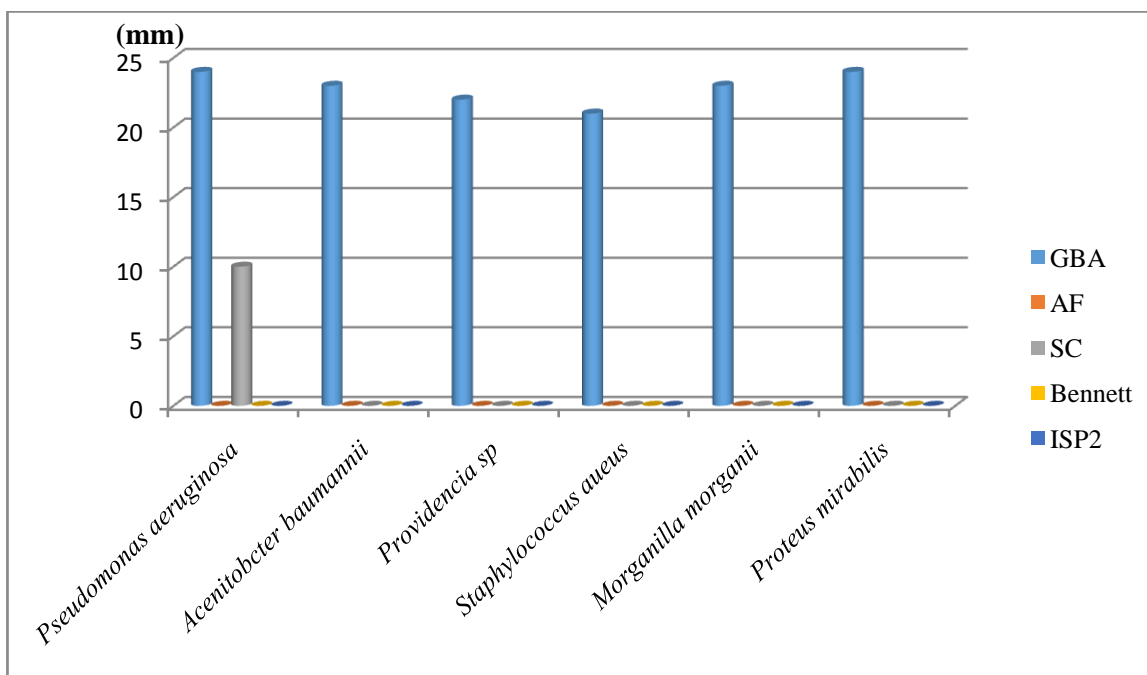


Figure 7 : Activités antibactériennes de la souche SA2 contre les bactéries tests en fonction du milieu de culture.

La faible concentration de l'inoculum reconnue comme un des facteurs intervenant dans l'augmentation de la sensibilité de la technique (**Brooks et al., 1995**), a été fixée à une densité optique qui varie entre 0.01 à 0.02 à une longueur d'onde de 625nm. Ce résultat est parfaitement cohérent avec celui obtenu par **Suigh et al., (2002)**. Dans le but d'accroître encore la sensibilité de la détection, une pré diffusion des molécules actives dans la gélose ensemencée, a été favorisée par séjour des boîtes à 4°C pendant deux heures avant l'incubation comme le préconisent **Totorano et al., (1979)** l'activité antibactérienne dépend en grande partie des bactéries-tests et de la composition des milieux de culture, ce qui est en accord avec les résultats de **Boussaber et al., (2012)**.

Les résultats du test d'activité (**Figure 6 et 7**) ont montré que les deux souches du genre *Streptomyces* ont produit, sur le milieu GBA, des substances antibactériennes contre neuf bactéries-tests ; SC contre huit bactéries après le milieu ISP2 contre six et en fin AF et Bennett chacun contre cinq bactéries. L'activité antibactérienne contre les bactéries à Gram négatif apparaît plus importante que contre les Gram positifs, Sept parmi dix bactéries-tests sensibles aux molécules produites sont Gram négatives (*Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii*, *Providencia* sp., *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*) et trois sont à Gram positif (*Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*). La souche SA1 montre une activité contre certaines bactéries-tests : contre *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis* qui sont des bactéries à coloration Gram positives et contre six bactéries à Gram négatif : *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii*, *Providencia* sp., *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter* sp. Cette souche n'a présentée aucun effet inhibiteur contre les six bactéries restantes qui sont les trois bactéries de l'American Type Culture Collection : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* provenant du C.H.U. Constantine. La souche SA2 inhibe cinq bactéries Gram négatives : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC), *Morganella morganii*, *Providencia* sp., *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii* et une seule bactérie Gram positive, C'est le cas de *Staphylococcus aureus*.

La molécule antibactérienne de la SA2 était inactive contre *Staphylococcus aureus* (ATCC), *Escherichia coli* (ATCC), *Enterobacter* sp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

Alors que **Boughachiche (2012)** et **chorin (2009)** ont trouvé une activité des souches d'actinomycètes contre la majorité des bactéries Gram positif.

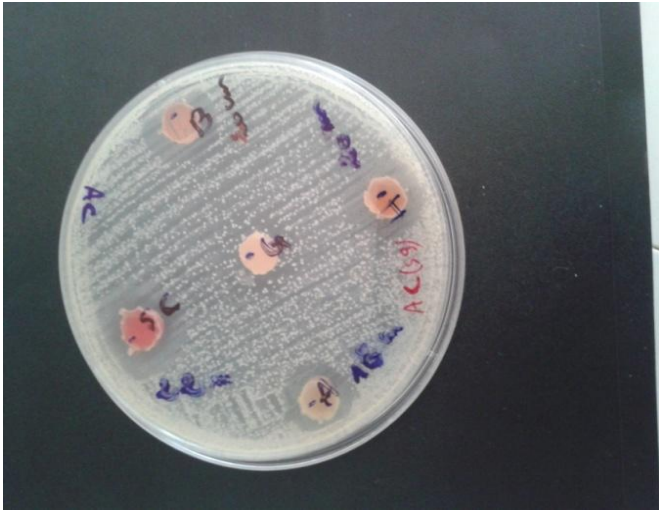


Figure 8 : activité bactérienne de la SA1 contre *Streptococcus faecalis* et *Acinetobacter baumannii*.

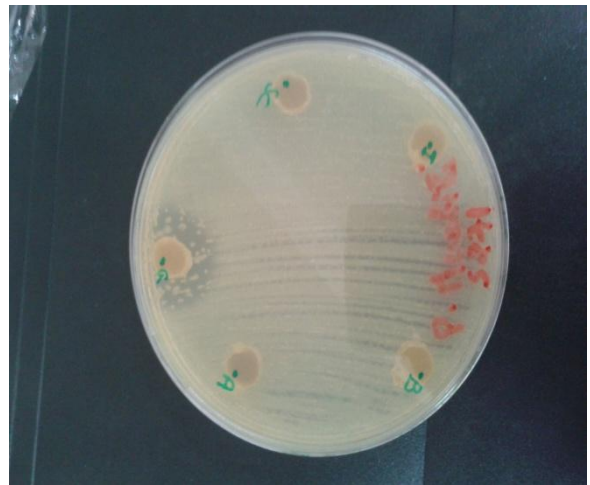


Figure 9: activité bactérienne de la souche SA2 contre *Providencia* sp et *Proteus mirabilis*

L'antibiotique produit par des souches actinomycétales vise souvent les bactéries à Gram négatif, la différence morphologique entre les Gram positifs et les Gram négatifs peuvent être responsables de la sensibilité aux antibiotiques. Les bactéries à Gram positif protègent leur membrane avec une paroi épaisse. Sa composition majeure est d'un polymère complexe de sucres et d'acides aminés mais, appelé muréine ou peptidoglycane qui donne à la bactérie sa forme et sa rigidité mais la rend sensible aux produits liposolubles et les bactéries à Gram négatif ont une membrane polysaccharidique externe qui n'est pas vraiment une barrière de perméabilité (Sherrer *et al.*, 1971).

La mise en évidence de l'activité antibactérienne de nos souches (SA1 et SA2) a été faite contre des bactéries-tests provenant du C.H.U. de Constantine, la majorité de ces bactéries sont résistantes à l'action des antibiotiques, ont présenté une sensibilité vis-à-vis les substances secrétées par les souches d'actinomycètes (10 bactéries-tests sont sensibles à l'antibiotique produit par SA1 ou SA2). Le tableau des profils de résistances montre que les bactéries-tests sont sensibles aussi à la famille des β - lactamines (AM, AMC, P) et aux aminosides (GEN, AK), ces derniers ont un large spectre d'activité contre les bactéries à Gram négatif (Prescott *et al.*, 2010), donc peut être ce sont les antibiotiques produits par les souches SA1 et SA2.

Selon les (Figure 8 et 9), les activités antibactériennes diffèrent d'un milieu de culture à un autre. Les milieux GBA, SC successivement favorisent l'activité contre les bactéries à Gram négatif. Sur GBA ensemencé par la souche SA2 a donné contre *Acinetobacter baumannii* une zone de 23mm, *Providencia* sp., une zone de 22mm et *Proteus mirabilis* une zone de 24 mm, le pourcentage d'activité de cette souche productrice sur GBA égal à 52.38% ; la SA1 sur ce milieu a donné un pourcentage de 30.95% et les diamètres des zones d'inhibition: 17mm, 13mm, 14mm respectivement pour les bactéries : *Bacillus cereus* ; *Providencia* sp., et *Morganella morganii* .

Le milieu SC a donné des zones équivalentes aux celles du GBA, on note 21mm pour *Bacillus cereus*, 20mm pour *Morganella morganii* et 19 mm avec *Stenotrophomonas maltophilia* ces résultats sont obtenus avec la SA1 où la proportion d'activité est de 69.05%, avec la SA2, il avait une activité contre *Pseudomonas aeruginosa* avec un pourcentage d'activité égale à 7.14%.

La souche SA1 a présenté une capacité de produire une molécule bioactive contre six bactéries tests sur le milieu ISP2 ; cette activité est visualisée par l'apparition des zones d'inhibition qui ont des diamètres varient entre 13 et 20 mm, contrairement à la SA2 qui n'a

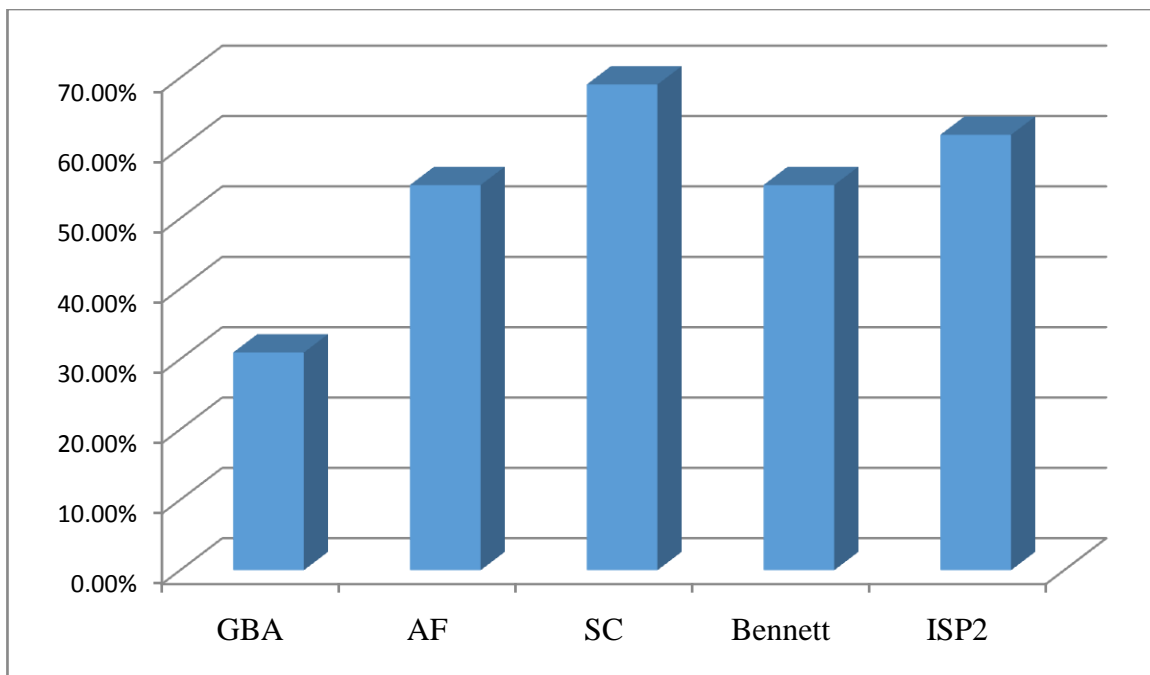


Figure 10 : Pourcentages des activités détectées en fonction du milieu de culture de la souche SA1.

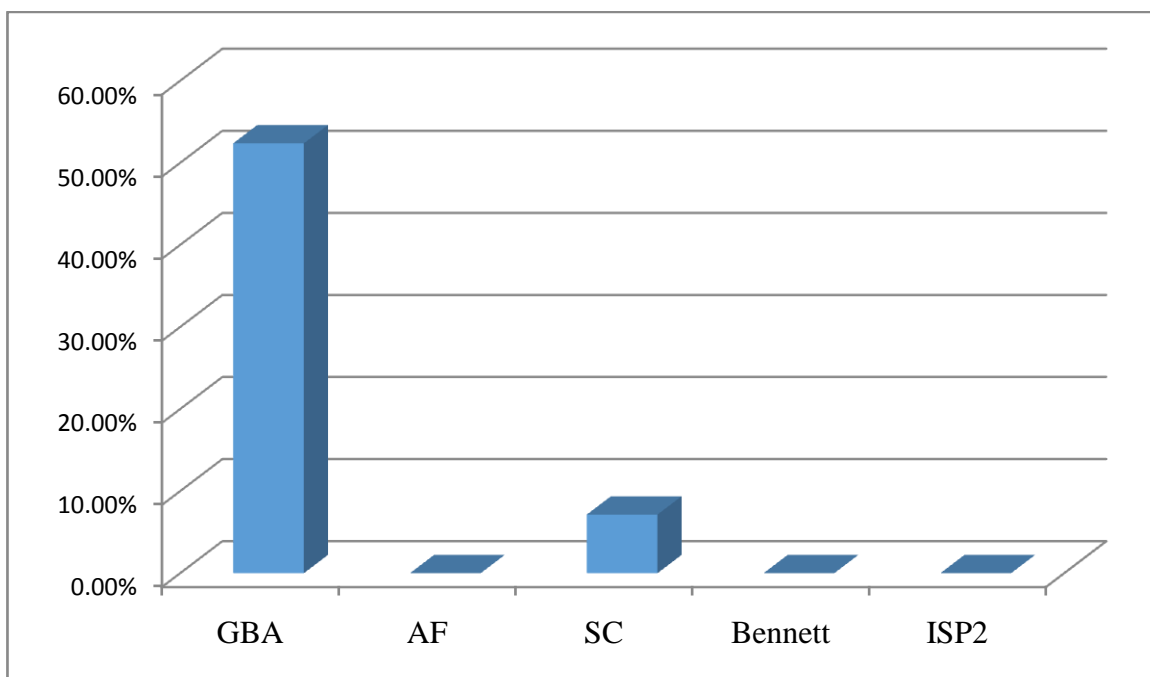


Figure 11 : Pourcentage des activités détectées en fonction du milieu de culture de la souche SA2.

développée aucune activité sur l'ISP2 et donc le pourcentage d'activité pour SA1 est de 61.9% et pour SA2 de 0%.

Les souches prélevées des milieux Bennett et AF montrent une activité contre les bactéries à Gram positif tel que *Bacillus cereus* et *Streptococcus faecalis* avec des zones moins importantes, la SA1 sur Bennett a donné contre la première bactérie une zone de 14 mm et contre la deuxième 11 mm, pour la même souche *Streptomyces* sur AF une zone de 16 mm contre *B. cereus* et 14 mm contre *S. faecalis*, AF et Bennett présentent un pourcentage de 54.76% avec la SA1 et 0% avec la SA2.

Le meilleur milieu de production pour nos souches actinomycétales sont le GBA pour la SA2 et SC pour la SA1 (**Figure 10 et 11**). Le total du pourcentage des diamètres des zones d'inhibition de la souche SA1 sur le milieu GBA contre huit bactéries tests est 52.38%. SC qui a favorisé une activité de la souche SA2 contre neuf bactéries-tests avec un total du pourcentage des zones égales à 69.05%.

La performance de chaque milieu de culture repose essentiellement sur les différentes composantes du milieu qui ont montré une grande influence sur la production de métabolites secondaires, chez les actinomycètes. Parmi les sources nutritionnelles, les sources de carbone, d'azote et de phosphate affectent fortement cette production. L'épuisement de ces sources nutritionnelles pourrait déclencher l'initiation de la synthèse d'antibiotique en permettant de lever la régulation négative exercée par ces nutriments (**Martin et Demain, 1980**).

D'après nos résultats GBA et SC sont considérés comme les meilleurs milieux de production ; le GBA comporte deux sources de carbone : le glycérol et l'amidon. Le glycérol une source de carbone simple et facilement assimilable inhibe dans un premier temps la production du métabolite secondaire, une fois elle est consommée la souche actinomycétale retourne vers l'amidon où la production spécifique de métabolites secondaires s'avère souvent meilleure sur cette source complexe (**Lebrihi et al., 1988a, Lounès et al., 1995**). Contrairement aux résultats de **Lamari (2006)** qui a trouvé qu'une source simple de carbone a donné de meilleurs résultats pour la production des antibiotiques que la dextrine et l'amidon.

La source d'azote de ce milieu est la peptone et l'extrait de viande qui sont une source difficilement métabolisable et qui par conséquent favorise la production des antibiotiques (**Voelker et Altaba, 2001**).

La présence du CaCO_3 un élément nécessaire pour la sporulation. Le carbonate de calcium favorise à la fois la croissance et la production des antibiotiques. Cet effet est probablement attribuable à son pouvoir tampon et à sa capacité de séparer les pelotes de mycélium ce qui favorise les transferts de matière (**Lamari, 2006**).

Le milieu SC présente une bonne activité antibactérienne à cause de la présence de différents éléments qui favorisent la production de métabolites secondaires tels que les oligoéléments (Zn, Fe, Cu et Mn...) ils auraient une influence sur la proportion des différents types d'antibiotiques produits (**Ninet et Verrier, 1960**). Le glycérol et le saccharose permettent la production du métabolite secondaire à côté de la source d'azote qui est sous forme d'acide aminé (l'asparagine).

D'autres travaux comme de (**Khatabi et al., 2002**) et (**Kitouni et al., 2005**) ont montré que le Bennett était le milieu qui à donné le meilleur rendement. Selon notre étude ce milieu est classé en 3eme position.

Conclusion et perspectives

Les souches actinomycétales appartenant au genre *Streptomyces* ont été explorées pour le but de découvrir de nouvelles molécules ayant une activité antibactérienne contre des microorganismes pathogènes. Ainsi que la technique des cylindres d'agar à été réalisée pour la mise en évidence de l'activité de ces souches contre quatorze bactéries-tests d'origine ATCC ou bien clinique.

Nous nous sommes concentrés sur l'effet du milieu de culture dans lequel on a testé la capacité de production sur cinq différents milieux : AF, Bennett, GBA, SC, ISP2. Les résultats obtenus montrent que les deux souches ayant une activité de production contre au moins deux (2) bactéries tests. La souche SA1 prélevée d'AF, SC, Bennett et ISP2 montre une activité antibactérienne contre cinq (5) bactéries tests tandis que la souche SA2 prise de GBA montre une activité contre six (6) bactéries tests. La meilleure souche productrice d'agents antibactériens est la SA1. La molécule produite avait un effet inhibiteur contre les bactéries-tests à coloration Gram négatif (six) plutôt plus important que chez les bactéries à Gram positif (deux). Il s'est avéré que le milieu GBA et en vers la souche SA2 présente le meilleur rendement avec 52.38% et le milieu SC favorise la production pour la SA1 avec 69.05%.

Notre étude n'est qu'une ébauche, pour d'autres travaux ultérieurs touchant un nombre plus important de souches pour donner une signification aux résultats (l'étude statistique) il est utile aussi d'identifier les molécules bioactives et savoir s'il s'agit de la même molécules ou non et cela nécessite une étude chimique profonde.

Références bibliographiques

Abouwarda A. et Abu El-Wafa W.M. (2011). Production of anti-mycobacterial agents by egyptian *Streptomyces* isolates. *Int. J. Microbiol. Res.* **2 (1)** : 69-73.

Afssa. (2006). Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Rapport du groupe de travail "Antibiorésistance". Maisons-Alfort : AFSSA, 214.

Allain P. (2006). Antibiotiques agissant sur la membrane plasmique : colistine. *In* : Les médicaments. Ed. CdM. 3ème édition. Paris, 164.

Amanullah A., Justen P., Davies A., Paul G.C., Nienow A.w. et Thomas C.R. (2000). Agitation induced mycelial fragmentation of *Aspergillus oryzae* and *Penicillium Chrysogenum*. *Biochem. Eng. J.* **5 (2)** : 109-114.

Anonyme A. (2000). Les antibiotiques Cours de première année de Pharmacie : université de Pharmacie et Ingénierie de la Santé, ANGERS.

Anonyme A. (2007). Aminosides Sulfamides, Imidazolés, stratégies thérapeutiques Service de maladies infectieuses et tropicales. Faculté médecine général. Hôpital Necker Enfants Malades, Paris.

Asanza-Teruel M.L., Gontier E., Bienaime C., Nava-Saucedo J.E. et Barbotin J.N. (1997). Response surface analysis of chlortetracycline and tetracycline production with Kcarrageenan immobilized *Streptomyces aureofaciens*. *Enzyme Microb. Technol.* **21**: 314-320.

Asselineau J., Zalta J.P. et Boissier J.R. (1973). Les antibiotiques: structure et exemples de mode d'action. Volume 1353 d'Actualités scientifiques et industrielles. Edition Hermann, 364.

Avrain L. et Kempf I. (2000). Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques : l'exemple de *Campylobacter*. *Point Vét.* **31 (210)** : 509-513.

Avril J.I. (1980). Les antibiotiques. Edition Presses. Universitaires de France, P 127.

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

Baudry C. et Brézellec H. (2006). Microbiologie et immunologie. 2^{ème} Edition. France : Walters Kluwer, 54-57.

Berdy J. (2005). Bioactive microbiol metabolites. *J. antibio.* **58** : 1-26.

Bevilacqua S. (2011). Evaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy, (Essai d'intervention contrôlé). Thèse de doctorat. Sciences de la vie et de la santé. Université Nancy, France, 135.

Botto R.E. et Coxon B. (1983). Nitrogen-15 nuclear magnetic resonance spectroscopy of neomycin B and related aminoglycosides. *J. Am. chem. Soc.* **105**: 1021-1028.

Boughachiche F. (2012). Etude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre *Streptomyces*, isolées de sebkha. Thèse de doctorat : Université Mentouri Constantine. Faculté des Sciences. Département des Sciences de la Nature et de la Vie (Alger).

Boussaber E., Mefteh kadmiri I., Hilali L., Hilali A. (2012). Comparaison de l'activité antibactérienne des souches d'actinomycètes isolées de milieux variés. Sciences éditions Mersenne, volume 4 N°1212103 ISSN. 2111- 4706.

Bousseboua H. (2004). Cours de Microbiologie Générale. Edition de l'université Mentouri Constantine, Algérie. 190.

Braibant M., et al., (2005). Structural and functional study of the phenicol-specific efflux pump FloR belonging to the major facilitator superfamily. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **49(7)**: 2965-71.

Brooks G.F., Butel J.S. et arnston L.N. (1995). Medical microbiology. 20^{ème} édition. Printice-Hall International Inc., USA. 137-149.

Bushell M.E. (1988). Growth, Product Formation and fermentation Technology. *In* : actinomycètes in Biotechnology. Edition. Academic Press. London, 185-217.

Calamita H.G. et Doyle R.J. (2002). Regulation of autolysins in teichuronic acid Containing *Bacillus subtilis* cells. *Mol Microbiol.* **44**: 601-606.

Cambau E. (1996). Antibiotiques, *la Revue Du Praticien*, N°46, 2343-2350.

Chater K.F. et Merrick M.J. (1979). *Streptomyces*. Developmental biology of procaryotes. Parish J.H. Edition., University of California Press : 93-114.

Chopra I. et Robert M. (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **65**: 232-260.

Chorin A.C. (2009). Synthèse enzymatique de nouveaux dérivés dithiopyrrolones par *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de doctorat. Génie de procédés et environnement Institut National Poly technique de Toulouse, France, 181.

Colombié V. (2005). Description de la production de spiramycine par *Streptomyces ambofaciens*. Modélisation métabolique, simulation et capteur logiciel. Thèse de doctorat. Microbiologie et Biocatalyse industrielles. L'institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, France, 24.

Daza A., Martin J.F., Dominguez A. et Gil J.A. (1989). Sporulation of several species of *Streptomyces* in submerged cultures after nutritional down shift. *J. Gen. Microbiol.* **135(9)**: 2483-2491.

Demain A.L. (2000). Small bugs, big business: the economic power of the microbe. *Bio-technology Advance*, **18(6)**: 499-514.

Dumenil D. et Snglier J.J. (1989). Physiologie de la production des antibiotiques. *In* : Biotechnologie des antibiotiques. Edition. Masson. Paris, 195-217.

Ferron A. (1994). La résistance des bactéries aux antibiotiques. *In* : *Bactériologie médicale*. 15th Edition, Paris, 12.

Garrity G.M., Bell J.A. et Lilburn T.G. (2004). Taxonomic Outline of the Procaryotes, Bergey's Manual of Systemetic Bacteriology, 2^{ème} Edition. Release, Springer-Verlag, New Tork, 5.

Gazenko S.V., Reponen T.A., Grinshpun S.A., Willeke K. et Cole E.C. (1998). Analysis of airborne actinomycetes spores. *Appl. Environm. Microbiol.* **64**: 4410-4415.

Gesheva V., Ivanova V. et Gesheva R. (2005). Effects of nutrients on the production of AK-111-81 macrolide antibiotic by *Streptomyces hygroscopicus*. *Microbiol. Res.* **160**: 243-248.

Ghuysen J.M., Charlier P., Coyette J., Duez C., Fonze E., Fraipont C., Goffin C., Joris B. et Nguyen-Disteche M. (1996). Penicillin and beyond : Evolution, protein fold, multimodular polypeptides, and multiprotein complexes. *Microbiol. Drug. Resist.* **2**: 163-175.

Green D.W. (2002). The bacterial cell wall as a source of antibacterial targets. *Expert. Opin. Ther. Targets.* **6**: 1-19.

Guerin-Fauble V. (2010). Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. *In* : Journées nationales GTV. Lille, SNGTV, Paris, 93-101.

Helali A. (1999). Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en médecine. Édition ENG, 135.

Hendlin D., Stapley E.O., Jackson M., Wallick H., Miller A.K., Wolf F.J., Miller T.W., Chalet L., Kahan F.M., Foltz E.L., Woodruff H.B., Mata J.M., Hernandez S. et Mochales S. (1969). *Sc.* **166** : 122-123.

Hennel C.K. (2006). Pharmacovigilance vétérinaire : application aux médicaments antibactériens, anti-inflammatoires et antiparasitaires. Thèse de Doctorat vétérinaire. Faculté de médecine, Créteil, 83-99.

Higgs R.E., Zahn G.A., Gygi J.D. et Hilton M.D. (2001). Rapid method to estimate the presence of secondary metabolites in microbial extracts. *Appl. Environ. Microbiol.* **67(1)**: 371-376.

Hobbs G., Frazer C.M., Gardner D.C.J., Cullum J.A. et Olivier S.G. (1989). Dispersed growth of *Streptomyces* in liquid culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **31**: 272-277.

Hodgson D.A. (1992). Differentiation in actinomycete, dans: Mohan S., Dow C. et Cole J.A. Prokaryotic structure and function. Society of General Microbiology Symposium 47. *Cambridge University Press Edition*: 407-440.

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

Jerome J.P., James T.S. et Stephen L. (2002). Microbiologie : cours et question de révision. Dunod, paris, 492, 499-500.

Joffin J.N. et Leyer G. (2006). Microbiologie technique. Tom 1. Dictionnaire des technique. Bordeaux, France : Centre Régional de documentation Pédagogique, 368.

Kaul M. et Pilch D.S. (2002). Thermodynamics of aminoglycoside-rRNA recognition : the binding of neomycin-class aminoglycosides to the A of 16S rRNA. *Bioch.* **41(24)** : 7695-706.

Kendrick K.E. et Ensign J.C. (1983). Sporulation of *streptomycesgriseous* in submerged culture. *J. Bacterial.* **155(1)**: 357- 366.

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

Kitouni M. Boudemagh A. Oulmi L. Reghioua S. Boughachiche F. Zerizer H. Hamdiken H. Couble A. Mouniee D. Boulahrouf A. et Boiron P. (2005). Isolation of actinomycètes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north–east of Algeria. *J. Med. Mycol.* 15: 45-51.

Kuster E. et Williams S.T. (1964). Selection of media for isolation of streptomycètes. *Nature.* **202**: 928-929.

Labro M. (2002). Cellular accumulation of macrolide antibiotics. Intracellular bioactivity, dans : Kirst H. et Shonfeld W. Macrolides. *BirkhauserVerlag, Basel-Boston-Berlin*: 37-52.

Lacey J. (1973). actinomycetes in soils, composts and fodders. *In: Actinomycetales: characteristics and practical importance.* Eds: G. Sykes, F.A. Skinner. Academic press, London, New York, 231- 251.

Lamari L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de doctorat, E.N.S. de Kouba (Algérie), 177.

Lebrihi A., Lefebvre G. et Germain P. (1988). A study on the regulation of cephamycin C and expandase biosynthesis by *Streptomyces clavuligerus* in continuous and batch culture. *Appl Microbiol Biotechnol.* **28**: 39-43.

Leclerc H., Izard D., Husson M.O., Watre P. et Jakubczake. (1983). Microbiologie Générale : La bactérie et le monde bactérien. Paris : Doin Editeurs.- 369.

Leclerc H., Gaillard J.L. et Simonet M. (1995). Microbiologie Générale: La bactérie et le monde bactérien. Paris : Doin Editeurs, 516-517- 535.

Lounès A., Lebrihi A., Benslimane C., Lefebvre G. et Germain P. (1995). *ambofaciens*. *Curr. Microbiol.* **31** : 304-311.

Lozniewski A. et Rabaud C. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux. Centre de Coordination de lutte contre les infections Nosocomiales. Sud-Est, Nancy, 4

Madigan M.T et Martinko J.M. (2007) Biologie des microorganismes. *Pearson Education France*, 11^{ème} Edition : 331-423, 686-718.

Malcolm J.R., Jensen S.E. et Westlake W.S. (1989). Regulation of antibiotic production by iron and oxygene during defined medium fermentation of *Streptomyces calvuligerus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **31** : 390-396.

Martin A.F. et Demin A.L. (1980). Control of antibiotic biosyntheses. *Microbiol. Rev.* **44**: 230-251.

Mccormick M.H., Mcguire J.M., Pittenger G.E., Pittenger R.C., et Stark W.M. (1955). Vancomycin, a new antibiotic, chemical and biologic properties. *Antibiot Annu.* **3**: 606–611.

Mellouli L., Ben Ameer-Mehdi R., Sioud S., Salem M. et Bejar S. (2003). Isolation, purification and partial characterization of antibacterial activities produced by a new isolated *Streptomyces* sp. US24 strain. *Res. Microbiol.* **154**: 345-352.

Meyer A., Deiana J. et Bernard A. (2004). Biosciences et techniques. 2^{ème} Edition. France : Doin Editeurs , 304.

Miao L., Kwong T.F.N. et Qian P.Y. (2006). Effect of culture conditions on mycelial growth, antibacterial activity, and metabolite profiles of the marine-derived fungus *Arthrinium* c.f. *saccharicola*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **72**: 1063-1073.

Miguel E.M., Hardisson C. et Manzanal M.B. (2000). Streptomycete: a new model to study cell death. *Inter Microbiol.* **3**: 153-158.

Morel C. et Marcy R. (1973). Les Antibiotiques: mécanismes d'action, antibiorésistance, et son exploration au laboratoire. Numéro 6 de Conférences post-universitaires de Basse-Normandie. Edition U.E.R. des sciences pharmaceutiques : Société de pharmacie, 17.

Ninet L. et Verrier J. (1960). Production of spiramycin. United States Patent (N°2,943,023), Noorman H. Methodology and modelling of microbial metabolism. Thèse de doctorat, Technische Universities. Delft, 1991.

Novella I.S., Barbes C. et Sanchez J. (1992). Sporulation of *Streptomyces antibioticus* ETHZ 7451 in submerged culture. *Can. J. Microbiol.* **385(8)**: 796- 773.

Omura S. (1992). The search for bioactive compounds from microorganisms. Springer Verlag, New York. Inc, 281- 303.

Osborne M.J. (1969). *Annu. Rev. Biochem.* **38** : 501-505.

Perronne C. (1999). Maladies infectieuses. Paris : Doin, 21-23.

Perry J.J., Staley J.T. et Lory S. (2004). Microbiologie, cours et questions de révision. Paris : Dunod, 891.

- Petrosyan P., Garcia-Varela M., Luz-Madriral A., Huitron C. et Floress M.E. (2003).** *Streptomyces mexicans* sp. Nov., à xylanolytic microorganism isolated from soil. *Int. Jo. syst. Evol. Microbiol.* **53** : 269-273.
- Pine L. (1970).** Classification and phylogenetic relationship of microaerophilic actinomycetes. *Int. J. Bactriole.* **20**: 445-474.
- Porter J.N. (1971).** Prevalence and distribution of antibiotic producing actinomycetes. *Adv. Appl. Microbiol.* **14**: 73-92.
- Prescott J.F., Baggot J.D. et Walker R.D. (2000).** Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 3^{ème} édition. Iowa State University Press. 14-509.
- Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A. (2007).** Microbiologie. *De Boeck & Larcier. Bruxelles*: 805-825.
- Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A. (2010).** Microbiologie. 3^{ème} édition. *De Boeck & Larcier. Bruxelles*: 838-839.
- Reponen T.A., Gazenko S.V., Willeke K. et Cole E. C. (1998).** Characteristics of airborne actinomycetes spore. *Appl. Environm. Microbiol.* **64**: 3807-3812.
- Reynolds P.E. (1989).** Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptides antibiotics. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **8 (11)** : 943–950.
- Rice, L.B. (2000).** Bacterial monopolists: the bundling and dissemination of antimicrobial resistance genes in gram-positive bacteria. *Clin. Infect. Dis.* **31** : 762-69.
- Rohrer S. et Berger-Bachi B. (2003).** Fem ABX peptidyl transferases: a link between branched-chain cell wall peptide formation and beta-lactam resistance in gram-positive cocci. *Antimicrob. Agents. chemother.* **47**: 837-846.
- Sanglier J.J. et Trujillo M. (1997).** Substances bioactives produites par les actinomycètes et stratégie de sélection de souches. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* **12** :13.
- Savard P.Y. (2003).** Caractérisation structurale et dynamique de la bêta-lactamase TEM-1 de la bactérie *Escherichia coli* par RMN liquide, Philosophiae Doctor de Biochimie et de Microbiologie. Faculté des Sciences et de Génie. Université Laval, Québec, 224.

Scherrer R. et Gerhardt P. (1971). Molecular sieving by the *Bacillus megaterium* cell wall and protoplast. *J. Bacteriol.* 107:718-735.

SCOTT G. (2009). Antibiotic resistance. *Med.* **37(10)** : 551–556.

Simonet M., Gaillard J.L. et Leclerc H. (1995). Les agents antimicrobiens. *In* : La Microbiologie générale- la bactérie et le monde bactérien. Paris : Doin Editeurs. 504-510.

Singh M.P., Peterson P.J., weiss W.J., Kong F. et Greenstein M. (2000). Saccharomyces, novel heptadeca glycoside antibiotic produced by Saccharotrix spananses. *Antimicrobiol Agents and Chemotherapy.* **44** : 2154-2159.

Singleton P. (2004). Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6^{ème} Edition. Paris : Dunod, 459- 460.

Slee A.M., Wuonola M.A., Mcringley R.J., Zajac I., Zawada M.J., Bartholomew P.T., Gregory W.A. et Forbes M. (1987). Oxazolidinones, a new class of synthetic antibacterial agents in vitro and in vivo activities of DuP 105 and DuP 721. *Antimicrob Agents Chemother.* **31(11)**: 1791-7.

Smaoui S. (2010). Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat. Génie de procédés et environnement Institut National Poly technique de Toulouse, France, 181.

Smith J. et Lewin C. (1993). Mechanisms of antimicrobial resistance and implication for epidemiology. *Vet. Microbiol.*, 35, 233–242.

Stackebrandt E., Rainey F.A. et Ward-Rainey N.L. (1997). Proposal for a new Hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **47**: 479-491.

Sujatha P., Bapi-Raju K.V.V.S.N. et Ramana T. (2005). Studies on a new marine streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Res.* **160**: 119-126.

Summers A. O. (2006). Genetic linkage and horizontal gene transfer, the roots of the antibiotics multi resistance problem. *Animal Bio-tech.* **17**: 125-135.

Suutari M., Lignell U., Hyvarinen A. et Nevalainen A. (2002). Media for cultivation of indoor streptomycetes. *J. Microbial Meth.* 1668- 1674.

Swaney S.M., Aoki H., Ganoza M.C. et Shinabarger D.L., (1998). The oxazolidinone linezolid inhibits initiation of protein synthesis in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* **42(12)** :325-5. <http://www.umc.edu.dz/buc/theses/biologie/KIT5003.pdf - page=99>

Tanaka Y. (1992). Fermentation processes in screening for new bioactive substances. *In* : the search for bioactive compound from microorganismes. Edition. spring-verlag. New York, 303 325.

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

Tortora A.M., Cabrini E. et Viviani M.A. (1979). Sensibilité in vitro des levures à cinq antibiotiques. Comparaison de deux methods C.M.I. en gélose et methods des disques. *Bull. Soc. Fr. Myc.Méd.* **8**: 69-74.

Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L. et Martin L. (2003). Introduction à la microbiologie. 2^{ème} édition. De Renouveau pédagogique. *Québec*, P 353.

Van Heijenoort J. (2001). Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan. *Glycobiol.* **11**: 25R-36R.

Vining L.C. (1987). Biotechnology and antibiotics. *J. Indus. Microbiol.* **27**: 1-10.

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

Voelker F. et Altaba S. (2001). Nitrogen source governs the patterns of growth and pristinamycin production in *Streptomyces pristinaespiralis*. *Microbiol* **147** : 2447- 2459.

Waksman S.A. (1959). The actinomycetes: nature, occurrence and activities, Williams and Wilkins. Copan, Baltimore, **1**: 29 – 46.

Walch C. (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature.* **406**: 775-781.

Weyland H. (1981). Destruction of actinomycetes on the sea floor. *In* : Actinomycetes. Eds : K. Schaal , G. Pulverer. Gustar Fisher Verlag, Stuttgart, New york. Zbl. Bakt. Suppl. 11, 185-193.

Williams S.T., Lanning S. et Wellington E.M.H. (1984). Ecology of Actinomycetes. *In: the biology of the actinomycetes.* Eds: Modarski M. et Williams S.T. Academic press, London, New York, Sydney, Tokyo, Sao Paulo, 481-528.

Wright G.D. (2007). The antibiotic resistance: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Rev. Microbial.* **5:** 175-186.

Yala D. Merad A.S., Mohamedi D., OuarKorich M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine de Maghreb.* N°91.

Yu J., Liu Q., Liu Q., Liu X., Sun Q., Yan J., Qi X. et Fan S. (2008). Effect of liquid culture requirements on antifungal antibiotic production by *Streptomyces rimosus* MY02. *Bio. resource Technol.* **99:** 2087-2091.

Zaitlin B. Watson S.B., Ridal J., Satchwill T. et Pakinson D. (2003). Actinomycetes in Lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. *Res. J. Can.* **95(2):** 113- 118.

Zomahoun C.L.N.P. (2005). Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires. Thèse de doctorat. laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier universitaire-Hubert Koutoukou Maga. Université du Mali, 91.

Annexes

Annexe 1 : La composition des milieux de culture

Milieu AF

Agar.....	15g/l
Extrait de levure.....	4g/l
Extrait de malt.....	10g/l
Glucose.....	2g/l
NaCl.....	2,5g/l
CaCO ₃	1g/l
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 7,0

Milieu Bennett

Agar.....	15g/l
Extrait de levure	2g/l
Extrait de viande.....	1g/l
Peptone	2g/l
Glucose.....	10g/l
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 7,3

Milieu GBA

Agar.....	15g/l
Amidon.....	20g/l
Glycérol.....	20g/l
Peptone.....	10g/l
Extrait de viande	5g/l
CaCO ₃	3g/l
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 7,0

Milieu SC

Agar.....	15g/l
Glycérol.....	30g/l
Saccharose.....	30g/l

NaNO₃.....2g/l
K₂HPO₄.....1g/l
MgSO₄.7H₂O.....0,5g/l
KCl.....0,5g/l
L-asparagine.....0,5g/l
FeSO₄.7H₂O.....0,01g/l
Eau distillée.....1000 ml

pH : 7,0

Milieu ISP2

Agar.....15g/l
Extrait de levure.....4g/l
Extrait de malt.....10g/l
Glucose.....4g/l
Eau distillée.....1000 ml

pH : 7,3

Milieu Amidon-caséine

Amidon soluble.....10g
Caséine.....1g
K₂HPO₄.....0,5g
Agar.....15g
Eau distillée.....1000 ml

pH : 7-7,5

Milieu gélose nutritive

Extrait de viande.....1g
Extrait de levure.....2g
Peptone6g
Chlorure de sodium.....5g
Agar14g

Eau distillée.....1000 ml

pH = 7,3

Milieu Mueller-Hinton

Agar10g/l

Extrait de viande.....2g /l

Hydrolysate acide de caséine.....17,5g/l

Amidon.....1,5g/l

Eau distillée.....1000 ml

pH : 7,0

Bouillon nutritif

Peptone.....10g

Extrait de levure.....5g

NaCl.....5g

pH : 7,2

Stérilisation : 120°C-20 mn.

Eau physiologique

NaCl.....9g

Eau distillée.....1000 ml

Annexe 2 :

Préparation de la solution 0.5 Mc Farland

Solution BaCl₂. 2H₂O.....0,6 ml à 1%

Solution H₂SO₄.....99,4 ml à 1%

Résumé

L'étude de l'activité antibactérienne de deux souches de *Streptomyces* d'origine saharienne a été mise en évidence sur cinq milieux de culture différents : GBA, AF, SC, Bennett et ISP2 par une technique de diffusion sur gélose (technique des cylindres d'agar). L'activité a été testée vis-à-vis de trois bactéries provenant de l'American Type Culture Collection (ATCC) et onze bactéries cliniques.

Les deux souches prises du milieu GBA présentent une activité inhibitrice contre cinq (5) bactéries à Gram négatif et deux (2) bactéries à Gram positif ce qui montre une activité cible les bactéries à Gram négatif. Cette étude nous a permis de sélectionner le milieu GBA comme étant le milieu adéquat qualitativement et quantitativement pour la souche SA2 avec 52.38% tandis que l'activité antibactérienne de la souche SA1 a atteint son max sur le milieu SC (69.05%). La meilleure souche productrice d'antibiotiques anti-Gram négatif et anti-Gram positif est la SA1.

Mots clés : *Streptomyces*, antibiotique, activité antibactérienne, bactéries test.

Abstract

The study of the antibacterial activity of two *Streptomyces* strains of Saharan origin was demonstrated in five different culture media: GBA, AF, SC, Bennett and ISP2 by agar diffusion technique (technique cylinders agar). The activity was tested vis-à-vis three bacteria from the American Type Culture Collection (ATCC) and eleven clinical bacteria. The two strains taken from GBA medium have an inhibitory activity against five (5) Gram-negative bacteria and two (2) Gram-positive bacteria which shows a target Gram negative activity. This study allowed us to select the GBA environment as a suitable medium qualitatively and quantitatively for the SA2 strain with 52.38% while the antibacterial activity of SA1 strain reached its max on SC medium (69.05%). The best strain of anti-Gram-negative antibiotics and anti-Gram-positive producer is SA1.

Keywords: *Streptomyces*, *antibiotic*, antibacterial, bacteria test

ملخص:

وقد أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا عند اثنين من سلالات *Streptomyces* و التي هي من أصل صحراوي في خمسة أوساط مغذية مختلفة: GBA، AF، SC، Bennet و ISP2 بواسطة تقنية نشر الأجار (تقنية اسطوانات الأجار).

تم اختبار نشاط ثلاثة بكتيريا مصدرها المجموعة الأمريكية لأنواع الأوساط المغذية (أي تي سي سي) وأحد عشر بكتيريا إكلينيكية. وتظهر السلالتين الأخوذتين من الوسط GBA نشاط كابح ضد خمسة (5) بكتيريا سالبة الجرام واثنان (2) بكتيريا إيجابية الجرام مما يدل على أن النشاط يتركز على البكتيريا السلبية الغرام. وسمحت لنا هذه الدراسة باختيار الوسط المغذي GBA كوسط مثالي من حيث الجودة و الكمية بالنسبة للسلالة SA2 بنسبة 52.38 %، بينما وصل النشاط المضاد للبكتيريا لسلالة SA1 ذروته في الوسط SC (69.05 %). أما أحسن سلالة منتجة للمضادات الحيوية المضادة لسالبة الغرام و المضادة لموجبة الغرام هي SA1.

الكلمات المفتاحية: *Streptomyces* ، المضادات الحيوية، النشاط المضاد للبكتيريا، البكتيريا التجريبية

Thème : L'activité antibactérienne de deux souches de *Streptomyces* sp. d'origine saharienne.

Nature du diplôme : Master.

Domaine : Science de la nature et de la vie.

Mention : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé :

L'étude de l'activité antibactérienne de deux souches de *Streptomyces* d'origine saharienne a été mise en évidence sur cinq milieux de culture différents : GBA, AF, SC, Bennett et ISP2 par une technique de diffusion sur gélose (technique des cylindres d'agar). L'activité a été testée vis-à-vis de trois bactéries provenant de l'American Type Culture Collection (ATCC) et onze bactéries cliniques.

Les deux souches prises du milieu GBA présentent une activité inhibitrice contre cinq (5) bactéries à Gram négatif et deux (2) bactéries à Gram positif ce qui montre une activité cible les bactéries à Gram négatif. Cette étude nous a permis de sélectionner le milieu GBA comme étant le milieu adéquat qualitativement et quantitativement pour la souche SA2 avec 52.38% tandis que l'activité antibactérienne de la souche SA1 a atteint son max sur le milieu SC (69.05%). La meilleure souche productrice d'antibiotiques anti-Gram négatif et anti-Gram positif est la SA1.

Mots clés : *Streptomyces*, antibiotique, activité antibactérienne, bactérie-test.

Laboratoire de recherche : laboratoire de génie microbiologique et applications.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr Kitouni M. Maître de conférences, Université Constantine 1

Encadreur : Mme. Reghioua S. Maître assistante A, Université Constantine 1

Co-encadreur : Mme. Mergoud L. Maître assistante A, Université Constantine 1

Examinatrice : M^{elle}. Bouchloukh W. Maître assistante A, Université Constantine 1