

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE  
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ KASDI MERBAH-OUARGLA-

Faculté des Sciences de Nature et de la Vie  
Département des Sciences Biologique



Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master en  
Microbiologie appliquée.

**Thème :**

**Isolement d'actinobactéries du  
sol de la région de Ouargla**

Le : 22/06/ 2023

**Présenté par :**

- \* ALIAT Rahma
- \* BECHGAG Fatma Zohra

**Membres de jury :**

Président	BELDAI Nadia	MCA
Examineur	BOUDERHEM Amel	MCB
Encadreur	BOUAZIZ Sabrina	MCB

Année Universitaire : 2022 / 2023

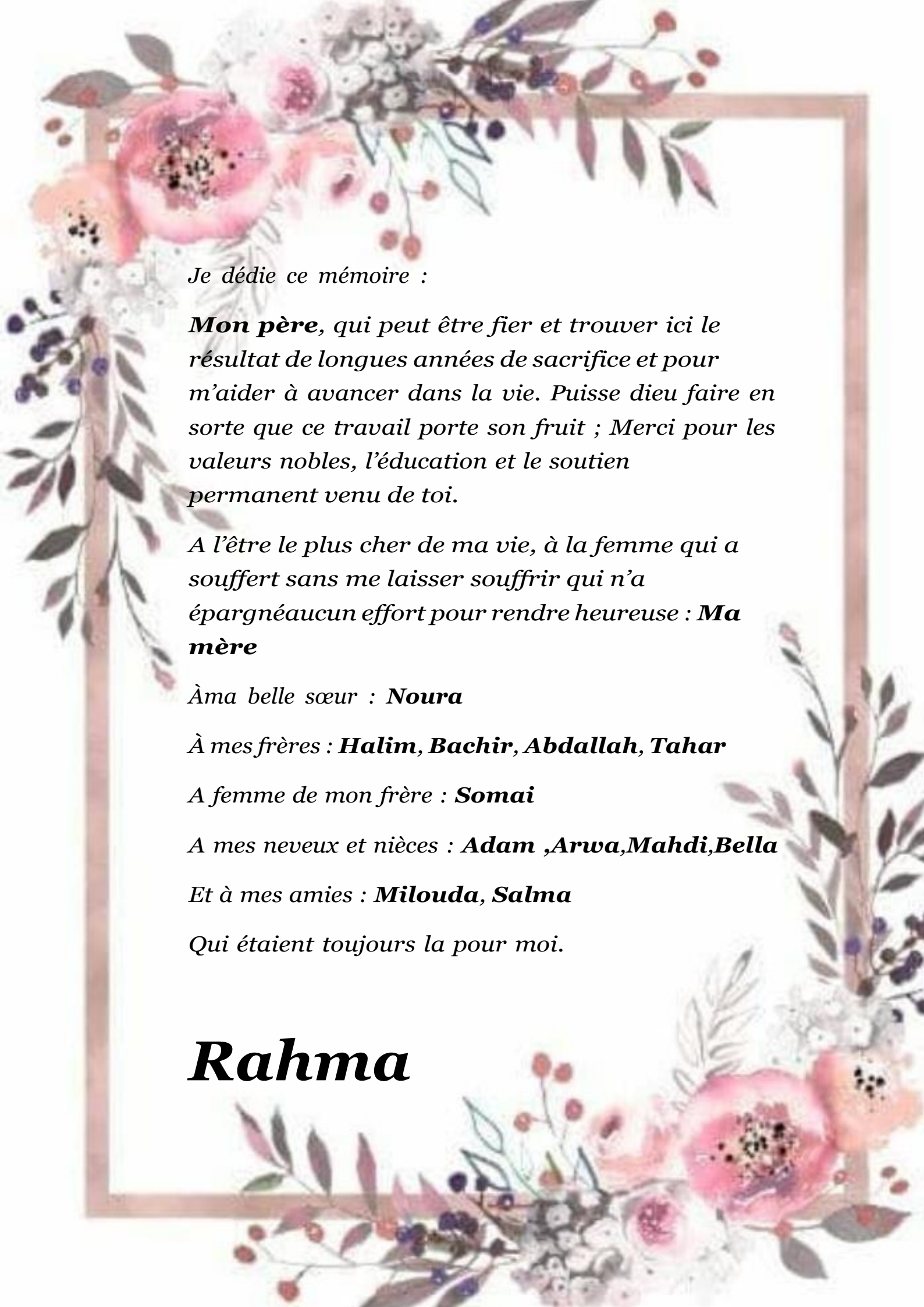
## *Remerciements*

*Avant tout nous remercions "Allah" le tout puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné le courage, la volonté, la force, la santé et la persistance pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous tenons à exprimer toute nos gratitude à Mme. BOUAZIZ Sabrina, pour avoir encadré et dirigé ce travail, et pour sa disponibilité, sa patience, sa compétence, ses précieux conseils, la confiance qu'il nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce mémoire. Merci pour les orientations et les encouragements qui nous ont permis de progresser, et d'élargir notre champ de vision du travail de recherche.*

*Nous exprimons nos profondes reconnaissances et gratitude à toutes les personnes qui ont apporté leur aimable contribution à ce travail par leurs remarques, leur conseil et leur encouragement en particulier.*

*Enfin Merci à tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidés, soutenus et encouragés à la réalisation de ce mémoire.*



*Je dédie ce mémoire :*

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

*A l'être le plus cher de ma vie, à la femme qui a souffert sans me laisser souffrir qui n'a épargné aucun effort pour rendre heureuse : **Ma mère***

*À ma belle sœur : **Noura***

*À mes frères : **Halim, Bachir, Abdallah, Tahar***


*A femme de mon frère : **Somai***

*A mes neveux et nièces : **Adam ,Arwa,Mahdi,Bella***

*Et à mes amies : **Milouda, Salma***

*Qui étaient toujours là pour moi.*

***Rahma***



*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail à :*

*A l'homme , mon précieux offre du dieu , qui  
doit ma vie , ma réussite et tout mon respect :  
mon cher père **Ahmed**.*

*A la femme qui a souffert sans me lasser souffrir  
,qui n'ajamais dit non à mes exigences et qui n'a  
épargné aucun effort pour me rendre heureuse :  
mon adorable mère **fatma**.*

*A ma soeurs : **Kaltom , Marime , Najatt***

*À mes frères : **Abdalli , Abdelbarie , Abd el  
hamid***

*À ma chérie **Fatima Bkraoi***

*À ma cousine ma mère : **Aicha***

*À mon cher oncle **Mahamed***

*À mes grands-mères*

*À tout les amies*

**Fatma zohra**

## Index des figures

<b>Figure n°1.</b> Coupe transversale d'une colonie d'actinobactéries qui se développant sur gélose (Prescott et <i>al.</i> , 2018).....	4
<b>Figure n°2.</b> Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes sporulants (Barka, 2015).....	6
<b>Figure n°3.</b> Micromorphologie de quelques espèces d'actinomycètes appartenant à différents genres.....	9
<b>Figure n°4.</b> Application biotechnologie des actinobactéries (Anandan, 2016).....	15
<b>Figure n°5.</b> Mode d'action des antibiotiques (beta –lactamines) (Lozniewski et Rabaud, 2010).....	19
<b>Figure n°6.</b> Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative (Guardabassi -Courvalin, 2006).....	20
<b>Figure n°7.</b> Situation géographique de la zone de prélèvement (Google Maps access 24 .05.2023).....	24
<b>Figure n°8.</b> Situation géographique de site palmerais de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Google Maps le 28/04/2022).....	26
<b>Figure n°9.</b> Situation géographique de la région de Chott de Ain El Beida (Google Maps le 28/04/2022).....	26
<b>Figure n°10.</b> Technique de dilution de sol et d'isolement (Delarras, 2014).....	27
<b>Figure n°11.</b> Distribution des isolats d'actinobactéries par milieu de culture de sol de palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie.....	34
<b>Figure n°12.</b> Distribution des isolats d'actinobactéries par milieu de culture de Chott Ain EL Beida.....	35
<b>Figure n°13.</b> Activité antimicrobienne des actinomycètes contre les microorganismes cibles <i>Candida albicans</i> , <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
<b>Figure n°14.</b> Activité antimicrobienne des actinomycètes contre les bactéries Gram négatif ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus sp.</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> ).....	45
<b>Figure n°15.</b> Pourcentages des isolats d'actinomycètes ayant une activité antimicrobienne vis-à-vis des souches tests utilisées.....	46

## Index des tableaux

<b>Tableau I.</b> Répartition des actinomycètes dans la nature ( <b>Saker, 2015</b> ).....	7
<b>Tableau II.</b> Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries ( <b>Goodfellow et al., 2012</b> ).....	10
<b>Tableau III.</b> Types des phospholipides rencontrés chez les actinomycètes ( <b>Harir, 2018</b> ).....	12
<b>Tableau IV.</b> Quelque genre d'actinomycètes et leur CG% ( <b>Larpent et Sanglier, 1989</b> ).....	13
<b>Tableau V.</b> Exemples d'antibiotiques produits par les actinobactéries ( <b>Aitbarka et al., 2016</b> ). .....	17
<b>Tableau VI.</b> Paramètres physico-chimiques des enzymes produit par les actinomycètes ( <b>Prakach et al., 2013</b> ).....	22
<b>Tableau VII.</b> Microorganismes cibles utilisée.....	29
<b>Tableau VIII.</b> Isolats d'actinobactéries obtenues selon le sol et les milieux utilisés.....	33
<b>Tableau IX.</b> Profils antimicrobiens des isolats d'actinobactéries sélectionnés (Diamètre des zones d'inhibitions en mm).....	39
<b>Tableau X.</b> Résultats d'activité enzymatique des souches d'actinobactéries sélectionnée.....	49

## Index des photos

<b>Photo n°1.</b> Sol de palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie.....	25
<b>Photo n°2.</b> Sol de Chatt Ain EL Beida.....	25
<b>Photo n°3.</b> Aspect macroscopique de quelques souches d'actinobactéries isolées (originale). .....	36
<b>Photos n°4.</b> Aspect microscopique de quelques souches d'actinomycètes à l'état frais (G×10). .....	37
<b>Photo n° 6.</b> Aspect microscopique de différentes souches d'actinomycètes après coloration de Gram (G×100).....	37
<b>Photos n°5.</b> Aspect microscopique de quelques souches d'actinomycètes après coloration de Gram (×10).....	37
<b>Photo n°7.</b> Activité antimicrobienne des souches d'actinobactéries vis-à-vis quelques microorganismes cibles.....	48
<b>Photo n° 8.</b> Résultat positif de l'activité uricasique de quelques souches actinomycètes étudiées sur le milieu contenant de l'acide urique.....	51
<b>Photo n°9.</b> Résultat positif de l'activité de la L-asparagine de quelques souches actinomycètes étudiées sur le milieu M9.....	52



## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	Acide Ribonucléique
<b>ARNr</b>	Acide Ribonucléique ribosomique
<b>C°</b>	Degré Celsius
<b>E. coli</b>	Escherichia coli
<b>EC</b>	Enzymes Commission
<b>G/g</b>	gramme
<b>GC%</b>	Pourcentage Guanine et Cytosine
<b>Isp4</b>	Gélose inorganique-amidone
<b>IUBMB</b>	International Union of Biochemistry and Biology
<b>L</b>	Litre
<b>M2</b>	Milieu Williams et Kuster
<b>MA</b>	Mycélium Aérien
<b>MS</b>	Mycélium du substrat
<b>NaCl</b>	Clore de sodium
<b>PH</b>	Potentiel d'hydrogène
<b>mm</b>	Millimètre
<b>ml</b>	millilitre



<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Index des figures</b>	
<b>Index des tableaux</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	

## Table des matières

Table des matières .....	•
Introduction .....	•

### Chapitre I. Généralité sur les actinomycètes

Généralité sur les actinomycètes.....	3
Définition.....	3
Morphologie des actinomycètes.....	4
Physiologie.....	5
PH.....	5
Oxygène.....	5
Formes fermentatives anaérobies :.....	5
Formes oxydatives aérobies :.....	5
Température.....	5
Tolérance pour NaCl.....	5
Les halophiles.....	5
Les halotolérants.....	6
Cycle de développement des actinomycètes.....	6
Ecologie.....	6
Taxonomie.....	8
Critères morphologiques.....	8
Macromorphologie.....	8
Micromorphologie.....	8
Critères physiologiques.....	11
Critères chimio-taxonomiques.....	11
Amino acides.....	11
Sucres.....	11
Lipides.....	12
Phospholipides.....	12
Taxonomie numérique.....	12
Critères moléculaires.....	13
Détermination du pourcentage de guanine-cytosine (G+C).....	13
Séquençage de l'ADNr 16S.....	13
Hybridation ADN-ADN.....	14
Importance.....	14
En biotechnologie.....	14
En agronomie.....	15
<b>Chapitre II. Métabolites secondaires sécrétés par les Actinomycètes</b>	
Antibiotique.....	16
Généralité.....	16

Définition.....	16
Mécanismes d'action des antibiotiques.....	17
Action sur la membrane plasmique.....	17
Action sur la paroi.....	17
Inhibition de la synthèse des protéines.....	18
Action sur l'ADN bactérienne.....	18
Résistance aux antibiotiques.....	19
II.1.4 .1.Types de résistance.....	19
Résistance naturelle.....	19
Résistance acquise.....	20
Enzymes.....	20
Généralité.....	20
Enzymes sécrétés par les actinobactéries.....	21
Cellulase.....	21
Chitinase.....	21
Pectinases.....	21
Alpha- amylases.....	21
II.2.4.5. Xylanases.....	21
Lipases.....	21
Uricase.....	22
La l-asparaginase.....	22
II.2.3. Caractéristiques des enzymes synthétisées par les actinomycètes.....	22

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre III. Matériel et méthodes**

Sites d'études et échantillonnage.....	24
Site de prélèvement de l'échantillon.....	24
Méthode de prélèvement.....	26
Isolement, dénombrement, purification et conservation des souches.....	27
Milieux d'isolement.....	27
Technique d'isolement et conditions d'incubation.....	27
Dénombrement et sélection des actinobactéries.....	28
Identification des souches.....	28
Etude des caractères morphologiques.....	28
Eude macromorphologique.....	28
Etude micromorphologique.....	28
État frais.....	28
Coloration de Gram.....	28
Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches d'actinobactéries isolées.....	29
Mise en évidence de l'activité enzymatique.....	29
Recherche de la L-asparaginase.....	29
Recherche de l'uricase.....	30

#### **Chapitre IV.Résultats et discussions**

Résultats d'isolement des actinomycètes.....	31
--	----

Résultats d'identification des actinobactéries.....	35
Identification macromorphologique.....	35
Identification micromorphologique.....	36
Mise en évidence de l'activité antimicrobienne.....	37
Mise en évidence de l'activité enzymatique.....	49
Réparation des activités selon la nature du substrat dégradé.....	50
Dégradation de l'acide urique.....	50
Dégradation de l'asparagine.....	51
Conclusion.....	
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>56</b>
Annexes.....	

# Introduction

Les sols présentent une grande diversité en termes de composition chimique mais également biologique. Quelques grammes de sols peuvent contenir des milliers voire des centaines de milliers d'espèces microbiennes. Ces espèces ont une répartition en fonction des caractéristiques physico-chimiques des sols, de leur capacité à vivre en aérobie ou anaérobie, mais également en fonction d'interactions avec certains organismes supérieurs dont les végétaux et la microfaune. Les actinomycètes représentent une partie importante de la population microbienne du sol, ou ils sont trouvés de la surface jusqu'à plus de deux mètres de profondeur (**Bertrand et al.,2011**)

Le nom du groupe des actinomycètes est dérivé de la première espèce décrite, *Actinomyces*, qui provoque l'actinomycose la maladie des bétails. À l'origine, ils étaient considérés comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et les champignons mais sont maintenant reconnus comme de vraies bactéries grâce à leur la composition chimique de leur paroi cellulaire, en particulier en lipides et la structure du peptidoglycane (**Cavan et al.,2013**)

Les actinomycètes sont des bactéries saprophytes qui colonisent une grande variété de substrats terrestres et aquatiques dans un environnement physique et chimique en constante évolution. Elles ont des capacités métaboliques distinctes, mais plus important encore, elles sont l'une des sources les plus prolifiques de métabolites bioactifs secondaires (**Kurt Boké,2017**).

L'une des principales sources de fermentation dans de nombreuses bioindustries sont les produits naturels dérivés des émissions de microorganismes. Les microorganismes sont largement utilisés dans les biotechnologies pour la production de plusieurs métabolites primaires et secondaires à valeur ajoutée et aux activités biologiques très importantes. Ils sont reconnus comme des agents efficaces pour la transformation, la dégradation et la production d'une variété de métabolites utiles (**Domain,2000**).

Les actinomycètes sont capables de métaboliser plusieurs et différent composé comme les sucres (polysaccharides), les alcools, les acides aminés et les composés aromatiques par production d'enzymes extracellulaires. Leur aptitude à dégrader les pesticides, les herbicides et les hydrocarbures avait également été signalée (**Beni méli et al.,2003**).

*Streptomyces* est le genre dominant dans le groupe des actinobactéries, leur espèce étant connues comme productrices d'antibiotiques naturels, d'enzymes et autres métabolites.

Environ 6000 antibiotiques d'origine microbienne ont été caractérisés, et environ 60% d'entre eux sont produit par des actinomycètes (**Gunasalus,1986**). Bien que le développement des antibiotiques ait marqué une nouvelle étape dans l'amélioration de la qualité et la durée de vie. L'évolution constante des bactéries résistantes limite leur utilisation (**Budmash et al.,2005**).

Les enzymes utilisées plusieurs domaines tels que la biologie moléculaire (endonucléases de restriction). Bien que les restrictions actinobactéries sont riche source d'enzymes, elles produisent également un grand nombre d'inhibiteurs d'enzymes (**Imad,2005**).

L'objectif principal de notre étude consiste en isolement des souches d'actinobactéries à partir de sol saharien, cas de la région de Ouargla, on utilisant déférent milieux des cultures et la recherche des activités antimicrobiennes et enzymatiques de souches isolées.

L'étude a porté sur les étapes suivent :

- ❖ Première partie est une synthèse bibliographique qui contient deux chapitres :
  - Chapitre 1 : Généralité sur les actinomycètes
  - Chapitre 2 : Métabolite secondaire sécrété par actinomycètes
- ❖ Deuxième partie expérimentale qui contient deux chapitres :
  - Chapitre 3 : Matériel et méthodes
  - Chapitre 4 : Résultats et discussion

Et en fin des perspectives qui achève le travail.

**Chapitre I.**  
**Généralité sur les**  
**actinomycètes**



## **Généralité sur les actinomycètes**

Traditionnellement, les actinomycètes étaient considérés comme des formes de transition entre les champignons et les bactéries. En effet, comme les champignons filamenteux, de nombreuses actinobactéries produisent un mycélium, et nombre de ces actinomycètes mycéliens se reproduisent par sporulation (**Barka, 2015**).

Ce groupe comprend actuellement plus de 250 genres et quelques centaines d'espèces (**Medjemadj, 2021**). Les recherches de Waxman ont démontré que les actinomycètes produisent des antibiotiques (**Hazarik et al., 2020**).

Près de 100 substances antibiotiques ont été rapportées dans la littérature comme métabolites des actinomycètes. Ces bactéries sont bien connues pour la production de plusieurs composés bioactifs (**Medjemadj, 2021**).

La croissance des actinomycètes sur milieu solide forme un mycélium de substrat et un mycélium aérien. Cependant, certaines populations ne forment que des mycéliums de substrat ou des mycéliums aériens qui se développent en surface et dans le milieu, dont les hyphes sont attachés au milieu par fixation (**Perry et al., 2004**).

Leur paroi cellulaire ne contient ni chitine ni cellulose, mais une glycoprotéine contenant de la lysine ou de l'acide diaminopimélique, et leur cytologie appartient aux bactéries (**Bouaziz, 2018**).

### **Définition**

Étymologiquement le terme « actinomycètes » emprunté du grec "Actys" (rayon) et "mykes" (champignon), appartenant à l'ordre des Actinomycetales (**Mokhtar, 2011**).

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à Gram positif avec une teneur élevée en guanine plus cytosine (GC) dans leurs génomes. Sont un groupe diversifié de procaryotes hétérotrophes, Ils se développent par une combinaison d'extension de pointe et de ramification des hyphes (**Barka, 2015 ; Ayari, 2012**). Dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes, c'est-à-dire de filaments qui irradient, par croissance centrifuge (**Delaunay et al., 2003**).

Les actinobactéries se reproduisent par fission binaire ou en produisant des spores ou des conidies. La sporulation se fait par fragmentation et segmentation ou formation de conidies, Les actinobactéries sont soit aérobies ou anaérobies. Ce sont des bactéries mobiles ou

immobiles. Généralement, ils sont hétérotrophes ou chimio-autotrophes, mais la plupart sont chimio-hétérotrophes (Medjemadj, 2021).

### Morphologie des actinomycètes

Morphologiquement ce groupe inclut à la fois des espèces dont le mycélium est rudimentaire au point d'être inexistant (la plupart des *Mycobacterium*), d'autres ont le mycélium fugace ou encore des espèces au mycélium développé et persistant comme le genre : *Streptomyces*. Les actinomycètes présentent un cycle de développement cellulaire asexué similaire à celui des champignons imparfaits, les différents groupes d'actinomycètes peuvent sporuler soit en morcelant certains hyphes pour former des conidies soit en produisant des endospores hautement résistantes à la chaleur. Leur croissance s'effectue par formation de cloisons intercellulaires perpendiculairement à l'axe des hyphes ; mais chez certains genres, tel que : *Matophilus*, *Geodesnatophilus* et *Frankiasp.* Les divisions cellulaires se produisent sur les plans les plus divers lors de la formation des spores. Ces derniers sont mobiles chez les Dermatophiles et *Geodesnatophilus*, mais immobiles chez les *Frankia* (Mokhtar, 2011).

Certains actinomycètes forment des structures particulières qui sont des sclérotes (*Chainia*), des synnèmes (*Actinosynnema*), des vésicules contenant des spores (*Frankia*) ou des vésicules qui en dépourvues (*Intrasporangium*) (Barka et al., 2016).

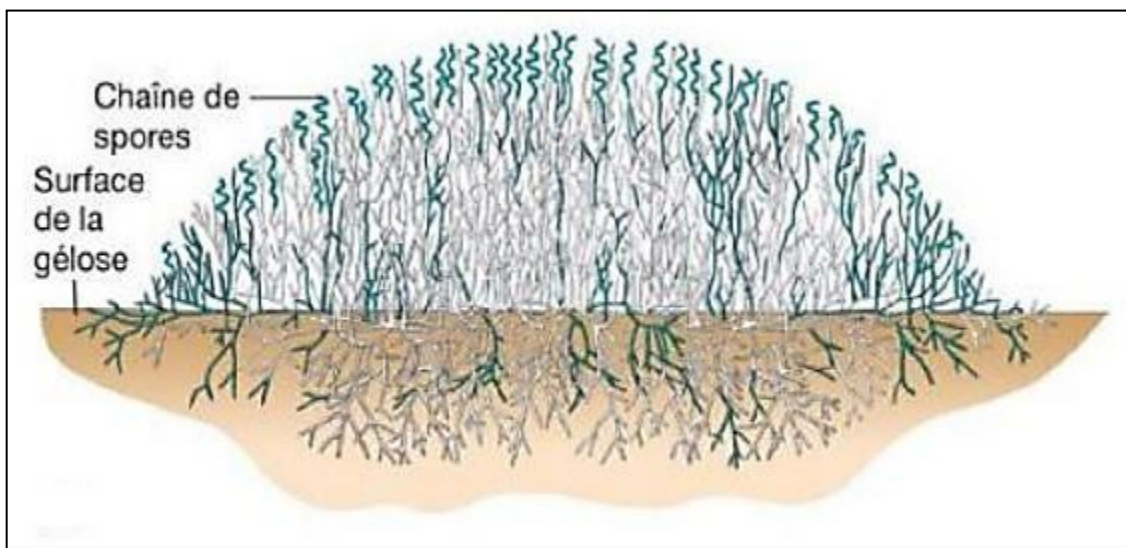


Figure n°1. Coupe transversale d'une colonie d'actinobactéries qui se développe sur gélose (Prescott et al., 2018).

Sur milieu solide, les actinomycètes forment des colonies très particulières résultant de l'accumulation des hyphes ramifiés et non pas de cellules comme c'est le cas des bactéries non filamenteuses. Le diamètre des colonies est variable de 1 à 10 mm. L'aspect des colonies peut être compact, sec, lisse, rugueux à contours lisse ou échancrés. Les colonies sont souvent pigmentées (jaune, violet, blanc, crème, rose, gris, etc.)

### **Physiologie**

Plusieurs facteurs peuvent influencer la croissance des actinomycètes. Parmi ces facteurs, on peut citer :

#### **PH**

Les actinomycètes préfèrent habituellement un pH neutre leur croissance est comprise entre pH 5 et 9 ou faiblement alcalin comme quelques Streptomyces croissent à des pH compris entre 3,5 et 6,5, ils ont donc une forte croissance dans les sols acides (**Hana et Roufaïda, 2021**).

#### **Oxygène**

Selon leurs types respiratoires, on peut répartir les actinomycètes en deux groupes :

#### **Formes fermentatives anaérobies**

Représentées par le genre type Actinomyces, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs (**Aouar et al., 2012**).

#### **Formes oxydatives aérobies**

Telles que les Streptomyces, sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol (**Messaoudi, 2013**)

#### **Température**

Les actinobactéries sont des microorganismes mésophiles. La température optimale de croissance est entre 25 à 30 C°. Mais certaines espèces sont thermophiles, principalement dans le genre Thermoactinomyces dont la température optimale est entre 50 et 60°C (**Rangaswami et al., 2004**).

Généralement, les actinomycètes sont mésophiles. Les actinomycètes thermophiles tolèrent des températures allant jusqu'à 60°C (**Djaballah, 2010**).

#### **Tolérance pour NaCl**

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

#### **Les halophiles**

Ont besoin de sel (NaCl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (poids / volume) pour les faiblement halophiles, jusque 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes (Messaoudi, 2012).

### Les halotolérants

Acceptent des concentrations modérées en sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolère de 6 à 8 % de NaCl (P/V) ; les modérément tolérants (tolère de 18 à 20 % de NaCl (P/V) ; et les extrêmement tolérants (se développe de 0 % jusqu'à saturation NaCl) Cette tolérance n'est obligatoire pour leurs croissances (Djaballah, 2010).

### Cycle de développement des actinomycètes

Les actinomycètes ont cycle de développement complexe résultat de trois processus physiologique majeurs : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire puis la mort (Beghou et Benslama, 2020). Sur un milieu gélosé, la plupart des actinomycètes produisent un réseau des hyphes septés et ramifiés à la fois à la surface et à l'intérieur du substrat pour former un tapis d'hyphes. Selon les cas des spores peuvent se former sur le mycélium aérien ou sur le mycélium du substrat (Fig. 02) (Barka ,2015).

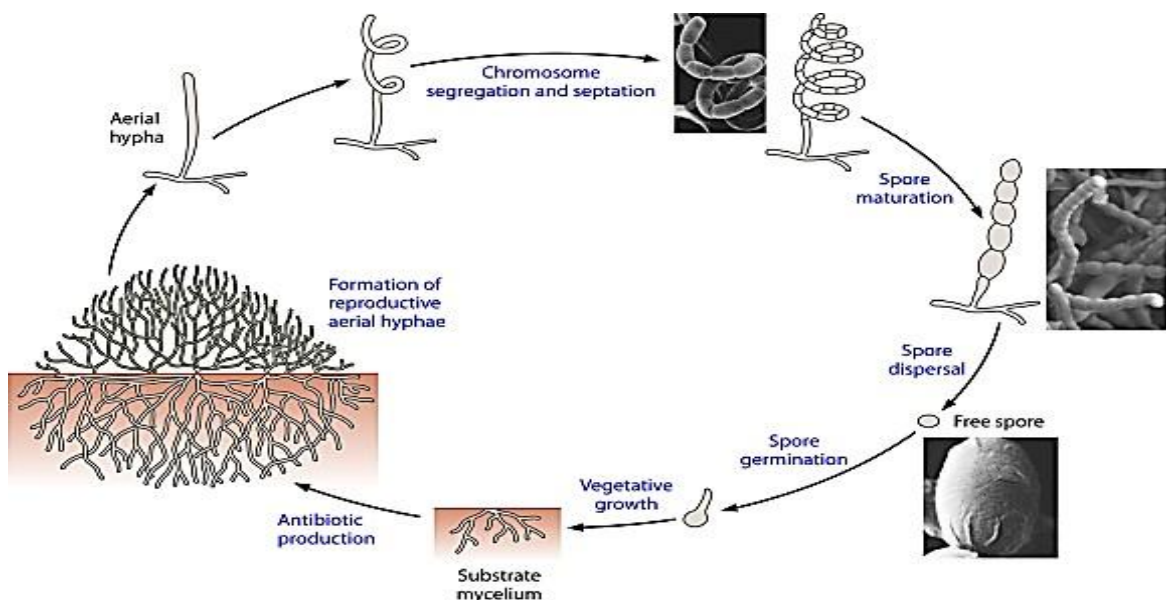


Figure n°2. Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes sporulants (Barka, 2015).

### Ecologie

Les actinobactéries sont présentes dans diverses niches écologiques et peuvent être des habitants du sol ou des milieux aquatiques (*Streptomyces*, *Micromonospora*, *Rhodococcus* et *Salinispora*), des symbiotes végétaux *Frankiaspp*. L'air, le fumier, le compost, le foin, les débris des végétaux, les résidus fibreux de cannes à sucre, le pollen des plantes, les sédiments marins, les lacs, les rivières, les mers et les océans, ...etc. (**Bouaziz, 2018**). Des agents pathogènes végétaux ou animaux (*Corynebacterium*, *Mycobacterium* ou *Nocardia*) ou commensaux gastro-intestinaux *Bifidobacterium*spp. Sont également décrits (**Medjemad, 2021**).

Les actinobactéries sont plus abondants dans les sols que les autres milieux, en particulier dans les sols alcalins et les sols riches en matière organique, où ils constituent une partie importante de la population microbienne(**Barka, 2015**). Dans le sol, ils sont présents depuis la surface jusqu'à plus de 2 mètres de profondeur. Le nombre de ces microorganismes atteint 106 germes par gramme de sol séché (**Bouaziz, 2018**). (**Tab. I**)

**Tableau I.** Répartition des actinomycètes dans la nature (**Saker, 2015**)

<b>Genres</b>	<b>Habitat</b>
Actinomadura	Sol
Actinoplanes	Sol, eau, litières
Frankia	Nodule de racines
Microbispora	Sol
Micromonospora	Sol, eau
Nocardia	Sol, eau
Rhodococcus	Sol, eau, fumier, litière
Saccaromonospora	Matière en décomposition
Streptomyces	Sol, eau, litières
Streptosporangium	Sol
Thermonospora	Matière en décomposition et fermentation

## **Taxonomie**

La taxonomie actuelle des actinomycètes est basée sur plusieurs critères :

- ✓ Par les méthodes traditionnelles basées sur des critères morphologiques et physiologiques
- ✓ Soit par chimiotaxonomie : différenciation des espèces par la composition chimique
- ✓ La taxonomie numérique : différenciation des espèces par le nombre de similarités phénotypiques
- ✓ La systématique moléculaire : basé sur l'étude d'ADN (**Goodfellow et al., 1990**)

## **Critères morphologiques**

Il s'agit de deux groupes : macromorphologie et micromorphologie :

### **Macromorphologie**

Les caractères macromorphologiques reposent sur une observation à l'œil nu.

Il s'agit de noter :

- La formation de mycélium aérien et du substrat (**Vijayakumar et al., 2007**)
- Des pigments diffusibles dans le milieu de culture (**Saker, 2015**).

### **Micromorphologie**

La micromorphologie des actinobactéries est réalisée par observation au microscope des colonies poussant sur milieux gélosés. Il s'agit de noter :

- La fragmentation ou non du MS.
- La présence ou non, sur le MA et/ou le MS, de spores, leur agencement (isolées, par deux ou en chaînes), la forme des chaînes de spores et l'ornementation de la surface des spores.
- La présence de structures particulières comme les sporanges et les synnemata sur le MA.
- La surface des spores (lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue) est quant à elle observée au microscope électronique à balayage (**Saker, 2015**).



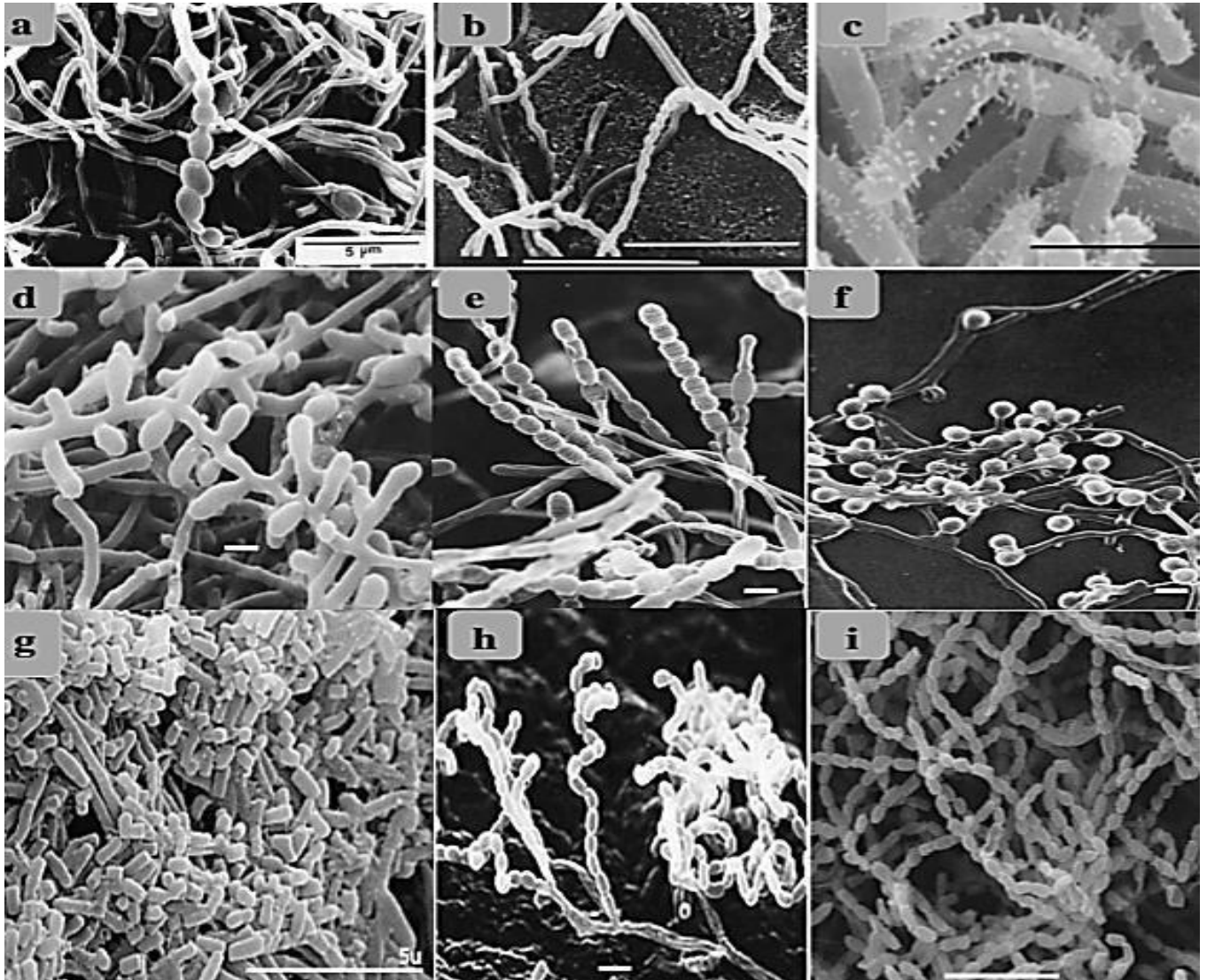


Figure n°3. Micromorphologie de quelques espèces d'actinomycètes appartenant à différents genres.

Les observations ont été effectuées au microscope électronique à balayage.

- a. *Saccharopolysporainterjecta* SANK 60983 (Miyadoh et al.,2002) Bar,5µm
- b. *Nocardioopsislucentensis* ATCC 51300 (Yassin et al., 1993). Bar,1 µm
- c. *Pseudonocardia spinosa* KCTC 999 IT (Miyadoh et al.,2002) Bar ,2 µm
- d. *Saccharomonospora viridis* IFO 12207(Miyadoh et al.,2002) Bar,1 µm
- e. *Microtetraspora roseola* JCM 3323(Miyadoh et al.,2002) Bar,1 µm
- f. *Micromonosporasp.* SF2259(Miyadoh et al.,2002) Bar,1 µm
- g. *Glycomycesrutgersensis* NRRL B-16106(Miyadoh et al.,2002) Bar,5 µm
- h. *Streptomyces sp.* SF2587(Miyadoh et al.,2002) Bar,1 µm
- i. *Actinoalloteichuscyanogriseus* (IFO14455T) (Tamuraetal., 2000) Bar, 5µm



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

Classes	Ordres	Familles
Actinobacteria	Actinomycetales	Actinomycetaceae
	Actinopolysporales	Actinopolysporaceae
	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae
	Catenulisporales	Catenulisporaceae, actinospicaceae
	Corynebacteriales	Corynebacteriaceae, Dietziaceae, Mycobacteriaceae Nocardiaceae, Segniliparaceae, Tsukamerullaceae
	Frankiales	Frankiaceae, Acidothermaceae, Cryptosporangiaceae Geodermatophilaceae, Nokamurellaceae
	Glycomycetales	Glycomycetaceae
	Jiangellales	Jiangellaceae
	Kineosporales	Kineosporaceae
	Micrococcales	Micrococcaceae, Beutenbergiaceae, Bogoriellaceae Brevibacteriaceae, Cellulomonadaceae, Dermabacteriaceae, Dermacoccaceae, Dermatophilaceae, Intrasporangiaceae, Jonesiaceae, Micobacteriaceae Promicomonosporaceae, Rarobacteriaceae, Runiaceae
	Micromonosporales	Micromonosporaceae
	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae, Nocardidoidaceae
	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae
	Streptomycetales	Streptomycetaceae
	Streptosporangiales	Sterptosporangiaceae, Nocardiopeceae, Thermomonospraceae
Acidimimicrobiia	Acidimicrobiales	Actinomicrobiaceae
Nitriliruptoria	Nitriliruptorales	Nitriliruptoraceae
	Euzebyales	Euzebyaceae
Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteraceae
Thermophili	Thermophililales	Thermophilaceae
	Solirubrobacterales	Solirubrobacteraces, Conexibacteraceae Patulibacteracea

### **Critères physiologiques**

L'étude des caractères physiologiques a été utilisée également par les taxonomistes : pour la détermination des espèces il est important d'utiliser des tests de dégradation de différents composés (glucides, lipides, protéines, polymères complexes, stéroïdes, etc.), des tests de résistance aux différents agents chimiques (antibiotiques, divers autres agents chimiques), la tolérance au pH, à la température, à la salinité, ....etc(**Boudjelal-Bencheikh, 2012**).

### **Critères chimio-taxonomiques**

La composition de paroi cellulaire en acides aminés, en glucides et en lipides, constitue la principale caractéristique utilisée en chimiotaxonomie :

#### **Amino acides**

La paroi cellulaire des actinomycètes est composée soit d'une :

- Glycoprotéine contenant de la lysine ; ce type de paroi est rencontré chez les formes fermentatives, habitants naturels des cavités de l'homme et des animaux, illustrées par le genre *Actinomyces*.
- Glycoprotéine contenant le plus souvent l'acide LL- 2,6 diaminopimélique

#### **Sucres**

La présence ou l'absence de quatre sucres (arabinose, galactose, xylose et madurose), dans les hydrolysats acides de cellules entières permet de classer les actinomycètes de type pariétal II, III et IV contenant du méso-DAP (tableau N°2). Sur cette même base, il est aussi possible de répartir en deux sous-groupes les actinomycètes de type pariétal III selon la présence ou l'absence de Madurose(**Yalaoui, 2012**).

Type IC : LL DAP + glycine, pas de sucres taxonomiquement importants (pas d'arabinose, xylose, rhamnose et madurose).

- Type IID : DL DAP + glycine + arabinose + xylose.

- Type IIIB : DL DAP + madurose.

- Type IIIC : DL DAP, pas de sucres caractéristiques.

- Type IIIE : DL DAP + rhamnose + galactose.

- Type IVA : DL DAP + arabinose + galactose.

- Type V : ornithine + lysine.

- Type VI : lysine (**Larpent, 2000**).

## Lipides

Chez certains genres d'actinobactéries, la composition en acides aminés et en sucres n'est pas suffisante pour leur identification. L'analyse des lipides est un autre élément qui, tout comme le type de paroi cellulaire, fournit des informations de valeur dans la classification et l'identification microbienne. Les lipides taxonomiquement importants peuvent être répartis en trois groupes : les lipides contenant une partie polaire (phospholipides), les ménaquinones, les acides gras et parfois les acides mycoliques (Lechevalier, 1980 ; Collin *et al.*, 1977)

### Phospholipides

Composition des membranes plasmiques en phospholipides est facteur crucial pour compléter les chimiotypes précédemment définis, l'analyse de ces composés a permis de distinguer plusieurs genres entre eux même morphologie et le même type pariétal tels que *Pseudonocardia* et *Amycolatopsis*, *Nocardiosis* et *Saccarothrix*, etc. Ains, Lechevalier *et al.* (1977) ont distingué 5 types de notes de PI à PV, chacune étant caractérisée par la présence d'un ou plusieurs phospholipides (Boubetra-Biskri, 2013).

**Tableau III.** Types des phospholipides rencontrés chez les actinomycètes (Harir, 2018).

Types de phospholipides	PE	PC	PG	PGL	Genres représentatifs
PI	-	-	-	V	<i>Actinomadura</i> ,
PII	+	-	-	-	<i>Streptomyces</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Amycolatopsis</i> <i>Kutzneria</i> , <i>Saccharothrix</i> , ...
PIII	-	+	-	-	<i>Nocardiosis</i> , <i>Pseudonocardia</i> ,
PIV	+	-	+	-	<i>Streptosporangium</i> , <i>Nonomuraea</i> ,
PV	-	-	+	+	<i>Oerkovia</i>

## Taxonomie numérique

Sneath applique une méthodologie similaire aux bactéries à la fin des années 1950, suite au développement des techniques d'analyses biochimiques, et crée une taxonomie catégorisée comme numérique. La méthode mathématique consiste à étudier chaque cas séparément souche, plus d'une centaine de caractéristiques morphologiques, biochimiques, physiologiques, etc., et de attribuant le même poids à chaque caractère codé 1 (présence du caractère) ou 0 (manque de caractère). Les degrés de similarité entre individus sont finalement représentés sous forme de dendrogrammes, qui permettent de regrouper les individus les plus similaires en

une seule classe de similarité. Les caractéristiques ont été largement utilisées, y compris les propriétés de décomposition du substrats (tel que la tyrosine, la xanthine, l'acide urique, adénines hypoxanthine, casine et urée). La capacité de se développer sur des substrats carbonés (tels que citrate, acétamide, le rhamnose, le mannitol et le sorbitol) (Kämpfer et al., 1991).

### Critères moléculaires

#### Détermination du pourcentage de guanine-cytosine (G+C) :

En 1949, Chargaff et al., ont montré que le contenu en bases puriques et en bases pyrimidiques de l'ADN pouvait varier d'un individu à un autre mais était constant pour les individus d'une même espèce (Stackebrandt et al., 1997).

**Tableau IV.** Quelque genre d'actinomycètes et leur CG% (Larpent et Sanglier, 1989)

Genre	CG%
Micromonospora	71.4-72
Streptomyces	69-76
Actinomycètes	63-73
Actinoplanes	70.6-76
Nocardia	67-69.4
Mycobactéries	64-70

#### Séquençage de l'ADNr 16S

Le séquençage de l'ADNr 16S est une technique fiable pour l'identification des actinomycètes (Weisburg et al., 1991), le gène de l'ADN codant l'ARN ribosomique 16S (appelé ADNr 16S) est l'outil principal utilisé pour l'identification moléculaire des actinomycètes, implique un gène de grande taille chromosomique environ 1500 gène des paires de bases présent dans toutes les espèces bactériennes, avec des séquences uniques à chacune et conservé chez toutes les espèces bactériennes aux extrémités du gène en position 5' -3' étude soumise à des études de comparaison (voire de phylogénie entre elles) encore avec des espèces référence répertoriées, Ce gène est amplifié par la méthode Polymerase Chain Reaction (PCR) grâce à une ADN polymérase isolée (Polymerase Taq) de la bactérie *Thermus aquaticus*.

Les séquences obtenues à partir de différents taxons sont ensuite dans les banques de données génomiques. **(Boudjelal-Bencheikh, 2012)**

### **Hybridation ADN-ADN**

L'hybridation ADN-ADN repose sur la dénaturation de molécules ADN totaux appartenant à deux souches, puis leur réassociation **(Benhamada et al., 2020)** et basée sur la complémentarité de leur séquences synapsiques, les techniques d'hybridation ADN-ADN ont utilisées pour identifier des gènes similaires chez plus proches parents de l'espèce étude. Un pourcentage élevé ou égale à 97 % considère deux souches comme appartenant à la même espèce **(Bouchlaghem et al., 2020)**.

### **Importance**

La biodiversité des actinomycètes dans différents écosystèmes a donné naissance à une panoplie de composés bioactifs de haute valeur commerciale et utilisées dans différents domaines (industriels, biotechnologies, pharmaceutiques et alimentaires) **(Bouaziz, 2018)**.

### **En biotechnologie**

Ces organismes sont l'un des sources les plus importantes d'antibiotiques diversement structurés et cliniquement utilisée, de produits bioactifs précieux et d'enzymes pertinents pour la biotechnologie, la majorité des souches ont été découvertes sur la base de leur capacité à produire une molécule spécifique et ont souvent été mal caractérisées à la fois physiologiquement et génétiquement, le développement de méthodes génétiques pour Streptomyète et les actinomycètes filamenteux apparentés a conduit à la manipulation réussie de la biosynthèse des antibiotiques pour obtenir une modification structurelle des métabolites microbiens qui auraient été inaccessibles par des moyens chimiques et des rendements de production améliorés. De plus, l'exploration du génome révèle que les génomes des actinomycètes contiennent plusieurs groupes de gènes biosynthétiques (BGC), mais que seul un petit nombre de ces gènes sont exprimés dans des conditions de laboratoire standard, entraînant la production du ou des composés pertinents, En tant que par conséquent, développer de nouvelles méthodologie génotoxiques et augmenter le potentiel de biosynthèse des BGC dits "silencieux" sont nécessaires pour y accéder et les activer **(Musiol-Kroll et al., 2019)**.

L'ordre des actinomycètes est celui d'une grande diversité génétique et fonctionnelle, y compris la production de métabolites secondaires qui ont des utilisations dans les applications médicales, de réhabilitation, et industrielles. Les métabolites produits secondaires par les espèces d'actinomycètes sont une source abondante d'antibiotiques, d'agents antitumoraux

d'anthelminthiques et d'antifongiques (**Jagannthan et al., 2021**), les actinomycètes produisent de nombreux médicaments essentiels à la santé humaine et animale ainsi qu'à la protection des cultures (**Xu et Wright, 2019**).

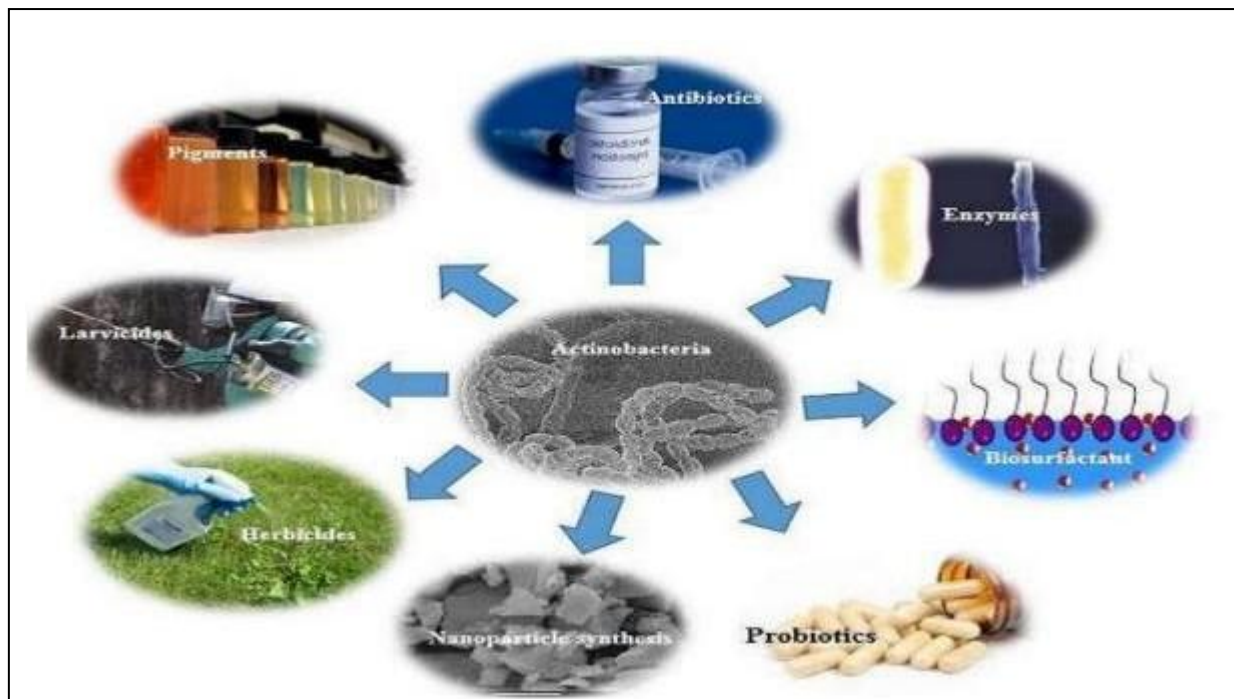


Figure n°4. Application biotechnologie des actinobactéries (**Anandan, 2016**).

### En agronomie

Les actinomycètes jouent un rôle très important dans les phénomènes de la biodégradation et de transformation de la matière organique. Ils peuvent dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries, tel que les polymères complexes, les polysaccharides, la chitine et les lignocelluloses des plantes (**Lechevalier, 1981 ; Goodfellow et Williams, 1983 ; Goodfellow et al, 1984**). Ils jouent par conséquent un rôle important dans la fertilité des sols grâce à un potentiel enzymatique riche, les actinomycètes peuvent dégrader la biomasse et décomposer des déchets agricoles ou urbains (**Goodfellow et al., 1984**).

Grâce à leurs propriétés antagonistes, les actinomycètes sont également utilisés dans la lutte biologique des maladies des plantes (**Sutthinan, 2009**).

Le genre *Frankia* est très connu en foresterie pour son rôle dans la fixation d'azote atmosphérique en symbiose dans les nodules racinaires de certains arbres dicotylédones (**Lechevalier, 1981**).

**Chapitre II.**

**Métabolites**

**secondaires sécrétés**

**par les Actinomycètes**



## **Antibiotique**

### **Généralité**

Les antibiotiques sont des métabolites secondaires généralement synthétisés à la fin de la phase exponentielle (trophophase) et au début de la phase stationnaire (idiophase) (**Bu'lock, 1965**). Depuis les années 50, les antibiotiques ont été utilisés pour prévenir et traiter les maladies infectieuses pouvant entraîner une morbidité importante et être associées à des mortalités (**Torres et Zarazaga, 2010**).

Antimicrobien est le terme appliqué aux composés naturels et synthétiques dotés la capacité, en petites concentration tuent ou inhibent la croissance des bactéries. Depuis, de nombreux d'autres ont été créés pour être utilisés à la fois en médecine humaine et vétérinaire, l'utilisation d'antibiotiques dans les soins aux jeunes animaux à des fins thérapeutiques, prophylactiques et de promotion de la croissance. (**Shryock et Page, 2007**)

### **Définition**

Les antibiotiques sont des composés chimiques élaborés par un micro-organisme ou produit par synthèse et dont l'activité spécifique se manifeste à dose faible sur les micro-organismes. Chaque antibiotique a un spectre d'activité limité ou large qui correspond aux différentes espèces microbiennes susceptibles d'être sensibles à son action (**Guezlan-Tebibel, 2011**).

Les antibiotiques sont caractérisés par :

- ✓ Activité antibactérienne (spectre d'activité)
- ✓ Toxicité sélective (mode d'action)
- ✓ Activité en milieu organique (pharmacocinétique)
- ✓ Bonne absorption et diffusion dans l'organisme. (**Saadaoui, 2008**)

**Tableau V.** Exemples d'antibiotiques produits par les actinobactéries (Aitbarka et al., 2016).

<b>Espèces</b>	<b>Antibiotique</b>
Verrucosisoraspp.	Abyssomicine
Micromonosporaspp	Clostomicine
Saccharopolysporaerythraea	Erythromycine
Marinisporaspp	Marinomycine
Nocardialurida	Ristocétine
Amycolatopsis orientalis	Vancomycine
Streptomyces spp.	Pristinamycine
Streptomycesgriseus	Cycloheximide
Streptomycesmediterranei	Rifamycine
Streptomyces aureofaciens	Tétracycline
Streptomyces niveus	Novobiocine

### **Mécanismes d'action des antibiotiques**

Accès à la cible bactérienne : l'accès à leur cible moléculaire est le préalable à l'action des antibiotiques. Les cibles sont situées dans la paroi ou à l'intérieur de la cellule bactérienne. Pour gagner ces sites, les antibiotiques empruntent des systèmes dédiés au transport de substance nutritives (porines) ou diffusent à travers les structures pariétales grâce à leurs propriétés physico-chimiques (hydrophile ou lipophilie (Fauchère et al., 2002)

### **Action sur la membrane plasmique**

Les polyènes forment des complexes avec les stérols de la membrane plasmique des cellules eucaryotes, ce qui entraîne une diminution de la perméabilité membranaire. Le métabolisme des cellules est ainsi perturbé après la fuite de certains éléments intracellulaires indispensables (Michel et al., 1989).

### **Action sur la paroi**

Ex : Glycopeptides

Les glycopeptides (vancomycine et téicoplanume) sont des molécules de grande taille qui ne peuvent pas traverser la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Les glycopeptides agissent sur les bactéries Gram positif en se fixant sur les précurseurs du peptidoglycane contenant le dipeptide D-alanyl-D-alanine. Les glycopeptides forment un complexe avec les dipeptides D-alanyl-D-alanine présents dans la paroi en formation. Les

décarboxylases, les transglycosylases et les transpeptidases impliquées dans la synthèse de la paroi sont inhibées par inclusion stérique. Les glycopeptides ont un effet bactéricide (**Mammeri et Amiens, 2013**).

### **Inhibition de la synthèse des protéines**

De nombreux antibactériens recommandés, tels que l'érythromycine, le chloramphénicol et les tétracyclines utilisent les ribosomes comme site d'action pour empêcher la synthèse des protéines. À ce niveau, ils peuvent empêcher la translocation et la transpeptidation ainsi que la fixation de l'ARN de transfert porteur d'acides aminés. D'autre comme la streptomycine provoque des erreurs de lecteur du code génétique. Chez les eucaryotes, la synthèse des chaînes polypeptidique est arrêtée par la fixation de la kasugamycine sur la sous-unité 40S des ribosomes. (**Gale, 1981**).

### **Action sur l'ADN bactérienne**

En inhibant la synthèse ou même les fonctionnements des acides nucléiques de diverses manières selon la famille d'antibiotiques, soit par inhibition la réplication de l'ADN, en bloquant la transcription de l'ARN polymérase ou réduisant synthèse des précurseurs nucléotides (**Gouari, 2021**).

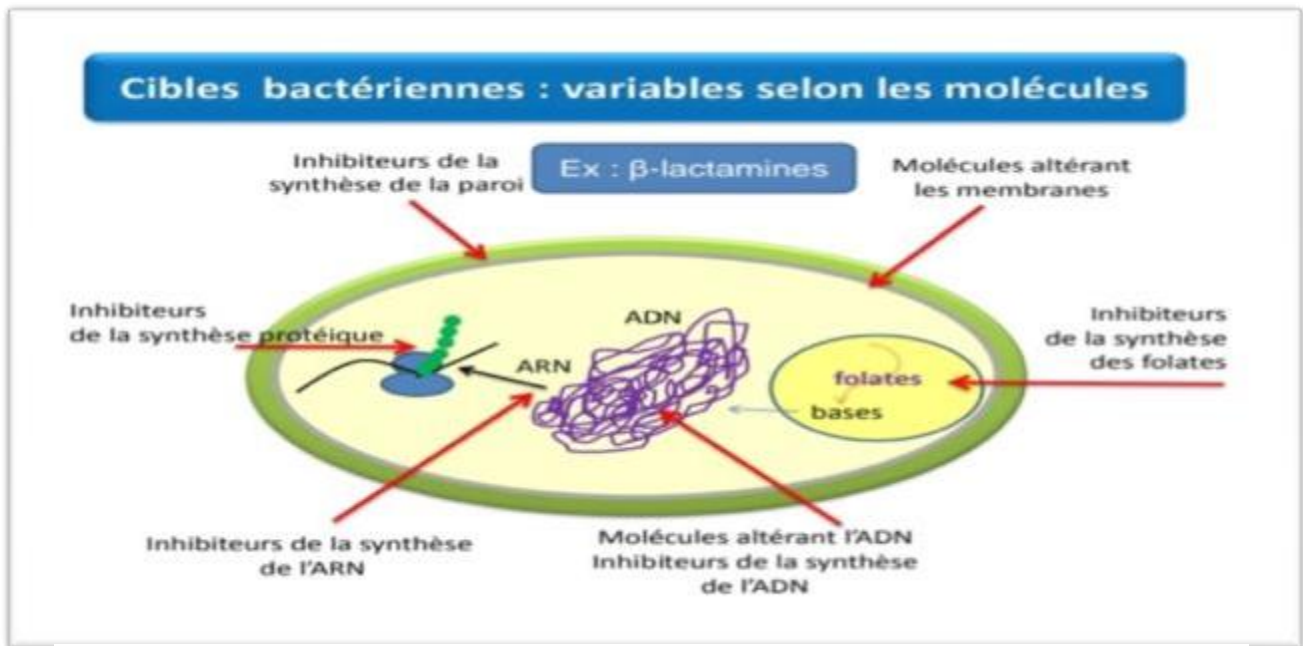


Figure n°5. Mode d'action des antibiotiques (beta –lactamines) (Lozniewski et Rabaud, 2010)

## Résistance aux antibiotiques

La résistance antimicrobienne est la capacité d'un microorganisme à résister à l'effet d'une concentration normalement active d'un agent antimicrobienne, La résistance aux antibiotiques peut augmenter le fardeau de la maladie en raison d'une morbidité et d'une mortalité plus élevées, la maladie peut progresser plus lentement, augmentant les coûts de santé globaux associés au traitement de ces infections (Levy et Marshall, 2004), Avec l'utilisation à long terme des antibiotiques, l'écologie microbienne peut changer radicalement à mesure que les populations sont remplacées par des populations résistantes. (Oberlin et White, 2006).

Les bactéries ont développé un grand nombre de mécanismes de résistances pour échapper aux effets systématiques des antibiotiques, ainsi qu'un haut niveau d'intelligence génétique pour acquérir et diffuser ces mécanismes (Yahia, 2001).

### II.1.4 .1.Types de résistance

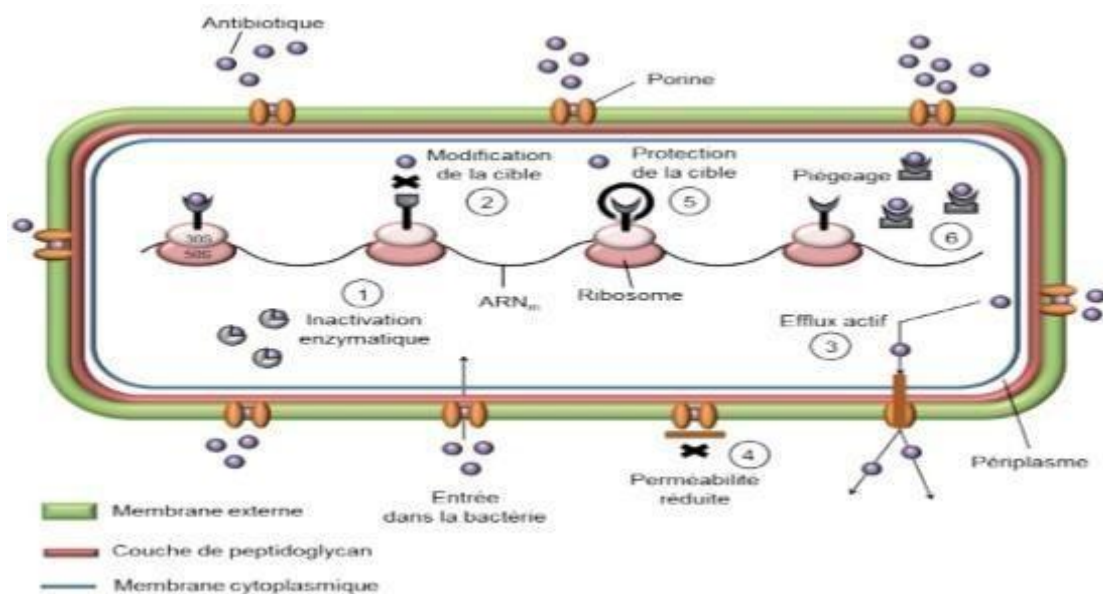
#### II.1.1.4.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle est présente chez toutes les souches d'une espèce bactérienne donnée par l'expression d'une protéine naturelle empêchant l'antibiotique d'accéder à sa cible. Comme dans le cas d'*E. coli* vis-à-vis de la Vancomycine, (Madigan et al., 2012). Les bactéries Gram négatives sont intrinsèquement résistantes aux antibiotiques hydrophobes puisque ces molécules ont des difficultés à passer la membrane externe de leur paroi. Les mycoplasmes,

bactéries dépourvues de parois présentent une résistance naturelle aux lactames puisque le mode d'action de cette famille d'antibiotiques consiste à inhiber la synthèse de peptidoglycane. (Normak et Normak, 2002)

#### II.1.1.4.2. Résistance acquise

La résistance acquise est une propriété qui ne s'applique qu'à (ou parfois plusieurs) souches d'une moins stable, pourtant elle se propage fréquemment de manière significative dans le monde bactérien. Elle est causée par une modification du génome bactérien qui permet de tolérer une concentration d'antibiotique supérieure à celle nécessaire pour inactiver ses récepteurs sensibles, et on l'a constaté dès le début de l'antibiothérapie (Lozniewski et Nancy, 2010).



**Figure n°6.** Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative (Guardabassi -Courvalin, 2006).

## Enzymes

### Généralité

Chaque réaction chimique dans le monde vivant est facilitée par une enzyme unique, les enzymes ont un haut degré de spécificité puis qu'elles peuvent faire la distinction entre des molécules de substrat même légèrement différentes. En raison de leur capacité à provoquer des réactions plus rapidement et plus efficacement, les enzymes sont définies comme étant des catalyseurs biologiques (Ghribi, 2019).

## **Enzymes sécrétés par les actinobactéries**

### **Cellulase**

La cellulase est un complexe enzymatique qui décompose la cellulose en beta-glucose, Les cellulase sont largement répandues dans la biosphère et se manifestent les surtout dans les organismes fongiques et microbiens (**Ghribi, 2019**) produit par *Streptomyces ruber* et *Thermofidahalotolerans* (**Mukhtar et al., 2017**).

### **Chitinase**

Les chitinases sont un autre groupe d'enzymes importantes sur le plan industriel qui ont la capacité d'hydrolyser la chitine, les *Streptomyces thermoviolaceus* et *Microbisporasp.* sont connus comme producteurs de chitinases utilisée pour l'élimination des déchets produits par l'industrie de cuir (**Mukhtar et al., 2017**).

### **Pectinases**

Les pectinases sont un groupe d'enzymes qui contribuent à la dégradation de la pectine par une variété de mécanismes et peuvent être classées en estérases, dépolymérase éliminatrices (lyases) et dépolymérase hydrolytiques (polygalacturonases) (**Jacob et al., 2008**) élaborée par différents genres d'actinomycètes tels que *Microbispora*, *Actinoplanes streptosporangium* et les streptomyces (**Domain et solomon, 1985**).

### **Alpha- amylases**

L'alpha-amylase est une endoenzyme qui hydrolyse les liaisons osidiques de l'amylose, de l'amylopectine, du glycogène et d'autre polysaccharides (**Franco et al., 2000**), l'alpha-amylases sont produites par les espèces thermophiles comme *Thermoactinomyces vulgaris* *Thermomonosporacurvata*(**Domain et solomon, 1985**).

#### **II.2.4.5. Xylanases**

Les xylanases sont élaborées par des espèces thermophiles du genre Streptomycètes et des souches du genre *Promicromonospora*(**Demainet solomon, 1985**), les xylanases sont fréquemment utilisées dans plusieurs domaines tes la gestion des déchets, l'industrie des pâtes et papiers la production de biocarburants et produits chimiques (**Dickner-Ouellet, 2018**)

### **Lipases**

Les lipases font partie des familles d'estérases, les lipase est enzyme hydrolysent les triacylglycérols émulsifiés (**vorderwulbecke et al., 1992**), chez l'actinomycète : les lipases endo et exocellulaires sont isolées de l'espèce *Thermoactinomyces vulgaris*. De plus, les phospholipases sont isolées en grande quantité à partir d'espèces du genre *Streptoverticillium*

et de l'espèce *Micromonosporachalcea*(Saci et kitouni, 2017). L'utilisation des lipases extraites de microorganismes est répandue, y compris dans les industries laitières, alimentaires, détergentes, pharmaceutique ...etc. (Ray, 2011)

### Uricase

Uricase est une enzyme catalysant la décarboxylation oxydative de l'acide urique en plusieurs produits, parmi lesquels on trouve l'allantoïne, l'espèce producteur sont : *Streptomyces cyanogenus*(Nishiya et al., 2002)

### La l-asparaginase

La l-asparaginase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse l'asparagine en l'aspartate et ammoniac (Dhevendaran et Yk, 2012), l'actinomycète producteurs : *Streptomyces griseus*, *Streptomyces coelicolor* et *Streptomyces avermitilis*(Domain et solomon, 1985).

### II.2.3. Caractéristiques des enzymes synthétisées par les actinomycètes

Les principales caractéristiques physico-chimiques des enzymes synthétisées par les actinomycètes sont regroupées dans le tableau ci-après :

**Tableau VI.** Paramètres physico-chimiques des enzymes produit par les actinomycètes  
(Prakach et al., 2013)

Enzymes	Souches produit	PH	T°C	Substrats spécifiques
Cellulase	<i>Recombinant streptomyces sp.</i>	5-12	40-50°C	Cellulose
	<i>Thermobifidahalotolerans</i>	6-8	40-50°C	
	<i>Thermomonospora sp.</i>	7-10	50°C	
	<i>Streptomyces ruber</i>	5.5-7	35-40°C	
Xylanase	<i>Actinomadurasp.</i>	4	70°C	Xylan
	<i>Streptomyces spp.</i>	8-11	45-60°C	



**Chapitre II. Métabolites secondaires sécrétés par les Actinomycètes**

<b>Amylase</b>	<i>Streptomyces sp.</i>	5-7	45-50°C	Amidon
	<i>Streptomyces erumpens</i>	9-10	45-50°C	
	<i>Nocardiopsis sp.</i>	6-8	70-80°C	
	<i>Thermobifidafusca</i>	5-7	60°C	
<b>Pectinase</b>	<i>Streptomyces lydicus</i>	4-7	45°C	Acide Polygalacturonique
<b>Protease</b>	<i>Thermoactinomyces sp.</i>	4	50°C	Casein  Casein  Keratin  Keratin azure
	<i>Nocardiopsis sp.</i>	10	40-50°C	
	<i>Streptomyces spactum</i>	7.5	40°C	
	<i>Streptomyces thermoviolaceus</i>	6.5	65°C	
	<i>Streptomyces sp</i>	4-11	30-60°C	

# **Partie**

# **expérimentale**

# **Chapitre III.**

**Matériel et**

**méthodes**

## Sites d'études et échantillonnage

### Site de prélèvement de l'échantillon

Le choix du site de prélèvement des échantillons a porté sur des sols de deux écosystèmes différents. Il s'agit de :

- Chott Ain El Beida
- La palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie

De la région de Ouargla. Les coordonnées géographiques de ce site sont à  $31^{\circ}57'46''$ Nord,  $5^{\circ}20'31''$ Est (**Figure n° 07**).

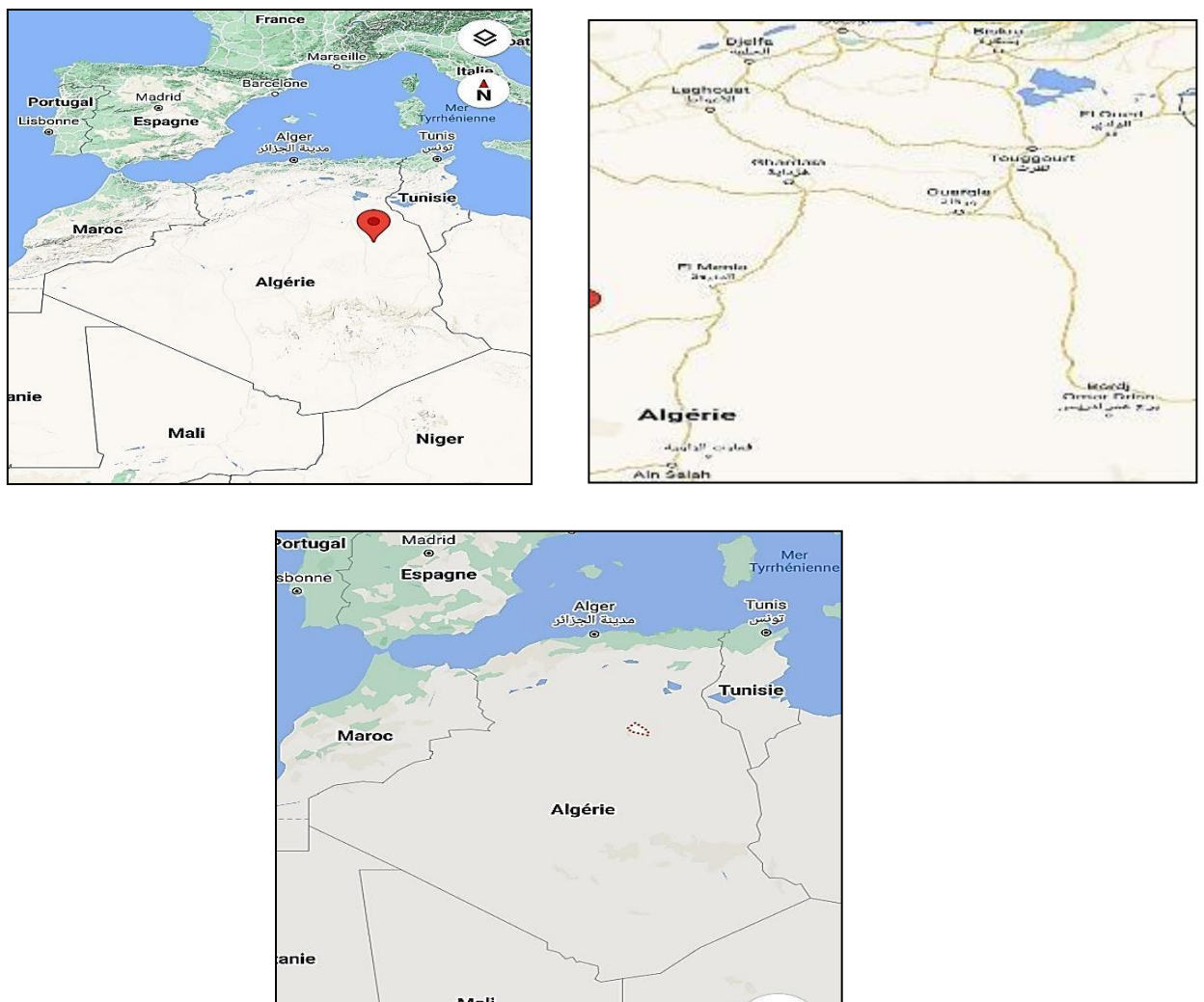


Figure n°7. Situation géographique de la zone de prélèvement (Google Mapsaccess 24 .05.2023).

**Chott Ain El Beida** : La zone humide du chott de Ain El Beida à Ouargla, classé parmi les zones humides d'importance internationale du Sahara, ils sont caractérisés par des sols salés inapproprié à la croissance de la plupart des êtres vivantes et seules persistes les espèces susceptibles de supporter la salure.

Le sol est de couleur maron foncé, le pH est stable aux niveaux de tout le Chott, excepté la diminution enregistrée durant le mois de février due à l'activité biologique par le biais de la photosynthèse (**Zatout et Messaoud, 2012**).



**Photo n°1.** Sol de palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie.



**Photo n°2.** Sol de Chatt Ain EL Beida.

### Méthode de prélèvement

L'échantillon de palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie ont été pris le 22/02 /2023.

L'échantillon de Chott Ain El Beida ont été pris 05 /03/2023 à une profondeur de 10cm, dont les 5 premier en superficiels ont été écartés,chaque échantillon est recueilli par une spatule stérile et posé dans un flacon en verre stérile.

Les échantillons de sol prélevés sont mis dans des flacons stériles et transportés vers le laboratoire à température ambiante puis analysée.

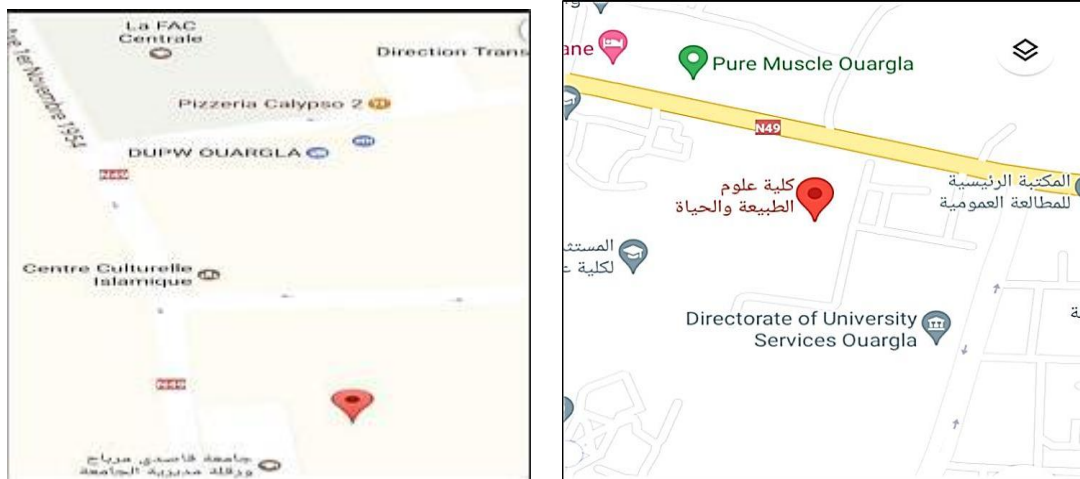


Figure n°8. Situation géographique de site palmerais de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Google Maps le 28/04/2022).

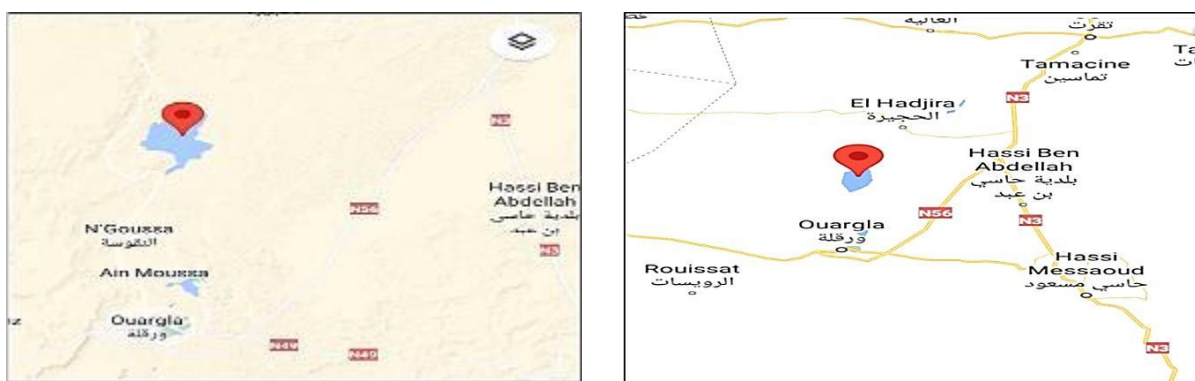


Figure n°9. Situation géographique de la région de Chott de Ain El Beida (Google Maps le 28/04/2022).

## Isolement, dénombrement, purification et conservation des souches

### Milieux d'isolement

Quatre milieux de cultures recommandés pour l'isolement des actinomycètes, ont été utilisés, qui sont :

- Milieu Bennett
- Milieu ISP4
- Milieu M2
- Milieu gélose asparagine
- Milieu M2+50%Nacl

La composition de chaque milieu de culture est donnée dans l'annexe.

### Technique d'isolement et conditions d'incubation

L'isolement a été effectué par la méthode de suspensions-dilutions. Un gramme de sol est suspendu dans 10 ml d'eau physiologie stérile. Après agitation vigoureuse (10 min) à l'aide d'un vortex, ce qui constitue la dilution  $10^{-1}$ . A partir de cette suspension mère on prépare les dilutions  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-5}$ . Par la suite, 0,1 ml de chaque dilution est étalé sur les milieux d'isolement précédemment stérilisés et coulés dans des boîtes de Pétri stériles de 9 cm de diamètre. Les boîtes ensemencées sont incubées à 28°C pendant 7 à 15 jours (Badji *et al.*, 2005 ; Boussaber *et al.*, 2012). (Figure n°10)

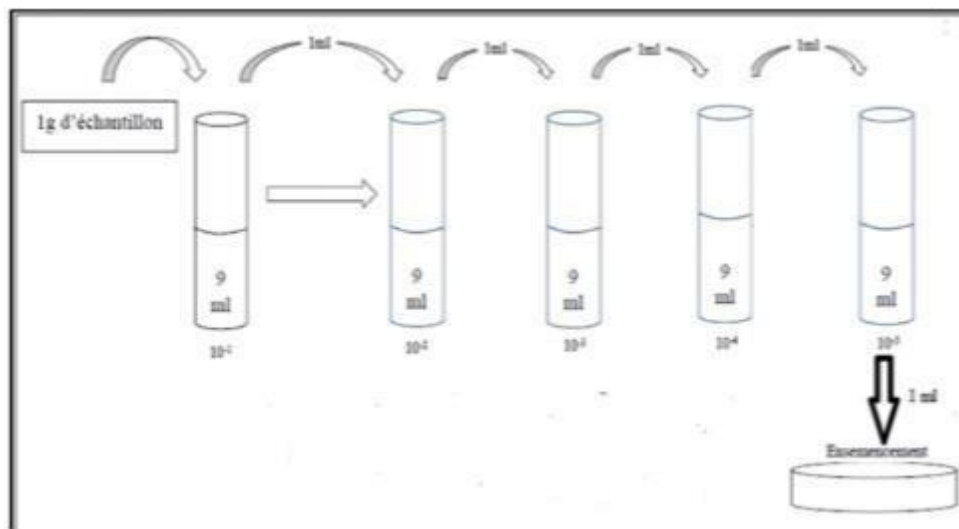


Figure n°10. Technique de dilution de sol et d'isolement (Delarras, 2014).

### **Dénombrement et sélection des actinobactéries**

Après incubation, les boîtes de Pètriensemencées sont examinées chaque semaine à l'œil nu et au microscope optique (grossissement  $\times 10$  et  $\times 40$ ) afin de visualiser les colonies d'actinobactéries qui apparaissent à la surface des milieux.

Les colonies qui présentent les caractéristiques morphologiques des actinobactéries mycéliennes sont comptées par boîte et par dilution.

### **Purification des isolats**

À l'aide d'une pipette pasteur stérile on prélève un inoculum à partir des colonies de milieu d'isolement, qui sera ensuiteensemencé par striés sur le même milieu que celui d'isolement sous forme des stries. Cette dernière opération est répétée jusqu'à l'obtention des cultures pures. La pureté des isolats est contrôlée par des examens microscopiques directs après chaque repiquage (**Boussaber et al., 2012**).

### **Identification des souches**

#### **Etude des caractères morphologiques**

##### **Eude macromorphologique**

Consiste à déterminer la couleur du mycélium aérien et de substrat, la production de pigments solubles ainsi que la croissance et la sporulation et cela sur différents milieux de culture (**Shirling et Gottlieb, 1966**)

#### **Etude micromorphologique**

##### **III.3.1.2.1. État frais**

Ce type d'observation permet d'apprécier par le biais du microscope optique :

- La morphologie
- La mobilité

##### **III.3.1.2.2. Coloration de Gram**

D'après cet examen de coloration, il est possible de classer le Gram des bactéries positif ou négatif e qui permet de s'assurer qu'elle appartient aux actinomycètes ou non.

L'observation sous un objectif à immersion ( $\times 100$ ) d'un microscope optique l'examen, nous permet de déterminer quelques caractères morphologiques dès l'eau. Le type de Gram+ et des indications sur leurs formes des filaments et présence ou absence de spores isolées (**William et al., 2010**).



### Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches d'actinobactéries isolées

La mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches étudiées a été réalisée par la méthode des cylindres d'agar sur milieu Muller-Hinton pour les bactéries et sur Sabouraud pour les champignons vis-à-vis des microorganismes cibles.

**Tableau VII.** Microorganismes cibles utilisée.

<b>Bactéries</b>	<b>Gram +</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<b>Gram–</b>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		<i>Proteus sp.</i>
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<b>Champignons</b>	<i>Condidaalbicans</i>	

Les souches d'actinobactéries à tester sontensemencées en stries serrées sur le même milieu d'isolement puis incubées à 28C° pendant 7 à 10 jours. Ensuite des cylindres d'agar de 8 mm de diamètre sont découpés avec un emporte-pièce puis déposés sur les milieux Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons préalablementensemencés par le germe cible (**Patel et Brown, 1969**)

Les boîtesensemencées sont maintenues à 4 C°pendant 2 heures pour la diffusion des substances antimicrobiennes. Les boîtes ont été incubées 24 h à 37C° pour les bactéries et les champignons ont été incubés pendant 48 h à 28C°.

L'activité antimicrobienne a été déterminée à l'aide d'une règle pour donner les diamètres de la zone d'inhibition (mm), selonBarros (**Barros et al., 2007**) l'activité antimicrobienne est exprimée en zones d'inhibition comme suite :

### Mise en évidence de l'activité enzymatique

#### Recherche de la L-asparaginase

Le test a été réalisé sur la gélose M9 modifiée (**Annexe**). Le milieu est coulé dans des boîtes de pétri puisensemencé par des stries de la souche a testé et incubé à 28C°.

L'examination s'est faite après 03 jours et poursuivie jusqu'au 10<sup>eme</sup> jour d'incubation.

La dégradation de la L-asparagine se manifeste par une coloration rose autour des colonies (**Ravi Varma et al., 2016**)

### **Recherche de l'uricase**

Le test a été réalisé sur la gélose Uricase contenant de l'acide urique (**Annexe**). Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri puisensemencé par des stries de la souche a testé et incubé à 28 C°.

**Chapitre IV.-**

**Résultats et**

**discussions**

## Résultats d'isolement des actinomycètes

Pour isoler un plus grand nombre d'actinobactéries d'écosystèmes différents, les échantillons de sol étudiés sont prélevés de deux stations différentes : la palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et le Chott Ain El Beida de la région de Ouargla. La dernière station est caractérisée par une salinité de sol très élevée.

Les colonies d'actinomycètes apparaissent après 7 à 21 jours d'incubation, sur cinq milieux utilisés à savoir Bennet, M2, M2+50% NaCl, Isp4 et la glucose asparagine en utilisant la méthode de suspension dilution. Ces colonies sont reconnues par leur aspects macroscopique (colonies dures incurvées dans la gélose) et microscopique (aspects filamenteux ramifiés à coloration de Gram positif). Les résultats de l'isolement des colonies d'actinomycètes à partir des deux échantillons du sol, sont présentés dans le **tableau VIII**.

Un total de 117 isolats a été isolé à partir des cinq milieux sélectifs utilisés. Selon les résultats rassemblés dans le **tableau VIII**, on constate qu'il y a une différence importante de nombre de colonies d'actinomycètes isolées des différentes stations étudiées pour les cinq milieux utilisés, dont 115 isolats ont été obtenus à partir des échantillons prélevés de la palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et 02 isolats à partir des échantillons prélevés de Chott Ain El Beida.

**Aouiche et al., (2012)**, ont utilisés la même méthode de suspensions-dilutions pour isolées des actinobactéries de sol saharien de la région de Ghardaia, sud-est, de l'Algérie ou ils ont isolées 111 actinomycètes. **Boudemagh et al., (2005)**, ont utilisées la même méthode pour isolées des actinobactérie, ou ils ont pu isolées 27 actinomycètes à partir de quelques sols sahariens.

D'après le **tableau VIII**, il apparait clairement qu'un nombre plus élevé d'actinomycètes est obtenu à partir de l'échantillon de la palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie. Ceci peut être expliqué par sa richesse en matière organique par rapport aux Chott Ain El Beida, et cela selon plusieurs études qui ont démontré une corrélation positive entre le nombre d'actinomycètes et le pourcentage de matière organique (**Masayuki et al., 1988**). Selon **Lee et Hawang, 2002**, ont rapporté que le nombre d'actinomycètes était positivement affecté par le rapport de matière organique indépendamment du rapport de salinité du sol.

Le sol de Chott Ain EL Beida est caractérisé par son degré de salinité élevé, il exerce un stress important, ce qui a limité le nombre d'espèces d'actinomycètes. Cela est en corrélation

avec le fait que dans les environnements extrêmes, le développement des microorganismes diminue quand le stress environnemental augmente (**Rodriguez et al., 1985**). L'absence des actinobactéries dans le site de prélèvement, est due au fait des conditions extrêmes.

D'autre part, les conditions climatiques des sites de prélèvement est un facteur influençant le développement des actinobactéries, notamment l'humidité, qui est l'un des facteurs les plus important affectant la croissance et l'activité des actinobactéries (**Mansour et al., 2003 ; Manucharova et al., 2008**). Selon **Lee et Hawang, 2002**, les trois facteurs écologiques les plus importants qui influent sur la diversité des actinomycètes dans le sol sont : Le pH, la matière organique et l'humidité.

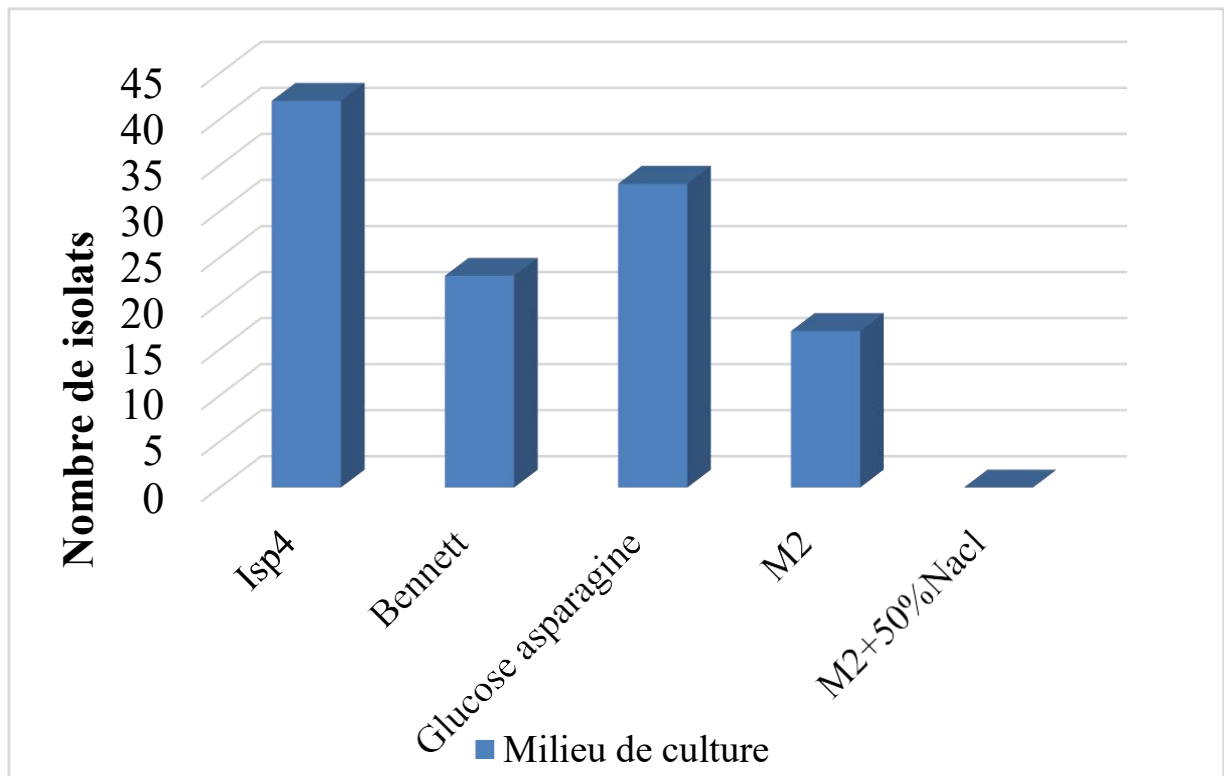
D'après la **figure n°11**, le milieu Isp4 est le meilleur milieu pour l'isolement des actinomycètes de sol de la palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie avec 42 isolats, suivis par le milieu glucose asparagine (GA) avec 33 isolats, alors que les le milieux Bennett et M2 nous a permis d'isolées qu'un nombre faible d'isolats par rapport aux autres milieux, dont 23 isolats à partir du milieu Bennett et 17 à partir du milieu M2 et aucun isolat n'a été obtenus à partir de milieu M2+50% NaCl.

**Zain alAbidin et al., (2016)** ont trouvé que la gélose inorganique-amidone (Isp4) était le milieu le plus efficace pour l'isolement des actinomycètes et ils ont pu isolées 31.7% d'actinomycètes à partir de ce milieu. La gélose Isp4 contient de l'amidon, du carbonate de calcium et du sulfate d'ammonium, qui favorisent une bonne croissance des actinomycètes. Le milieu GA, Bennett et M2 contiennent de l'asparagine, la caséine et l'amidon, macromolécules sélectives pour les actinomycètes, ces milieux contiennent des oligo-éléments indispensables à la croissance bactérienne (**Duchauffour, 2001**). L'absence d'isolat dans le milieu M2 additionnée de 50% NaCl, s'explique par l'absence d'actinobactéries halophiles dans les échantillons prélevés.

Selon les résultats obtenus, on constate que le nombre des souches obtenues diffèrent selon le milieu d'isolement utilisé. La disponibilité des nutriments est l'un des principaux facteurs déterminant la croissance des actinomycètes, la plupart des actinomycètes peuvent utiliser une grande variété de composés tels que le glucose, l'amidon, les protéines et les acides aminés comme source d'énergie, contrairement à d'autre groupes bactériens qui privilégient les sources simples de carbone et d'azote (**Gil et al., 2009**).

Tableau VIII. Isolats d'actinobactéries obtenues selon le sol et les milieux utilisés.

Sol	Milieu d'isolement	Isp4					Glucose asparagine					Bennet					M2					M2 +50% NaCl					Nombre D'isolats	
	Dilution	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>7</sup>		
Pal	Isolats d'actinomycète	17	11	9	4	2	15	8	4	4	2	10	6	4	3	0	7	7	2	1	0	0	0	0	0	0	0	115
Chott		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	02
Total		42					33					23					17					2					117	



**Figure n°11.** Distribution des isolats d'actinobactéries par milieu de culture de sol de palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Selon la **figure n° 12** le milieu M2+50%NaCl le seul milieu sélectif pour l'isolement des actinomycètes halophiles de sol de Chott Ain EL Beida, 2 isolats ont été isolés à partir de ce milieu, alors qu'aucun isolat n'a été obtenu à partir des autres milieux. Des résultats similaires ont été obtenus par **Cai et al., (2009)**, dans le lac salin de Quinghai en Chine où aucune souche d'actinobactéries n'a été isolée de l'échantillon d'eau. Les résultats négatifs obtenus avec les quatre milieux Isp4, GA, Bennett et M2, peuvent être expliqués soit par des interactions entre les ingrédients du milieu de culture et les constituants de sol de Chott, défavorisant ainsi la croissance des actinobactéries ou par la présence d'un faible nombre d'actinobactéries halophiles (**Bougachiche et al., 2005**).

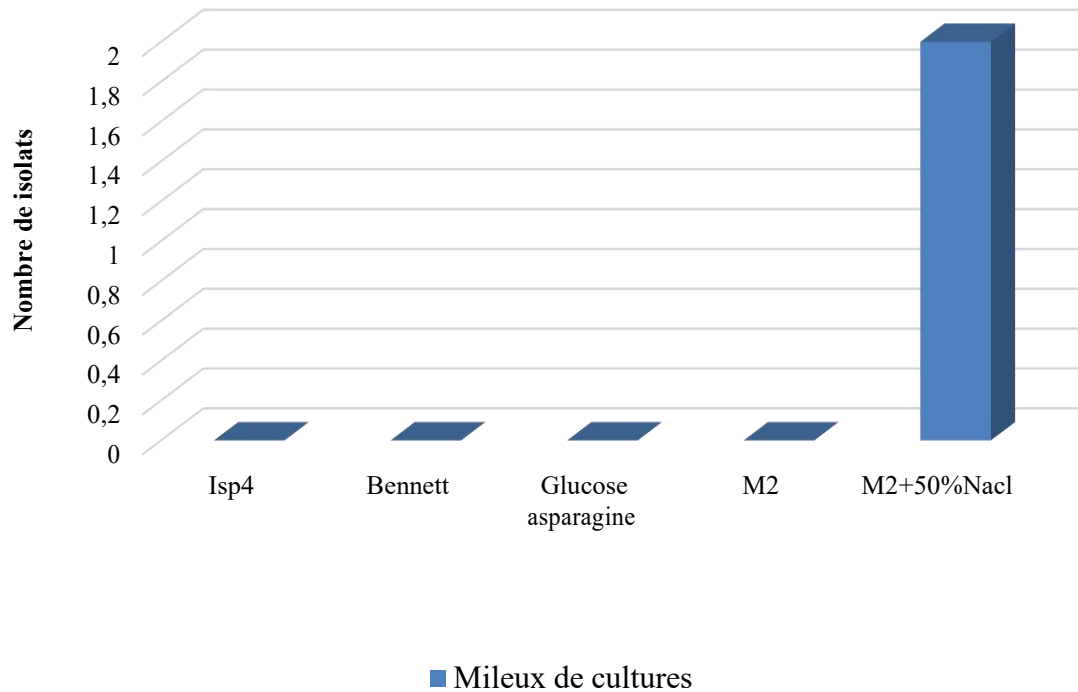


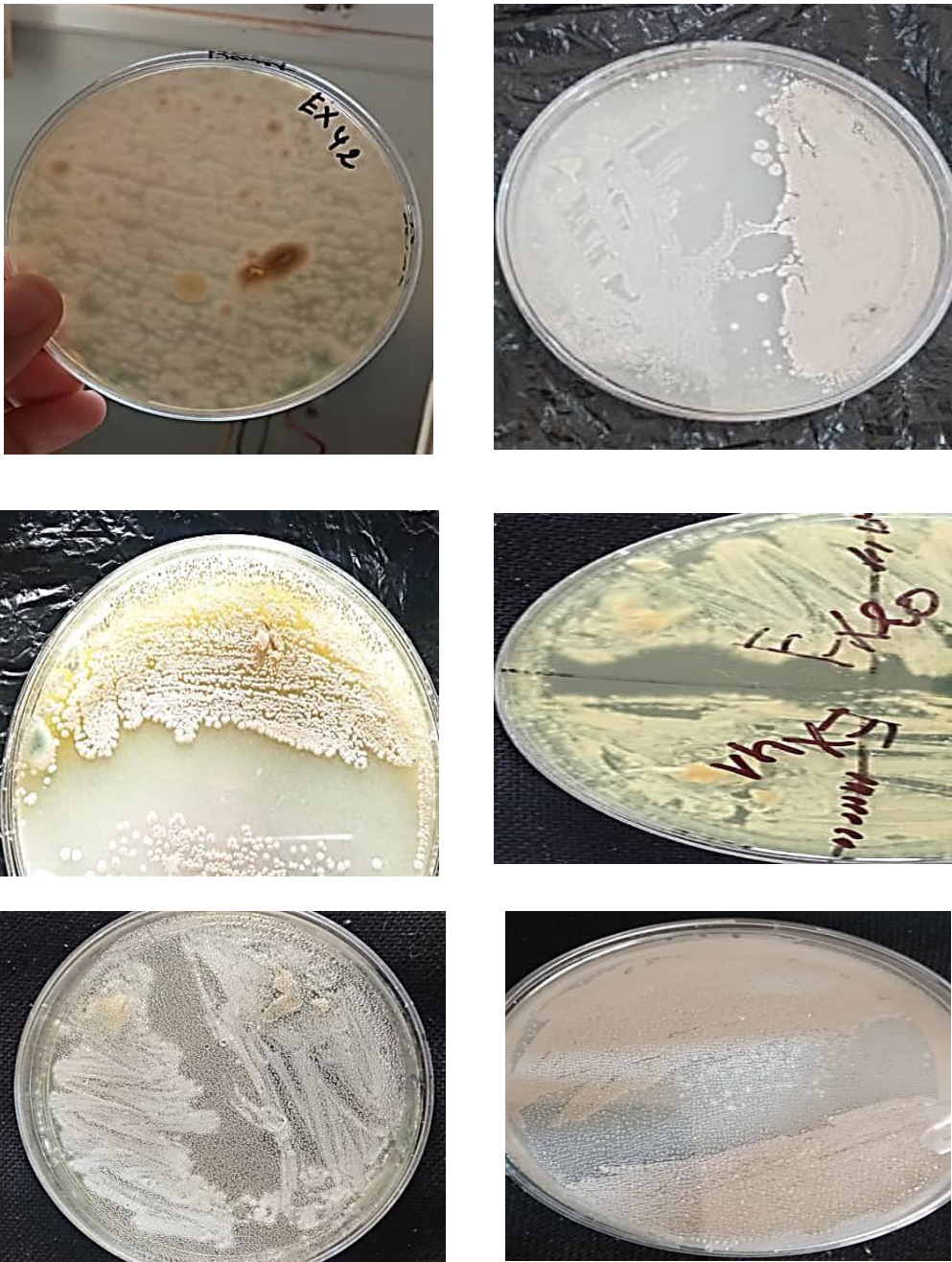
Figure n°12. Distribution des isolats d’actinobactéries par milieu de culture de Chott Ain EL Beida.

## Résultats d’identification des actinobactéries

### Identification macromorphologique

L’étude macromorphologique des souches d’actinobactéries après une culture sur les milieux Isp4, Bennett, M2 et glucose asparagine a aidé dans l’identification possible des souches étudiées, Selon nos observation, la plupart des souches présentent une croissance abondante sauf quelques souches. Elles sont d’une taille moyenne, d’un aspect poudreux, rugueux ou lisse, qui adhèrent à la surface de la gélose, de différentes couleurs grisâtre, jaunâtre, blanc laiteuse et blanc jaunâtre (**Photo n°03**).





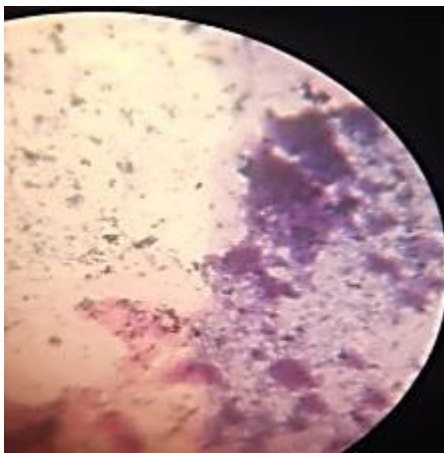
**Photo n°3.** Aspect macroscopique de quelques souches d'actinobactéries isolées (originale).

### **Identification micromorphologique**

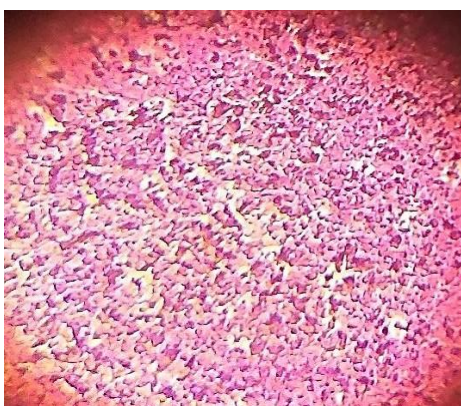
Les résultats des observations microscopiques des isolats d'actinobactéries après coloration de Gram confirment l'appartenance de ces isolats aux groupes des bactéries au Gram positif, ce test a permis d'apprécier un certain nombre de caractères tels que l'aspect des filaments qui contribuent à l'identification des actinomycètes (**Photos n°04**).



**Photos n°4.** Aspect microscopique de quelques souches d'actinomycètes à l'état frais (G×10).



**Photos n°6.** Aspect microscopique de quelques souches d'actinomycètes après coloration de Gram (×10).



**Photo n°5.** Aspect microscopique de différentes souches d'actinomycètes après coloration de Gram (G×100).

### **Mise en évidence de l'activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne des actinobactéries isolées a été effectuée vis à vis six germes cible, quatre bactéries à Gram négatif, une bactérie à Gram positif et un champignon, a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar sur milieu Muller Hinton. Les résultats obtenus après incubation à 30°C pendant 24 h à 48 h pour les bactéries et la levure, indiquent la présence ou non d'activité antimicrobiennes vis à vis les germes cibles.

Après incubation, des zones d'inhibitions indiquent des résultats positifs. Cette zone est observée autour des disques d'actinomycète ce qui signifie que ces bactéries produisent des molécules antimicrobiennes capables de stopper la croissance des souches tests. L'absence de zone d'inhibition claires autour des disques d'agar, indique que la souche test n'a pas d'activité vis-à-vis la souche cible.

Parmi les 117 souches d'actinobactéries isolées, 28 ont été sélectionnés pour l'étude d'activité antibactérienne vis-à-vis les germes pathogènes, 26 à partir du sol de palmeraie de faculté et 2 isolats à partir du sol de Chott Ain EL Beida (**Tab IX**).

Tableau IX. Profils antimicrobiens des isolats d'actinobactéries sélectionnés (Diamètre des zones d'inhibitions en mm).

Sol	Souche	<i>Candidaalbicans</i>	<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus sp.</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Sol de palmeraie	EX 20.2X	0	0	8mm	0	0	0
	EX 20	0	0	0	0	13mm	11mm
	EX 36a	14mm	0	12mm	0	0	0
	EX 36b	0	0	17mm	0	0	0
	EX 11	0	9mm	15mm	0	15mm	12mm
	EX 31	25mm	0	14mm	0	0	0
	EX 32	13mm	0	0	0	0	0
	EX 33	0	0	11mm	0	0	0
	EX 41	0	10mm	15mm	0	12mm	9mm
	EX 45	0	0	9mm	0	0	0
	EX 46	0	0	18mm	0	10mm	9mm
	EX 28	0	0	0	0	9mm	0
	EX 20X	0	12mm	0	11mm	11mm	0
	EX 27	0	14mm	0	0	13mm	0
	EX 18	0	9mm	0	0	14mm	0
EX 39	0	0	14mm	0	12mm	0	

*Chapitre IV. Résultats et discussions*

---

	EX 08	0	0	0	0	0	0
	EX 42X	0	0	0	0	0	0
	EX 08X	0	0	0	0	0	0
	EX 29	0	0	0	0	0	0
	EX 38	0	0	0	0	0	0
	EX 43	0	0	0	0	0	0
	EX 8	0	0	0	0	0	0
	EX 35	0	0	0	0	0	0
	EX 20.3X	0	0	0	0	0	0
	EX19	0	0	0	0	0	0
<b>Sol de Chott</b>	Ch1	0	0	0	0	0	0
	Ch2	0	0	0	0	0	0



Parmi les 28 souches d'actinomycètes testés par la méthode des cylindres d'agar, 13 souches ont montré une activité antimicrobienne vis-à-vis des germes cibles (bactéries à Gram positif et à Gram négative et champignon (46%), tan disque les 15 autres souches (54%), n'ont montré aucune zone d'inhibition vis-à-vis des germes cibles utilisé.

Les souches testées ont montré une activité antibactérienne variable vis-à-vis les germes cibles (**tableau IX**). Les zones d'inhibition varient entre un maximale de 25mm de diamètre observé chez la souche **EX31** et un minimale de 8mm de diamètre enregistré chez la souche **EX20.2x**.

D'après le **tableau IX** les souches **EX 20, EX 28, EX 27, EX 18, EX 39** et **EX 20x** présentent une activité antibactérienne contre les bactéries tests à coloration de Gram négatif seulement. Alors que les souches **EX 20.2x, EX 36b, EX 11, EX 33, EX 32** agissent sur les bactéries à Gram positif seulement. Ces résultats sont semblables à ceux de **Dahmani et al., (2017)**, qui montre que l'isolat *Streptomyces s.p* (TA4) est fortement active contre les bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres d'inhibition de 40 mm, respectivement, aucune activité n'est enregistrée contre les bactéries à Gram négatif.

D'autre part les souches **EX11, EX41, EX46, EX39** présentent une activité à la fois contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, alors que les souches **EX36a, EX31, EX32** présentent une activité antimicrobienne contre *Candida albicans*.

Les plus grandes zones d'inhibition ont été obtenues par la souche **EX31** contre *Candida albicans* avec un diamètre de 25mm, et la plus petite zone d'inhibition a été observée avec l'isolat **20.2x** contre *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 8mm (**Tabn IX**) (**Photo n°15**). Une zone importante indique une activité antimicrobienne plus efficace ou diffusion importante de la substance ou les deux et aucune zone n'indique une résistance complète. D'autre part, une zone étroite peut ne pas indiquer que la substance n'est pas assez puissante, mais plutôt qu'il n'a pas pu se disperser correctement dans le milieu puisqu'il s'agissait d'une substance non polaire ou composée de substances plutôt non polaires (**Srivibool et al., 2006**)

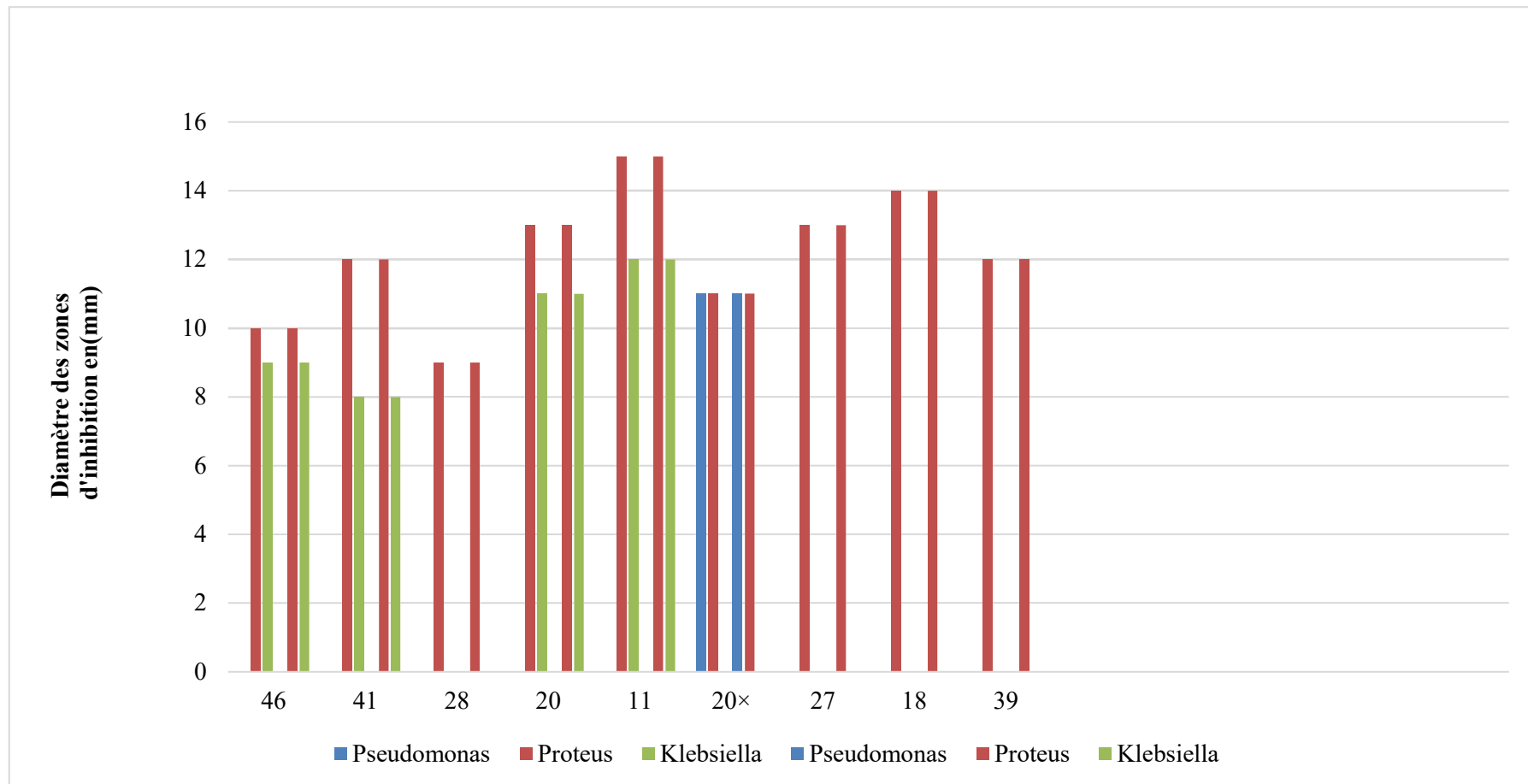
Les variations de zones d'inhibition s'expliquent par le fait qu'une souche d'actinobactérie peut produire plusieurs molécules antimicrobiennes de différents spectres d'action, dont la nature dépend de la composition du milieu de culture (**Boudjouref, 2011**). Ainsi, le choix des milieux de culture et des microorganismes-tests est d'une importance

capitale pour mettre en évidence les activités antimicrobiennes des actinomycètes (**Bougachiche et al., 2005**)

Les isolats **EX11, EX41, EX20x** ont donné une activité antimicrobienne plus élevée par rapport aux autres isolats, aussi actifs contre un large spectre de microorganismes cibles, L'analyse des résultats obtenus, montre que l'isolat **EX11** possède un spectre d'activité inhibitrice très large sur les germes cibles testés. Les inhibitions sont observées contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp.* et *Klebsiella pneumoniae* avec des zones d'inhibitions de l'ordre de 9 mm, 15 mm, 15 mm et 12 mm respectivement.

Les deux souches d'actinobactéries **EX36a et EX31** ont une activité antimicrobienne contre les mêmes germes testées, Cela peut être dû à la sécrétion des mêmes principes actif ou la sécrétion d'un principe actif à large spectre d'action (**Omura, 1992**)

Les 10 souches d'actinomycètes isolés à partir de sol de palmeraie de faculté : **EX08, EX42x, EX08x, EX29, EX38, EX43 EX8, EX35, EX20.3x, EX19** et les deux souches **Ch1 et Ch2** isolats à partir du sol de Chott, n'ont montré aucune zone d'inhibition vis-à-vis des tous les germes pathogènes (**Tab n° IX**).



**Figure n°13.** Activité antimicrobienne des actinomycètes contre les microorganismes cibles *Candida albicans*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*.



La figure n°13 montre que :

- Les souches EX20.3x, EX36a, EX31 présentent une activité antimicrobienne vis-à-vis de la souche *Candidaalbicans* dont le diamètre le plus grand est donné par la souche EX31(25mm).
- Les souches EX41, EX11, EX20x, EX27, EX18 présentent une activité antimicrobienne vis-à-vis de la souche *E. coli* dont le diamètre le plus importante est donné par la souche 27 (14mm).
- Les souches EX.2x, EX36a, EX36b, EX31, EX33, EX45, EX46, EX41, EX11,EX 39 présentent une activité antimicrobienne vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus*, dont le diamètre le plus importante est donné par la souche EX46 (18mm). Ce résultat est intéressant d'autant plus que les infections dues à *Staphylococcus aureus* occupent en pathologie infectieuse une place importante par leur nombre et leur gravité surtout dans les hôpitaux.

Les résultats de **Fortas et al., (2017)** et **Belghitet al., (2016)** montrent que 57% des souches ont une activité antimicrobienne contre *Candida albicans*. Ainsi que, **Aouiche et al., (2012)**et **Khebizi et al., (2018)** indiquent que 42% des souches n'ont pas une activité antimicrobienne contre *Candida albicans*.

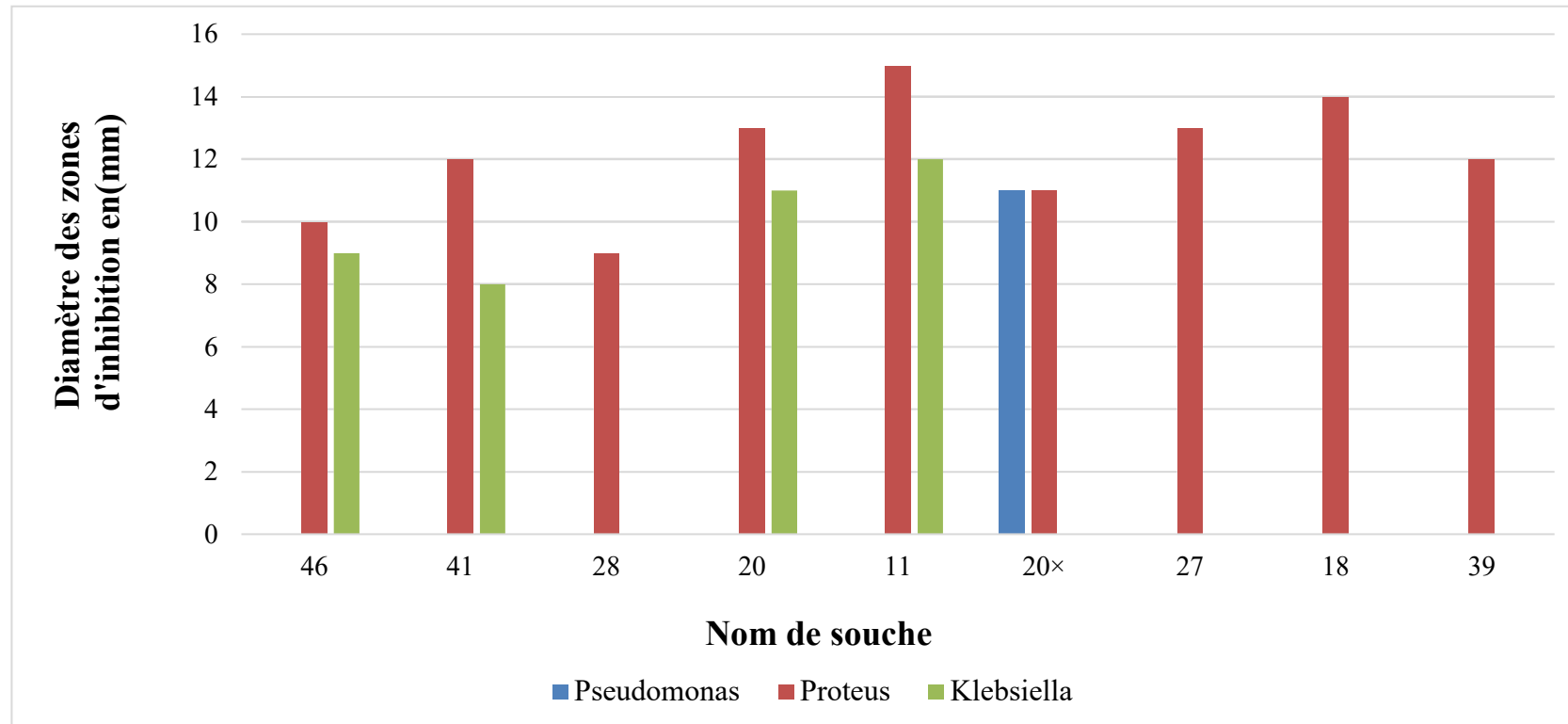
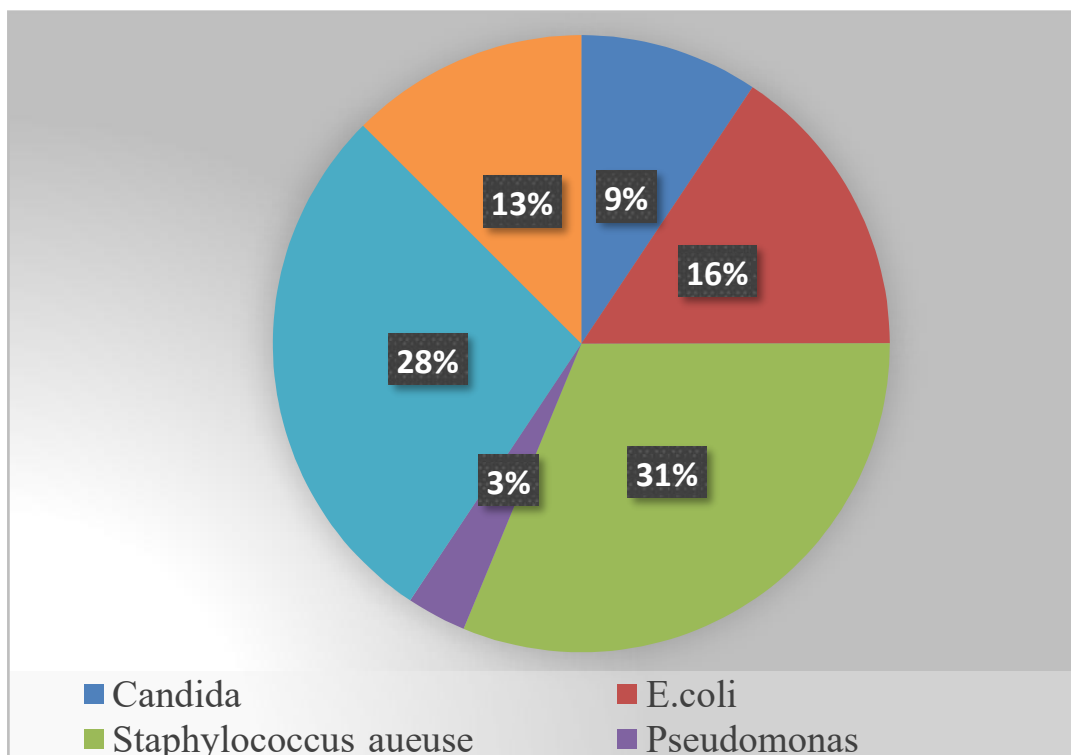


Figure n°14. Activité antimicrobienne des actinomycètes contre les bactéries Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*).

La figure n°14 montre que :

- Les souches EX46, EX41, EX28, EX20, EX11, EX20x, EX27, EX18, EX39 présentent une activité antimicrobienne vis-à-vis de la souche *Proteus sp.* Dont le diamètre le plus grand est donné par la souche 11(15mm).
- Les souches EX46, EX41, EX20, EX11 présentent une activité antimicrobienne vis-à-vis de la souche *Klebsiella pneumoniae* dont le diamètre le plus importante est donné par la souche 12(11mm)
- Le souche EX20x les seules souches présentent une activité antimicrobienne contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* dont le diamètre 11mm



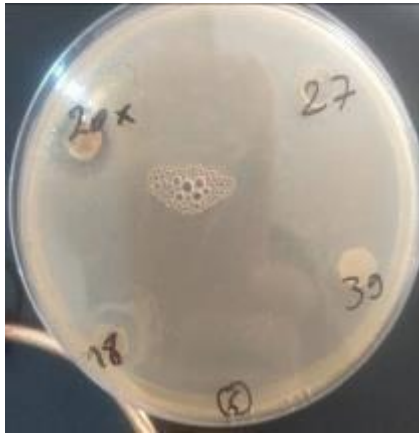
**Figure n°15.** Pourcentages des isolats d'actinomycètes ayant une activité antimicrobienne vis-à-vis des souches tests utilisées.

Les souches **EX20.2X, EX36a, EX36b, EX11, EX31, EX33, EX41, EX45, EX46, EX39** présentent une activité antibactérienne vis-à-vis de la bactéries Gram positif de la souche *Staphylococcus aureus* dont le pourcentage le plus grand (31%) que les autre souches Gram négatif avec de diamètre de zones d'inhibition *Candida albicanus* (9%), *E. coli* (16%), *Pseudomonas aeruginosa* (3%), *Proteus sp* (28%) et *Klebsiella pneumoniae* (13%) **(Photon°07)**

Les résultats présentés par de **Fortas et al., (2017)** ; **Aouiche et al., (2012)** ; **Belghit et al., (2016)** ; **Khebizi et al.,(2006)** montrent que toutes les souches d'actinobactéries ont une grande activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*.

En effet, d'après **Robinson et al., (2001)**, les actinomycètes produisent des antibiotiques puissants contre les bactéries à Gram positif, les bactéries Gram négatif étant souvent moins sensibles aux antibiotiques produits par les actinomycètes que les Gram positif à cause de la présence dans leurs membranes externes de sucres de nature lipopolysaccharidique (LPS) ce qui rend leur paroi imperméable au passage des solutés lipophiles, contrairement aux bactéries à coloration de Gram positif qui ont une paroi tapissée uniquement par le peptidoglycane qui n'est pas une barrière efficace (**Naikpatil et al., 2011**).

Les résultats obtenus montrent que les sols de palmeraies en Algérie, constituent un écosystème particulier, renferment un potentiel assez riche en actinobactéries qui se sont révélés être de grands producteurs de nouvelles molécules antimicrobiennes (**Zitouni et al., 2005** et **Boudjella et al., 2006**).



*Proteus sp.*



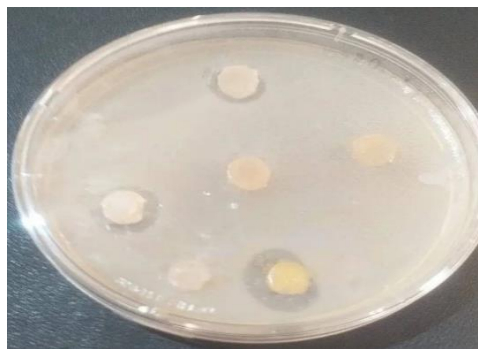
*Staphylococcus aureus*



*E. coli*



*Staphylococcus aureus*



*Klebsiella pneumoniae*

**Photo n°7.** Activité antimicrobienne des souches d'actinobactéries vis-à-vis quelques microorganismes cibles.

**Mise en évidence de l'activité enzymatique**

Les résultats d'activité enzymatique de 28 souches étudiées sont illustrés dans le tableau ci-dessous **Tableau X**.

**Tableau X.** Résultats d'activité enzymatique des souches d'actinobactéries sélectionnées.

Souches	Substrat dégradé		Total des enzymes produites	Pourcentage %
	Acide urique	Asparagine		
Ex 20.2x	+	+	2	100
Ex 20.3x	+	+	2	100
Ex 36.b	+	+	2	100
Ex 35	+	+	2	100
Ex 42x	+	-	1	50
Ex 20x	+	-	1	50
Ex 19	+	-	1	50
Ex 38	+	+	2	100
Ex 43	-	+	1	50
Ex 08x	-	+	1	50
Ex 33	-	+	1	50
Ex 45	-	+	1	50
Ex 18	-	+	1	50
Ex 36.a	-	+	1	50
Ex 11	-	+	1	50
Ex 08	-	-	0	0
Ex 20	-	-	0	0
Ex 31	-	-	0	0
Ex 32	-	-	0	0
Ex 41	-	-	0	0
Ex 46	-	-	0	0
Ex 28	-	-	0	0
Ex 27	-	-	0	0

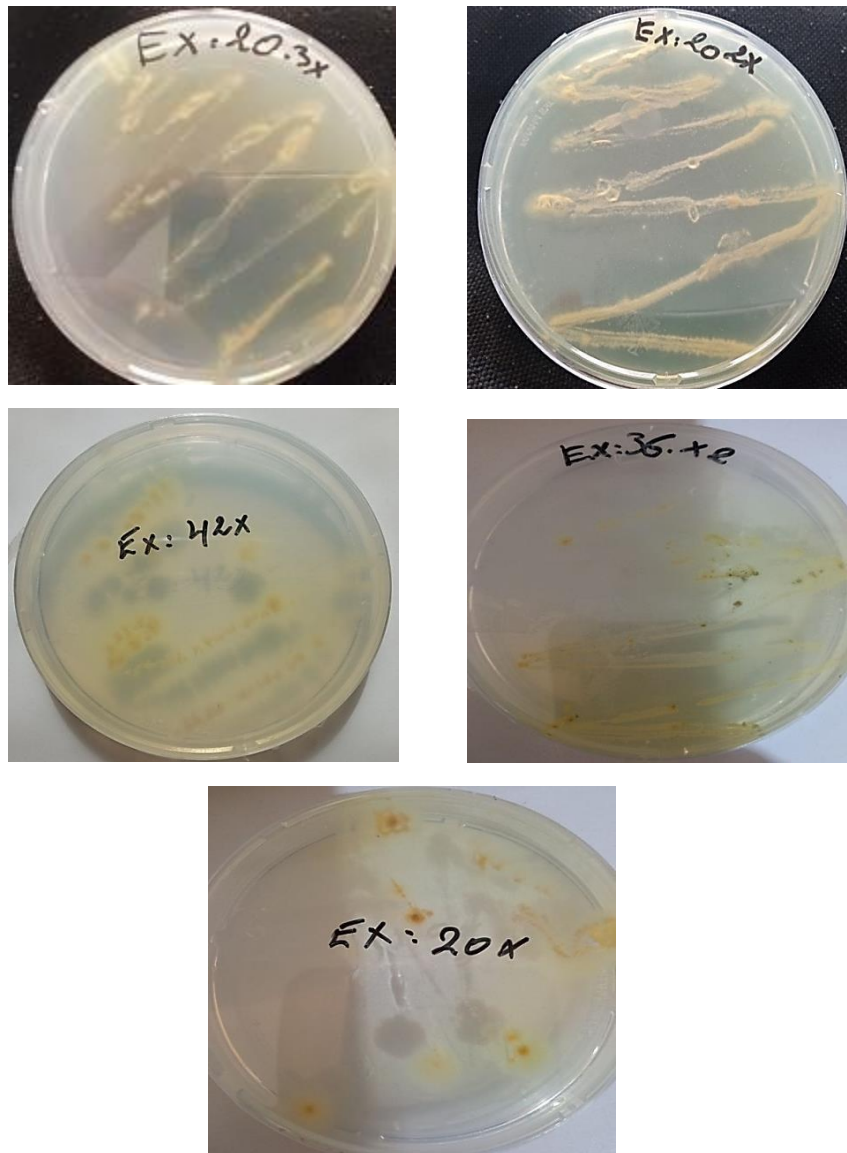
Ex 39	-	-	0	0
Ex 29	-	-	0	0
Ex 8	-	-	0	0
Chatt1	-	-	0	0
Chatt2	-	-	0	0
Pourcentage %	28.5	42.8		

### **Réparation des activités selon la nature du substrat dégradé**

#### **Dégradation de l'acide urique**

D'après les résultats illustrés dans le **Tableau X**, on remarque quelques souches **EX20.2x**, **EX20.3x**, **EX 36.2x**, **EX35**, **EX42x**, **EX 20x**, **EX19**, **EX 38** d'actinomycètes étudiées capables de dégrader l'acide urique à l'exception d'autres souches. L'activité uricasique se traduit par la présence d'une zone d'hydrolyse claire autour de la colonie après 3 jours d'incubation (**photo n° 08**).

L'uricase est une enzyme qui participe à la voie de dégradation des purins, catalysant l'oxydation de l'acide urique en allantoïne et en peroxyde d'hydrogène en présence d'oxygène (**Moussi, 1996**).



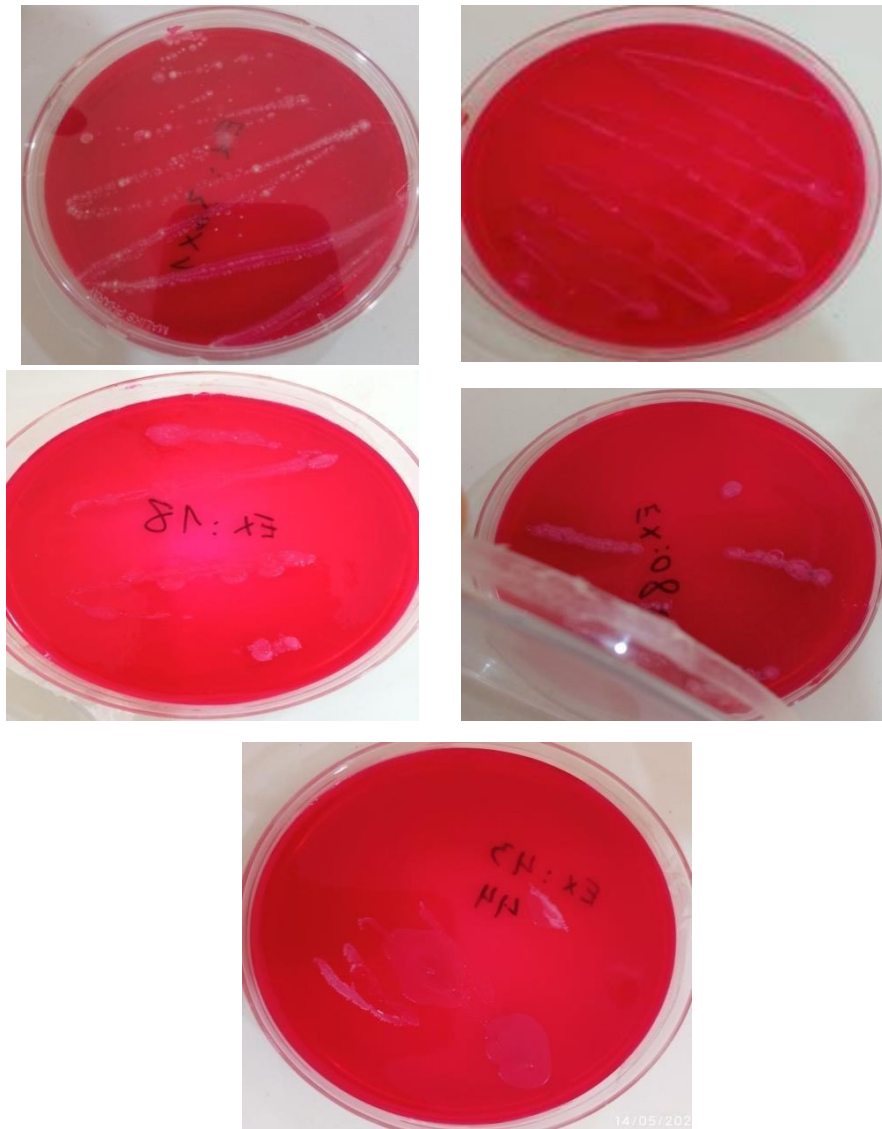
**Photo n°8.** Résultat positif de l'activité uricase de quelques souches actinomycètes étudiées sur le milieu contenant de l'acide urique.

### Dégradation de l'asparagine

D'après **Tableau XI**, on remarque que la plus grande partie des souches **EX20.2x, EX20.3x, EX36b, EX35, EX38, EX43, EX 08x, EX45, EX18, EX36a, EX11 et EX33** d'actinomycètes étudiés ont pu dégrader l'asparagine

Cette activité enzymatique se traduit par la présence d'une coloration rose autour de la colonie, ce changement est le résultat de l'augmentation du pH du milieu M9 à cause de la libération des ions d'ammoniac (**Photo n°9**).





**Photo n° 09.** Résultat positif de l'activité de la L-asparagine de quelques souches actinomycètes étudiées sur le milieu M9

Concernant l'uricase, nos résultats se cohérents des travaux trouvés dans la bibliographie par divers chercheurs où moins de 50 % de leurs souches actinomycètes isolées ont montré une activité positive. C'est l'exemple d'**El-Naggar, (2015)** qui a isolé 130 souches actinomycètes à partir des sols, en Alexandrie en Égypte, et qui a mentionné que 42 % de leurs isolats possédaient l'enzyme uricase, et d'**Aly et al. (2013)** qui ont étudié la production de cette enzyme chez 49 souches d'actinomycètes isolées à partir de plusieurs échantillons (eaux usées, sols, eau marine... etc.) à Jaddah en Arabie Saoudite et qui ont mentionné que seulement 20 % de leurs souches ont prouvé leur capacité à dégrader l'acide urique.

Nos résultats sont en accord avec ceux présentés par **Ravi Varma et al. (2016)** pour l'étude de la L-asparaginase de 45 souches d'actinomycètes isolées à partir du sol marin où ils

ont montré que tous leurs isolats possèdent une activité asparaginolytique. Mais ils sont loin de ceux rapportés par **Sudhir et al., (2012)** pour l'étude de cette activité chez 90 souches d'actinomycètes isolées à partir du sol où seulement 35 % (11 souches) de leurs isolats ont montré une activité positive.

De plus nos résultats sont en accord avec ceux présentés **Cedah et Boudekique, (2016)** qui ont travaillé sur 28 souches d'actinobactéries d'où 100% dès leur souche produise de L-asparagine et 92% produise de l'uricase.

La production de ces deux enzymes est une propriété très courante chez le genre *Streptomyces* sp. qui appartient à la famille des *Streptomycetaceae*. En fait la L-asparaginase a été isolée à partir de *Streptomyces gulbargensis*, *Streptomyces noursei*, *Streptomyces*

*acrimycini*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces fradiae* (**Amena et al., 2010 ; Dharmaraj, 2011 ; Selvam et Vishnupriya, 2013 ; El-Naggar et al., 2016**).

L'uricase est isolé à partir de *Streptomyces exfoliates* et *Streptomyces rochei* (**Aly et al., 2013 ; El-Naggar, 2015**). Et rares sont les études qui ont rapporté la production de ces enzymes à partir d'autres genres (**Kai et al., 2008 ; Khucharoenphaisan et Sinma, 2011 ; Meena et al., 2015**).

# Conclusion

Les souches d'actinobactéries est extrêmement utile dans le domaine des biotechnologies, Leur capacité exceptionnelle à produire des métaboliques secondaires et leur diversité écologique en font d'eux des producteurs potentiels de nombreux composés. Ces composés sont utilisés dans le domaine médical pour aider à traiter les maladies infectieuses et sont également utilisés dans le domaine de l'agroalimentaire (**Azariz, 1996**).

Lorsqu'il s'agit des microorganismes pathogènes, la résistance du microbe aux antibiotiques pose un sérieux problème. Cette résistance se manifeste par la capacité acquise d'un microorganisme à résister aux effets d'un traitement thérapeutique chimique auquel il est normalement sensible, la propagation de ses bactéries est devenue un grave problème de santé publique (**Mehrotra et al., 2003**).

Le besoin de développement de nouvelles molécules antimicrobiennes augmente en raison de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Cependant, il y a très peu de chances d'isoler de nouvelles souches d'actinobactéries qui produiront de nouveaux antibiotiques à partir d'environnements communs, tels que comme les rhizosphères, le sol de zones forestières, des rivières, etc. De ce, le recours à des milieux extrêmes inexplorés, devient nécessaire (**Messaoudi, 2013**).

De nombreux travaux ont été réalisés dans le but de l'étude et la caractérisation des souches d'actinobactéries à partir des différents types du sol. Ces travaux ont porté sur la mise en évidence de leur biodiversité métabolique production des substances antimicrobienne contre les bactéries pathogènes comme à Gram négatif *E. coli* et les bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* et production des enzymes.

L'objectif essentiel de ce travail est l'isolement des souches actinobactéries, l'identification de ces souches et la caractérisation partielle des molécules bioactives synthétisées ont été également abordés.

La première partie de travail expérimental est consacrés à l'isolement d'actinobactéries et identification macromorphologique et micromorphologique de ces souches. L'isolement a été réalisé à partir deux échantillons prélevés de deux écosystèmes différents : une palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et un Chott Ain EL Beida de la région de Ouargla. Chaque échantillon représente un lot moyen de 6 prélèvements. L'isolement des actinobactéries sur cinq milieux de culture : Bennett, glucose asparagine, M2, M2+50%NaCl et Isp4 a permis d'obtenir 117 isolats dont 115 à partir de palmeraie de la faculté et 2 à partir

de Chott Ain EL Beida. D'où 98.3% des souches ont été isolées à partir des sols de palmeraie de la faculté et 1.7% à partir du sol de Chott ces résultats expliquent que le sol de palmeraie est plus riche en matière organique nécessaire pour la croissance des actinobactéries que l'autre sol qui est caractérisé par sa salinité élevée.

Le milieu Isp4 est le meilleur milieu pour l'isolement des actinomycètes, contient de l'amidon, du carbonate de calcium et du sulfate d'ammonium, qui favorisent une bonne croissance des actinomycètes.

La deuxième partie de ce travail est consacrée à l'étude d'activité antimicrobienne des souches d'actinobactéries isolées, par la méthode des cylindres d'agar vis-à-vis différentes souches pathogènes, bactéries et champignons. Les résultats obtenus ont montré que les souches d'actinobactéries ont une grande activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* (Gram positif) à cause des bactéries à Gram positif plus sensible que les bactéries à Gram négatif aux antibiotiques produits par les actinomycètes, Les plus grandes zones d'inhibition ont été obtenues par la souche **EX31** contre *Candida albicans* avec un diamètre de 25 mm et l'activité minimale est celle de la souche **EX20.2X** contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de l'ordre de 8 mm.

La dernière partie est consacrée à l'étude de l'activité enzymatique des souches d'actinobactéries isolées, les résultats obtenus ont montré que les actinobactéries ont la capacité de dégrader divers composants complexes comme l'acide urique et la L-asparagine ce qui indique qu'ils sont capables de produire des enzymes qui les aident à décomposer ces substrats l'uricase et l'asparaginase.

En perspectives, il est nécessaire de continuer le travail sur les axes suivants

- Étudier les autres souches isolées pour leur potentiel à produire des métabolites bioactifs.
- L'exploration d'autres environnements extrêmes dans le but d'isoler d'autres souches potentiellement intéressantes.
- Extraction d'antibiotiques sécrétés par ces souches isolées et d'étudier des caractéristiques moléculaires.
- Purification et caractérisation moléculaire des enzymes isolées produites par ces souches isolées.

**Références Bibliographiques**

**A**

- Aly. M, Tork.S, AL-garni. S, Allam.R (2013). Production and characterization of uricase from *Streptomyces exfoliatus* UR10 isolated from Wasted. *Turk Biol* 37 : 520-529.
- Amena, S., Vishalakshi, N., Prabhakar, M., Dayanand, A. and Lingappa, K (2010). Production, purification and characterization of L-asparaginase from *Streptomyces gulbargensis*. *Brazilian J Microbiol* 41:173–178.
- Anandan , R. , Dharumadurai , D. , &Manogaran , G. P. ( 2016 ) . An introduction to actinobacteria. In *Actinobacteria - basics and biotechnological applications*. IntechOpen .antibiotiques. Thèse de Doctorat. Université Mohamed Khider-Biskra.
- Aouiche, A., Sabaou, N., Meklat, A., Zitouni, A., Mathieu, F., &Lebrihi, A. (2012). Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp. PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. *Journal de mycologie médicale*, 22(1), 42-51.
- Arulappan , P. K. P. R. G. , Kalimuthu , K. , Perumal , D. ,Krishnan , S. E. J. P. P. , & Perumal , A. ( 2012 ) . In vitro antioxidant activity of hemolymph from *Camponotus compressus* and its anti - hyperglycemic activity on alloxan Induced diabetic albino rats . *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* , 1 , 6 .
- Atta, EM, Mohamed, NH &SilaeV, AAA (2017). Antioxydants : un aperçu des types naturels et synthétiques. *Bulletin chimique européen* , 6 (8), 365-375.
- Avilala..janardhan . , arthala..Praveen . , kumar . , buddolla . , Viswanath . , D.V.R. , Saigopal..an dGolla . ( 2013 ) .inomyrnarasimh .Production of bioactive Compounds by actinomycetes and ther antioxidant Properties , vol ID 217030,8P.
- Ayari, A., Morakchi, H., & Djamila, K. G. (2012). Identification and antifungal activity of *streptomyces* sp. S72 isolated from lake oubeira sediments in north- east of algeria. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 305-311. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2345>.
- Azariz, D. (1996). Sélection de souches d'actinomycètes cellulolytiques à partir du tube digestif de termites africains en vue d'applications en biotechnologie (Doctoral dissertation, Paris 12).

**B**

- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H. P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2015). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>.
- Barka, EA, Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, HP, ... & van Wezel, GP (2016). Taxonomie, physiologie et produits naturels des actinobactéries. *microbiologie et biologie moléculaire* , 80 (1), 1-43.
- Basha, N. S., Rekha, R., Komala, M., & Ruby, S. (2009). Production of extracellular anti-leukaemic enzyme lasparaginase from marine actinomycetes by solidstate and submerged fermentation: Purification and characterisation. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8(4).
- Basilio A., Gonzalez I., Vicente M.F., Gorrochategui J., Cabello A., Gonzalez A., and
- Belghit, S., Driche, EH, Bijani, C., Zitouni, A., Sabaou, N., Badji, B., & Mathieu, F. (2016). Activité du 2,4-Di-tert-butylphénol produit par une souche de *Streptomyces mutabilis* isolée d'un sol saharien contre *Candida albicans* et autres champignons pathogènes. *Journal de mycologie médicale* , 26 (2), 160-169.
- BELYAGOUBI, L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens (Doctoral dissertation).
- Benhamada, A., Boudjerida, K., Mati, A., & Rahmoune, Y. E. (2020). Identification phénotypique et moléculaire des bactéries lactiques (Doctoral dissertation, Université de Jijelt).
- Benimeli, CS, Amoroso, MJ, Chaile, AP et Castro, GR (2003). Isolement de quatre souches de streptomycètes aquatiques capables de se développer sur des pesticides organochlorés. *Technologie des bioressources* , 89 (2), 133-138.
- Bertrand, R., Lenoir, J., Piedallu, C., Riofrío-Dillon, G., De Ruffray, P., Vidal, C., ... & Gégout, JC (2011). Les changements dans la composition des communautés végétales sont en retard par rapport au réchauffement climatique dans les forêts de plaine. *Nature* , 479 (7374), 517-520.
- Boerlin, P., & White, DG (2006). Résistance aux antimicrobiens et son épidémiologie. *Antimicrobienne en médecine vétérinaire 4e éd* S Giguère, JF Prescott, JD Baggot, RD Walker et PM Dowling, Eds.

- BOUAZIZ, S. (2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes: isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives (Doctoral dissertation).
- BOUBETRA–BISKRI, D. (2013). Nouvelles espèces de *Saccharothrix* isolées des sols sahariens et nouveaux antibiotiques secrétés par *Saccharothrix* SP. SA198 (Doctoral dissertation).
- BOUCHEFFA, K. (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques: Identification des souches prodde caractérisation des antifongiques produitsuctrices et Essai.
- Bouchlaghem , W. , Aggoun , A. , &Aouar , L. ( 2020 ) . Activités antimicrobienne et antioxydante des actinobactéries .
- Boudemagh, A., Kitouni, M., Boughachiche, F., Hamdiken, H., Oulmi, L., Reghioua, S., ... & Boiron, P. (2005). Isolement et identification moléculaire de la microflore des actinomycètes, de quelques sols sahariens du sud-est algérien (Biskra, EL-Oued et Ourgla) étude de l'activité antifongique de souches isolées. *Journal de Mycologie Médicale* , 15 (1), 39-44.
- BOUDJELAL-BENCHEIKH, F. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs secrétés par *Actinoalloteichus*sp. AH97 (Doctoral dissertation).
- Boudjella , H. , Bouti , K. , Zitouni A. , Mathieu , F. , Lebrihi , A. , &Sabaou , N. 2006 ) . Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium* Sg 10 isolated from a Saharan soil .*MicrobiologicalResearch* , 161 ( 4 ) 288-298 .
- BoudjourefM. , ( 2011 ) . Etude de loactivité antioxydante et antimicrobienne døextraits do *Artemisia campestris* L. Thèse de magister . Université Ferhat Abbes , Sétif .
- Boughachiche, F., Reghioua, S., Oulmi, L., Zerizer, H., Kitouni, M., Boudemagh, A., &Boulahrouf, A. (2005). Isolement d'actinomycétales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha de Aïn Mlila. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 5-10.
- Boussaber, E., Kadmiri, I. M., Hilali, L., &Hilali, A. (2012). Isolement des souches d'actinomycètes productrices de substances antifongique. *ScienceLib Editions Mersenn*, 4, 2111-4706.
- Bu'lock J.D. ( 1965 ) . - The biosynthesis of natural products . An introduction to secondary metabolism . McGraw - Hill ( Eds ) . London . pp77-93 .



C

- Cai , Y. , Xue , Q. , Chen , Z. , & Zhang , R. 2009 ) . Classification and salt - tolerance of actinomycetes in the Qinghai lake water and lakeside saline soil . J. Sustain .Develop , 2 ( 1 ) , 107-110 .
- Chavan D. ,Mulaje S. , &Mohalkar R. 2013. A review on actinomycetes and their biotechnological application . International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 4 ( 5 ) : 1730-1742 .
- Chung, YC, Chien, CT, Teng, KY et Chou, ST (2006). Propriétés antioxydantes et mutagènes de *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb&zucc. Chimie alimentaire , 97 (3), 418-425.

D

- Danilenko, V. N., Mironov, V. A., &Elizarov, S. M. (2005). Calcium as a regulator of intracellular processes in actinomycetes: a review. AppliedBiochemistry and Microbiology, 41, 319-329.
- DAOUD, A., & BOUHNİK, I. Contribution à l'étude des sols dans les zones humides de la cuvette de Ouargla (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA).
- De Boeck supérieur. France. 1120p.
- De Simeis, D., & Serra, S. (2021). Actinomycetes: A Never-Ending Source of Bioactive Compounds-An Overview on Antibiotics Production. Antibiotics (Basel, Switzerland), 10(5), 483.
- DelarrasC. , ( 2014 ) . Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle Sanitaire . Tec & doc Lavoisier.492p .
- Delaunay S., Rondags L., et Germain P., (2003) Production d'antibiotiques par biotechnologies, Tech. de l'ingé., J 6008: 1-12.
- DELAUNAY, S., RONDAGS, E., & GERMAIN, P. (2003). Production d'antibiotiques par biotechnologies. Ed. Techniques Ingénieur.
- Demain A. L. , ( 2000 ) . Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms . Applied microbiology and biotechnology,52,455-463.
- Devanshi, S., Shah, K. R., Arora, S., & Saxena, S. (2021). Actinomycetes as An Environmental Scrubber.

- Dharmaraj S (2011). Study of L-asparaginase production by *Streptomyces noursei* MTCC 10469, isolated from marine sponge *Callyspongiadiffusa*. *Iran J Biotechnol* 9 : 102–108.
- Dhevendaran , K. , & YK , A. ( 2012 ) . L- asparaginase activity in growing conditions of *Streptomyces* spp . associated with *Theraponjarbua* and *Villorita cyprinoids* of VeliLake , South India .
- Dickner-Ouellet, L. (2018). Optimisation de l'usage des coproduits dans l'alimentation des porcs en croissance: impact du type de fibre et de la xylanase sur la digestion des nutriments (Doctoral dissertation, Université Laval).
- Djaballah C., (2010)-Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés
- Duchauffour P. , ( 2001 ) . Introduction a la science du sol .Sol , végétation et environnement , 6ème Ed . , Dunod , Paris . 331p . STORTING.

## E

- El-Naggar N. E, Moawad H, El-Shweihy N. M and El-Ewasy S. M (2015). Optimization of culture conditions for production of the antileukemic glutaminase free L-asparaginase by newly isolated *Streptomyces olivaceus* NEAE-119 using response surface methodology. *BioMed Res Int*. 17 pages
- El-Naggar, N.E., Deraz, S.F., Soliman, H.M., El-Deeb, N.M. and El-Ewasy, S.M. (2016) Purification, characterization, cytotoxicity and anticancer activities of Lasparaginase, anti-colon cancer protein, from the newly isolated alkaliphilic *Streptomyces fradiae* NEAE-82. *Sci Reports Nat* 6, 32926: 1-16
- El-Naggar, N.E., Deraz, S.F., Soliman, H.M., El-Deeb, N.M. and El-Ewasy, S.M. (2016) Purification, characterization, cytotoxicity and anticancer activities of Lasparaginase, anti-colon cancer protein, from the newly isolated alkaliphilic *Streptomycesfradiae* NEAE-82. *Sci Reports Nat* 6, 32926: 1-16.
- Erikson, D. (1949). The morphology, cytology, and taxonomy of the actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 3(1), 23-54.

## F

- Fauchere, B. ,Tankovic , J. , Megraud , F. , Glupczynski , Y. , Husson , M. O. , Conroy M. C. , &Grignon , J. L. ( 2002 ) . Validation of diffusion methods for macrolide

susceptibility testing of *Helicobacter pylori* . *Microbial Drug Resistance* , 8 ( 1 ) , 61-66

- Franco , M. , Huber , R. , Schmidt , F. S. , Laber , B. , & Clausen , T. ( 2000 ) . Crystallization and preliminary X - ray crystallographic analysis of PdxJ , the pyridoxine 5 ' - phosphate synthesizing enzyme . *Acta Crystallographica Section D : Biological Crystallography* , 56 ( 8 ) , 1045-1048 .

## G

- Gale , E. F. ( 1981 ) . Antibiotic inhibitors of ribosome function . *The molecular basis of antibiotic action* Mammeri, H., & Amiens, C. H. U. (2013). Mode d'action des antibiotiques. Service de bactériologie, CHU Amiens. P, 2013, 402-547 .
- Garet, G. (2014). Classification et caractérisation de familles enzymatiques à l'aide de méthodes formelles (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).
- Genilloud O., (2003). Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated
- Ghribi, M. (2019). La biodiversité microbienne des déchets (boues papetières et huiles usées) et son potentiel d'application enzymatique (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).
- Gil, SV, Pastor, S., & March, GJ (2009). Isolement quantitatif des agents de lutte biologique *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp. et les actinomycètes du sol avec des milieux de culture. *Recherche microbiologique* , 164 (2), 196-205.
- Goodfellow , A. , Alaghband - Zadeh , J. , Carter , G. , Cream , J. J. , Holland , S. , Scully , J. , & Wise , P. ( 1984 ) . Oral spironolactone improves acne vulgaris and reduces sebum excretion . *British Journal of Dermatology* , 111 ( 2 ) , 209-214 .
- Goodfellow, M., & Williams, ST (1983). Écologie des actinomycètes. *Revue annuelle de microbiologie* , 37 (1), 189-216.
- Gottlieb , D. ( 1967 ) . Microorganisms : The Actinomycetes A Summary of Current Knowledge . Selman A. Waksman . Ronald , New York , 1967. 286 pp . , illus . \$ 12 . *Science* , 157 ( 3792 ) , 1028-1028.
- GOUARI, S. (2021). Mécanismes d'action et de Résistance aux Antibiotiques (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
- Guardabassi , L. , & Courvalin , P. 2005 ) . Modes d'action antimicrobiens et mécanismes de résistance bactérienne . *Antibiorésistance chez les bactéries d'origine animale* , 1-18

- Gunasalus I.C. ( 1986 ) . The Bacteria . A Treatise on structure and function . Edition Academic Press Inc , London . 632 p .

## H

- Hamid, AA, Aiyelaagbe, OO, Usman, LA, Ameen, OM et Lawal, A. (2010). Antioxydants : Ses applications médicales et pharmacologiques. Revue africaine de chimie pure et appliquée , 4 (8), 142-151.
- Hana, B., &Roufaida, M. (2021). Etude des approches génomiques dans l'estimation du pouvoir métabolique des actinomycètes (Doctoral dissertation, Universitelaarbitebessitebessa).

## I

- Imada, C. (2005). Inhibiteurs d'enzymes et autres composés bioactifs d'actinomycètes marins. Antonie Van Leeuwenhoek , 87 , 59-63.

## J

- Jacob , N. , Niladevi , K. N. , Anisha , G. S. , &Prema , P. ( 2008 ) . Hydrolysis of pectin : an enzymatic approach and its application in banana fiber processing . Microbiological research , 163 ( 5 ) , 538-544.
- Jagannathan, S. V., Manemann, E. M., Rowe, S. E., Callender, M. C., & Soto, W. (2021). Marine actinomycetes, new sources of biotechnological products. Marine Drugs, 19(7), 365.
- Janardhan, A., Kumar, AP, Viswanath, B., Saigopal, DVR et Narasimha, G. (2014). Production de composés bioactifs par les actinomycètes et leurs propriétés antioxydantes. Recherche enbiotechnologieinternationale , 2014 .
- Johnsen A.R. (2002). Winding A, Karlson U, Roslev P. Linking of microorganisms to phenanthrene metabolism in soil by analysis of <sup>13</sup>C-labeled cell lipids. Appl Environ Microbiol. 68(12):6106-6113.

## K

- Kämpfer, P., Kroppenstedt, R. M., &Dott, W. (1991). A numerical classification of the genera Streptomyces and Streptoverticillium using miniaturized physiological tests. Microbiology, 137(8), 1831-1891.
- Khebizi, N., Boudjella, H., Bijani, C., Bouras, N., Klenk, HP, Pont, F., ... &Sabaou, N. (2018). Oligomycines A et E, principaux métabolites secondaires bioactifs produits par

Streptomyces sp. souche HG29 isolée d'un sol saharien. Journal de mycologiemédicale , 28 (1), 150-160.

- Khucharoenphaisan K, and Sinma (2011): Production and partial characterization of uric acid degrading enzyme from new source Saccharopolyspora sp.PNR11. Pak J Biol Sci., 14(3): 226-23
- Kim B., Al-Tai A.M., Kim S.B., Somasundaram P., Goodfellow M. (2000). Streptomyces thermocoprophilus sp. nov., a cellulase-free endo-xylanase-producing streptomycete. Int. J. Sys. Evnviron. Microbiol. 50: 505-9.
- Kitouni, M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de doctorat en Microbiologie : Université Mentouri-Constantine.pp 24.
- Kokare, C. R., Mahadik, K. R., & Kadam, S. S. (2004). Isolation of bioactive marine actinomycetes from sediments isolated from Goa and Maharashtra coastlines (west coast of India).
- Korea. Can. J. Microbiol., 48 (5): 407-417.
- Kothagorla , V. R. R. , Tamanam , R. R. ( 2013 ) Molecular characterization and its antioxidant activity of a newly isolated Streptomyces coelicoflavus BC 01 from mangrove soil , Journal of Young Pharmacists 5 121e126.
- Kurtböke, D. İ. (2017). Ecology and habitat distribution of actinobacteria. Biology and biotechnology of actinobacteria, 123-149.

## L

- Labeda, D. P., Goodfellow, M., Brown, R., Ward, A. C., Lanoot, B., Vanncanneyt, M., ... & Hatano, K. (2012). Phylogenetic study of the species within the family Streptomycetaceae. Antonie Van Leeuwenhoek, 101, 73-104.
- Larpent, J. P., & Larpent-Gourgand, M. (1997). Mémento Technique de Microbiologie (3<sup>édn</sup>). Lavoisier: Londres, New York, Paris.
- Larpent, J. P., & Sanglier, J. J. (1989). Biotechnologie des antibiotiques. Masson.
- Lechevalier , M. P. ( 1980 ) . The chemotaxonomy of actinomycetes . Actinomycete taxonomy .
- Lee , J. Y. , & Hwang , B. K. ( 2002 ) . Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea . Canadian Journal of Microbiology , 48 ( 5 ) , 407-417 .

- Lozniewski, A., Rabaud, A., & Nancy, C. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. CCLIN Sud-Est.

**M**

- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2012). Brock biology of microorganisms, Global Edition. San Francisco, TX: Pearson Benjamin Cummings.
- Magistère en Microbiologie appliquée, Université ABOU BAKR BELKAID de Tlemcen.
- Mammeri, H., & Amiens, C. H. U. (2013). Mode d'action des antibiotiques. Service de bactériologie, CHU Amiens. P, 2.
- Mansour, S. R., El-Zawhary, Y., & Ismail, S. (2003). DNA-fingerprints and phylogenetic studies of some chitinolytic actinomycete isolates. *Biotechnology*, 2, 131-140.
- Manucharova, N. A., Vlasenko, A. N., Tourova, T. P., Panteleeva, A. N., Stepanov, A. L., & Zenova, G. M. (2008). Thermophilic chitinolytic microorganisms of brown semidesert soil. *Microbiology*, 77, 610-614.
- Masayuki, H., Kenya, I., & Hideo, N. (1988). Répartition des actinomycètes rares dans les sols japonais. *Journal of Fermentation Technology*, 66 (4), 367-373.
- Mazri R. (2015). Nouvelle approche des relations structures-activités dans des molécules
- Medjemadj, M., & Boudemagh, A. (2021). Etude de la biodiversité des actinobactéries dans quelques eaux thermales de la région Est de l'Algérie (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- Meena, B, Anburajan L, Sathish T, Vijaya R.R, Dharani G, Vinithkumar NV and Kirubakaran R (2015). L-Asparaginase from *Streptomyces griseus* NIOTVKMA29: optimization of process variables using factorial designs and molecular characterization of L-asparaginase gene. *Scientific reports* 5, 1240. 12 pages
- Mehrotra, M., Dougherty, J., & Poppe, C. (2003). La résistance aux antimicrobiens: De quo s'agit-il. *Recherche sur les politiques de santé (Canada)*, 6, 6-10.
- MESSAOUDI, O. (contribution à la caractérisation de souche d'actinomycétie productrices de métabolites antimicrobiens isolés de la sebka de knadssa (bechar) (Doctoral dissertation)
- Messaoudi. O (2013) ; Contribution à la caractérisation de souche d'actinomycètes de métabolites antibactériennes isolées de la Sebka Kenadesa (Bechar). Mémoire de

- Michel, Y., Alkhalaf-Haddad, B., & Bonnin, M. (1989). *Pseudomonas aeruginosa* et antibiotiques. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 87(2), 125-170.
- Mokhtar, N. A. (2011). *Investigations of triacylglyceride metabolism amongst actinomycete isolates from Peninsular Malaysia* (Doctoral dissertation, University of Cambridge).
- MOKHTAR-ANNABA, B. A. D. J. I. (2011). *راتخمي جابية عماد* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE BADJI MOKHTAR ANNABA).
- Mukhtar, S., Zaheer, A., Aiysha, D., Malik, K. A., & Mehnaz, S. (2017). *Actinomycetes: a source of industrially important enzymes*. *J Proteomics Bioinform*, 10(12), 316-319.
- Musiol-Kroll, E. M., Tocchetti, A., Sosio, M., & Stegmann, E. (2019). *Challenges and advances in genetic manipulation of filamentous actinomycetes—the remarkable producers of specialized metabolites*. *Natural Product Reports*, 36(9), 1351-1369.

**N**

- Naikpatil, SV, & Rathod, JL (2011). *Isolement sélectif et activité antimicrobienne d'actinomycètes rares à partir de sédiments de mangrove de Karwar*. *Journal d'écobiotechnologie*.
- Nasserdine Sabaou, Hadjira Boudjella, Achour Bennadji, Abdellah Mostefaoui, Abdelghani Zitouni, Lynda Lamari, Hayet Bennadji, Gérard Lefèbvre, Pierre Germain. *Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes, rares producteurs d'antibiotiques*. *Science et changements planétaires / Sécheresse*. 1998;9(2):147-153.
- Nishiya, Y., Hibi, T., & Oda, JI (2002). *Procédé de purification de l'enzyme diagnostique Bacillus uricase utilisant des billes magnétiques et une protéase non spécifique*. *Expression et purification des protéines*, 25(3), 426-429.
- Normak HB, Normak S. (2002). *Evolution and spread of antibiotic resistance*. *Journal of Internal Medicine* 252 : 91-106.

**O**

- Omura, S. (1992). *The expanded horizon for microbial metabolites*. *Gene*, 115(1-2), 141-149.

**P**

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

- Perry JJ., Staley JT and Lory S. (2004). Microbiologie..p497-498. Dunod, Paris.
- Pierre, F. (2000). Le grain de blé: Composition et utilisation. Edition Quae. INRA. Paris.
- Prakash , D. , Nawani , N. , Prakash , M. , Bodas , M. , Mandal , A. , Khetmalas , M. , &Kapadnis , B. ( 2013 ) . Actinomycetes : a repertory of green catalysts with a potential revenue resource . BioMed research international , 2013 .
- Prescott L.M., Willey J. M., Sherwood L. M. et Woolverton C. J. (2018). Microbiologie.

## R

- Rangaswami , H. , Bulbule , A. , &Kundu , G. C. ( 2004 ) . Nuclear factor - inducing kinase plays a crucial role in osteopontin induced MAPK / IKBa kinase - dependent nuclear factor KB - mediated promatrix metalloproteinase - 9 activation .Journal of BiologicalChemistry , 279 ( 37 ) , 38921 38935.
- Ravi Varma A, Sushma K, Naga Sai Babu V, Bodaiah B and Sudhakar P (2016) Partial purification, characterization and optimization of anti-leukemic enzyme Lasparaginase from mangrove soil actinobacteria. J. Pharm. Res. 10 (7), 502–511.
- Ray, A. (2012). Application de la lipase dans l'industrie. Journal asiatique de pharmacie et de technologie , 2 (2), 33-37.
- Revathy , T. , M.A. Jayasri and K. Suthindhiran ( 2013. ) antioxidant and enzyme inhibitory potential of marinstreptomycets . American Journal of Biochemistry and Biotechnology 9 ( 3 ) : 282-290.
- Rickes E.L, Brink N.G., Koniuszy F.R., Wood T.R., Folkers K. ( 1948). Crystalline vitamin B12. Sci.1948; 107(2781):396-397.
- Rodriguez-Valera, F., Ventosa, A., Juez, G., & Imhoff, JF (1985). Variation des caractéristiques environnementales et des populations microbiennes avec les concentrations de sel dans une saline multi-étangs. Écologie microbienne , 11 , 107-115.

## S

- SAADAOU, M. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat (Doctoral dissertation).
- SAADAOU, M. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat (Doctoral dissertation).
- Saci, A., &Kitouni, M. (2017). Production d'alpha-amylase par Streptomyces sp.



- Saha S., Dhanasekaran D., Shanmugapriya S., Latha S. *Nocardioopsis* sp. (2013). SD5: a potent feather degrading rare actinobacterium isolated from feather waste in Tamil Nadu, India. *J Basic Microbiol.* 53(7):608-616.
- Saker , R. , Bouras , N. , Meklat , A. , Zitouni , A. , Schumann , P. , Spröer , C. , ... &Klenk , H. P. ( 2015 ) . *Prauserella* *isguenensis* sp . nov . , a halophilic actinomycete isolated from desert soil . *International journal of systematic and evolutionary microbiology* , 65 ( Pt 5 ) , 1598-1603 .
- Saker Rafika. (2015). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1.P27.
- Saker, R., Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Spröer, C., ... &Sabaou, N. (2015). Diversity and antagonistic properties of culturable halophilic actinobacteria in soils of two arid regions of septentrional Sahara: M'zab and Zibans. *Annals of microbiology*, 65(4), 2241-2253.
- Sanscartier D., Zeeb B., Koch I., Reimer K. (2009). Bioremediation of diesel-contaminated soil by heated and humidified biopile system in cold climates. *Cold Reg SciTechnol.* 55(1):167-173.
- Shirling, ET, & Gottlieb, D. (1966). Méthodes de caractérisation des espèces de *Streptomyces*. *Journal international de bactériologie systématique* , 16 (3), 313-340.
- Shryock, T. R., & Page, S. W. (2007). Growth promotion uses of antimicrobialagents. *AntimicrobTherapyVetMed:*, 389-404.
- Srivibool, R., &Sukchotiratana, M. (2006). Bioperspective des isolats d'actinomycètes des sols côtiers : une nouvelle source de producteurs d'antimicrobiens. *Songklanakarinn J SciTechnol* , 28 , 493-499 DAHMANI, B., & Fatiha, W. (2017). Activité antimicrobienne des actinobacteries isolés de la rhizosphère de *Daucus sahariensis*Murb (Doctoral dissertation, Université de m'sila).
- Stackebrandt , E. , Rainey , F. A. , & Ward- Rainey , N. L. ( 1997 ) . Proposal for a new hierarchic classification system , *Actinobacteria classis nov* . *International journal of systematic bacteriology* , 47 ( 2 ) , 479-491 .
- Sudhir, A. P., Dave, B. R., Trivedi, K. A., & Subramanian, R. B. (2012). Production and amplification of an l-asparaginase gene from actinomycete isolate *Streptomyces ABR2*. *Annals of microbiology*, 62, 1609-1614.

- Sutthinan , K. , Akira , Y. , &Saisamorn , L. ( 2009 ) . Actinobacteria isolated from medicinal plant rhizosphere soils : diversity and screening of antifungal compounds , indole - 3 - acetic acid and siderophore production . World J Microbiol Biotechnol , 25 ( 4 ) , 649-655 .

T

- Takamatsu, S., Hodges, TW, Rajbhandari, I., Gerwick, WH, Hamann, MT et Nagle, DG (2003). Les produits naturels marins comme nouveaux prototypes d'antioxydants. Journal des produits naturels , 66 (5), 605-608.
- Torres, C., Moreno, M. Á., &Zarazaga, M. (2010). Prudent use of antimicrobial agents: Not just for humans. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 28(10), 669-671.
- Torres, C., Moreno, M. Á., &Zarazaga, M. (2010). Prudent use of antimicrobial agents: Not just for humans. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 28(10), 669-671.

U

- under different conditions of pH and salinity. J. Appl. Microbiol, 95: 814-823.
- Université Mentouri Costantine : 102p.

V

- Vijayakumar, R., Muthukumar, C., Thajuddin, N., Panneerselvam, A., &Saravanamuthu, R. (2007). Studies on the diversity of actinomycetes in the Palk Strait region of Bay of Bengal, India. Actinomycetologica, 21(2), 59-65.
- Vijayakumar, R., Muthukumar, C., Thajuddin, N., Panneerselvam, A., &Saravanamuthu, R. (2007). Études sur la diversité des actinomycètes dans la région du détroit de Palk dans le golfe du Bengale, en Inde. Actinomycetologica , 21 (2), 59-65.
- Vorderwülbecke, T., Kieslich, K. et Erdmann, H. (1992). Comparaison des lipases par différents dosages. Technologie enzymatique et microbienne , 14 (8), 631-639.

W

- Weisburg , W. G. , Barns , S. M. , Pelletier , D. A. , & Lane , D. J. ( 1991 ) . 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study . Journal of bacteriology , 173 ( 2 ) , 697-703 .
- William B. R. , Whitman . , T Krieg . , T James R Daniel . , P Brian Hedlund . , J. Paster . , 2010 ) . Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology Heidelberg , London.pp 25-49.

X

- Xu, M., & Wright, G. D. (2019). Heterologous expression-facilitated natural products' discovery in actinomycetes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 46(3-4), 415-431.

Y

- Yadav,R.,&Pathak, G. S. ( 2016 ) . Young consumers ' intention towards buying green products in a developing nation : Extending the theory of planned behavior . *Journal of Cleaner Production* , 135 , 732 739 .
- YAHIA, R. D. (2001). Résistance bactérienne aux antibiotiques.

Z

- Zainal Abidin, ZA, Abdul Malek, N., Zainuddin, Z., & Chowdhury, AJK (2016). Isolement sélectif et activité antagoniste des actinomycètes de la forêt de mangrove de Pahang, Malaisie. *Frontières des sciences de la vie* , 9 (1), 24-31.
- ZATOUT, M., & Messaoud, H. A. C. I. N. I. (2012). Etude géochimique et minéralogique du chott de Ain El Beida et de la sebkha d'Oum Erraneb Cuvette de Ouargla-Bas Sahara (Doctoral dissertation).
- ZATOUT, M., & Messaoud, H. A. C. I. N. I. (2012). Etude géochimique et minéralogique du chott de Ain El Beida et de la sebkha d'Oum Erraneb Cuvette de Ouargla-Bas Sahara (Doctoral dissertation).
- Zitouni, A. , Boudjella , H. , Lamari , L. , Badji B. , Mathieu , F. , Lebrihi , A. , &Sabaou , N. ( 2005 ) . Nocardiosis and Saccharothrix genera in Saharan soils in Algeria : isolation , biological activities and partial characterization of antibiotics . *Researchmicrobiology* , 156 ( 10 ) , 984-993 .

# **Annexes**

## **Annexe**

### **Milieux de culture**

#### **Milieux d'isolement des actinobactéries**

##### **M2 (milieu Williams et Kuster) (Williams et Kuster, 1964)**

Amidon.....	10g
caséine.....	0,3g
KNO <sub>3</sub> .....	2g
NaCl.....	2g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	2g
MgSO <sub>4</sub> ,7H <sub>2</sub> O.....	0,05
CaCO <sub>3</sub> .....	0,02
FeSO <sub>4</sub> ,7H <sub>2</sub> O.....	0,01
Agar.....	15g
glucose.....	1g
Eau distillés q.s.q.....	100
pH.....	7,2

##### **Bennett**

D-Glucose anhydre.....	10g
Casaminoacides.....	2g
Extrait de levure.....	1g
Extrait de viande.....	1g
Agar.....	15g
Eau distillés q.s.q.....	1000 ml
pH.....	7,2

##### **Glucose asparagine**

Glucose.....	10g
Asparagine.....	0,5g

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,5g
Agar.....	15g
Eau distillés q.s.q.....	1000 ml
pH.....	6

**ISP4**géluse inorganique-amidone

**Solution I**

Amidon.....	10 g
Eau distillés q.s.q.....	500 ml

**Solution II**

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1 g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O.....	1 g
NaCl.....	1 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	2 g
CaCO <sub>3</sub> .....	2 g
Eau distillés q.s.q.....	500 ml
pH.....	7,2

**Milieux utilisés pour l'activité antimicrobienne**

**Milieu Sabouraud**

Glucose.....	20 g
Peptone.....	10 g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000
PH.....	6.5

### **Milieu Muller Hinton**

infusion de viande de bœuf.....	300,0 m
peptone de caséine.....	17,5 g
amidon.....	1,5 g
agar.....	17,0 g
pH.....	7,4

### **Milieux utilisés pour les souches pathogènes**

#### **Gélose nutritive**

-Peptone.....	5 g
- Extrait de viande.....	1 g
- Extrait de levure.....	2 g
- NaCl.....	5 g
- Agar.....	18 g
- Eau distillée.....	1000 mL.
- pH.....	7,5

#### **Bouillon nutritive**

-Peptone.....	5 g
- Extrait de viande.....	1 g
- Extrait de levure.....	2 g
- NaCl.....	5 g
- Eau distillée.....	1000 mL.
- pH.....	7,5

### **Milieux utilisés pour l'activité enzymatique**

#### **Milieu M9**

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	6g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	3g
MgSO <sub>4</sub> .....	2g

KCl.....	0,1g
Glucose.....	3g
L- asparagine.....	10g
Rouge de phénol 0,009%.....	(0,09g)
Eau distillé.....	1000ml
Agar.....	20g
Ph.....	6,8

### **Uricase**

Acideurique.....	5g
Glycérol.....	30g
NaCl.....	5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1g
MgSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O.....	0,2g
CaCl <sub>2</sub> .....	0,1g
Eau distillé.....	1000ml
Agar.....	20g
Ph.....	7

N.B. l'ajustement du pH des milieux de cultures s'effectue à l'aide d'une solution de NaOH ou d'une solution d'HCL.

NaOH : 10g de NaOH dans 250 ml d'eau distillée.

HCL : 200 ml d'HCL dans 16.40 ml d'eau distillée.

Stériliser pendant 20 min à 120 °C.



## ملخص عزل البكتيريا الشعوية من تربة منطقة ورقلة

الفطريات الشعاعية هي بكتيريا فطرية إيجابية الجرام معروفة بقدرتها على إنتاج جزيئات نشطة بيولوجيا وجنس streptomycete هو افضل منتج للايضات الثانوية النشطة بيولوجيا.

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو عزل واختيار سلالات البكتيريا الشعاعية المنتجة للجزيئات النشطة بيولوجيا

تم عزل ما مجموعه 117 سلالة من البكتيريا الشعاعية من نظامين بيئيين مختلفين ، وهما 115 عزلة تم الحصول عليها من تربة بساتين النخيل بكلية الطبيعة وعلوم الحياة و 02 عزلة فقط من تربة شط عين البيضاء مع استعمال خمسة أوساط زراعية وهي ، Isp4, glucose asparagine, Bennet , M2 و M2+50% NaCl. ومن بين 117 عزلة 43 عزلة تم عزلها من الوسط الزراعي Isp4 و33 عزلة من الوسط glucose asparagine و23 عزلة من الوسط الزراعي Bennett و17 عزلة من الوسط M2 وعزلتان من الوسط الزراعي M2+% NaCl .

ولتوضيح نشاط مضادات البكتيريا لسلالات وباستخدام اختبار المضاد الحيوي باستعمال تقنية أسطوانة الاغار ضد الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض وهي *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *E. coli* واقصى نشاط لوحظ عند السلالة EX31 مع منطقة تثبيط بقطر 25mm ضد *Candida albicans* . وأكثر من نصف السلالات 16 من 28 مختبرة يوجد لديها نشاط مضاد ضد السلالة المختبرة *Staphylococcus aureus* واقصى نشاط لوحظ عند السلالة EX31 مع منطقة تثبيط بقطر 25mm ضد *Candida albicans* .

قدرة السلالات المعزولة على انتاج الانزيمات uricase و asparaginase تسمح لنا باستنتاج ان السلالات يمكن لها انتاج هذين الانزيمين.

**الكلمات المفتاحية:** الفطريات الشعاعية ، التربة ، ورقلة ، النشاط المضاد للميكروبات ، نشاط الإنزيم.

### Abstract Isolation of actinobacteria from the soil of the ouargla region

Actinomycetes are Gram-positive mycelial bacteria, known for their ability to produce bioactive molecules, the genus Streptomyces is the best producer of biologically active secondary metabolites.

The main objective of this study is the isolation and selection of actinobacteria strains producing bioactive molecules.

A total of 117 strains of actinobacteria was isolated from two different ecosystems, namely 115 isolates obtained from palm grove soil of the Faculty of Nature and Life Sciences and only 02 isolates from Chott Ain El. Beida did this using five different isolation media including Isp4, glucose asparagine, Bennet, M2 and M2+% NaCl. Among these 117 isolates, 43 isolates were isolated on Isp4 medium, 33 isolates on glucose asparagine (GA) medium, 23 isolates on Bennett medium, 17 isolates isolated on M2 medium and 02 isolates on M2+50% NaCl medium.

The antimicrobial activity of the strains was demonstrated by an antibiogram test, using the agar cylinder technique against pathogenic microorganisms, namely *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus sp.*, *Klebsiella pneumoniae* and *Candida albicans*. More than half of the strains (16 out of the 28 tested) exhibited inhibitory activity against the test strain *Staphylococcus aureus*. Whose maximum activity is observed in isolate EX31 with an area of 25 mm against *Candida albicans*

The ability of the isolated strains to produce enzymes namely uricase and l-asparaginase allowed us to deduce that our strains can produce these two enzymes.

**Key words:** actinomycetes, soil, Ouargla, antimicrobial activity, enzyme activity

### Résumé Isolement d'actinobactéries du sol de la région de Ouargla

Les actinomycètes sont des bactéries mycéliennes à Gram positif, connues pour leur aptitude à produire des molécules bioactives, le genre Streptomyces est le meilleur producteur des métabolites secondaires biologiquement actifs.

L'objectif principal de cette étude est l'isolement et sélection des souches d'actinobactéries productrices des molécules bioactives.

Un totale de 117 souches d'actinobactéries a été isolée à partir de deux écosystèmes différents, a savoir 115 isolats obtenus à partir sol de palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et seulement 02 isolats à partir de sol de Chott Ain El Beida et ce la en utilisant cinq différents milieux d'isolement dont Isp4, glucose asparagine, Bennet, M2 et M2+% NaCl. Parmi ces 117 isolats, 43 isolats ont été isolés sur le milieu Isp4, 33 isolats sur le milieu (GA) glucose asparagine, 23 isolats sur milieu Bennett, 17 isolats isolées sur milieu M2 et 02 isolats sur milieu M2+50% NaCl.

La mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches a été réalisée par un test antibiogramme, en utilisant la technique de cylindre d'agar contre des microorganismes pathogène à savoir *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus sp.*, *Klebsiella pneumoniae* et *Candida albicans*. Plus de la moitié des souches (16 sur les 28 testées) ont présenté une activité inhibitrice vis-à-vis la souche teste *Staphylococcus aureus*. Dont l'activité maximale est observée chez l'isolat **EX31** avec une zone de 25 mm contre *Candida albicans*

L'aptitude des souches isolés à produire des enzymes à savoir l'uricase et la l-asparaginase nous a permis de déduire que nos souches peuvent produire ces deux enzymes.

**Mots clés :** actinomycètes, sol, Ouargla, activité antimicrobienne, activité enzymatique.