

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
تلمسان—جامعة أبو بكر بلقايد
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

DJELTI Chahinez et MOUMÈNE Imene

En vue de l'obtention du : Diplôme de MASTER

En : Microbiologie Fondamentale

Thème

**Criblage des bactéries actinomycètes productrices
de substances antimicrobiennes**
(Étude bibliographique)

Soutenu le 28/06/2021, devant le jury composé de :

Président	BARKA M.S.	Dr Maître de conférence A	Université Tlemcen
Encadrant	BENDAHOU M.	Professeur	Université Tlemcen
Examineur	KHADIR A.	Dr Maître de conférence A	Université Oran 1

Année universitaire 2020/2021

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu, le Généreux et le tout Miséricordieux, j'ai pu achever cet humble travail que
je dédie :

A mes très chers parents

qui ont cru en moi et m'ont soutenu dans la réalisation de mes objectifs, que ce soit moralement
ou financièrement. Qu'Allah vous protège et vous prête bonne santé et longue vie.

A mes belles soeurs Imane et Sihem et à mon cher frère Farouk

pour tous vos conseils, votre amour et votre soutien moral.

Mes nièces

Nesrine et El hadj Ilies

A ma chère grand-mère Kheira

J'adresse mes sincères remerciements **à mes amies** (Aicha, Mounia, Souhila, Ikram, Douaa,
Souheyla, Zoulikha et Djazia) pour leurs encouragements et pour tous les moments amusants que
nous avons passés ensemble.

Chahinez

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents

pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de
mes études.

Ma chère sœur Hadjer et mes petits frères Yassine et Abderrahmane.

Ma chère grand-mère source d'amour et d'affection

Mes oncles et mes tantes

Mes précieuses amies : Soumia, Soulef, Amina et Fatima.

Mon fiancé et sa famille.

Imane

Remerciements

On tient tout d'abord à remercier vivement le bon dieu, de nous avoir donné la force pour réaliser ce modeste travail.

On présente nos remerciements à notre encadreur **Mr. Bendahou Mourad** Professeur au département de Biologie à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, pour avoir accepté de diriger ce travail. Ses compétences et ses conseils précieux ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nos sincères remerciements à **Mr. Barka Mohammed Salih**, Dr Maître de conférence « A » à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, d'avoir accepté de présider ce jury.

Nous voudrions remercier aussi **Mr. Khadir Abdelmounaïm**, Dr Maître de conférence « A » à l'université Ahmed Ben Bella Oran 1, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation le long de ces années.

ملخص

الأكتينومييسيتات هي بكتيريا خيطية موجبة الجرام منتشرة على نطاق واسع في الطبيعة، وهي المصدر الأساسي للغالبية العظمى من المستقلبات الثانوية، وخاصة إنتاج المضادات الحيوية. يهدف تطبيق تقنيات الفحص المختلفة في المقالات الست المعالجة إلى دراسة القوة المضادة للميكروبات لبعض الأكتينومييسيتات والبحث عن مركبات نشطة محددة داخل نواتجها الأيضية. تؤكد نتائج المقالات الست التي تمت دراستها أن الأكتينومييسيتات لها نشاط مضاد للجراثيم واسع الطيف ضد البكتيريا المختلفة. ومع ذلك، فإن البكتيريا موجبة الجرام أكثر حساسية من البكتيريا سالبة الجرام. يظل البحث عن مواد حيوية جديدة هدفاً أولوية لمواجهة التطور السريع للمقاومة الميكروبية.

الكلمات المفتاحية : الأكتينومييسيتات - المضادات الحيوية - الفرز - نشاط مضادات الميكروبات.

Résumé

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à Gram positif largement distribué dans la nature, ils sont la principale source de la grande majorité des métabolites secondaires en particulier la production des antibiotiques. La mise en place de différentes techniques du criblage par les six articles traités était dans le but d'étudier le pouvoir antimicrobiens de certains actinomycètes et la recherche de certains composés actifs au sein de leurs métabolites. Les résultats de six articles étudiés confirment que les actinomycètes ont une activité antibactérienne à large spectre contre les différentes bactéries. Cependant, les bactéries à Gram positif sont plus sensibles que les bactéries à Gram négatif. La recherche de nouvelles substances antimicrobiennes reste un objectif prioritaire pour faire face au développement rapide de la résistance microbienne.

Mots clés : Actinomycètes - Antibiotique - Criblage - Activité antimicrobienne.

Abstract

Actinomycetes are Gram-positive filamentous bacteria widely distributed in nature; they are the main source of the great majority of secondary metabolites in particular the production of antibiotics. The implementation of different screening techniques by the six articles treated was in order to study the antimicrobial power of some actinomycetes and the search for some active compounds within their metabolites. The results of the six articles studied confirm that actinomycetes have a broad spectrum antibacterial activity against different bacteria. However, the Gram-positive bacteria are more sensitive than Gram-negative bacteria. The search for new antimicrobial substances remains a priority objective to face the rapid development of microbial resistance.

Key words: Actinomycetes - Antibiotic - Screening - Antimicrobial activity.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	1
Partie 1: Revue bibliographique.....	4
Chapitre I : Les Actinomycètes.....	5
1. Définition et historique.....	5
1.1. Définition des Actinomycètes.....	5
1.2. Historique.....	5
2. Généralités et caractères principaux.....	5
3. Morphologie.....	6
4. Taxonomie et critère d'identification.....	8
4.1. Taxonomie.....	8
4.2. Critère d'identification.....	9
5. Le cycle de développement des actinomycètes (ex : type : <i>Streptomyces spp</i>).....	13
6. Formation des spores.....	14
6.1. Les exospores	15
6.2. Les endospores	15
7. Matériel génétique.....	16
8. Métabolisme.....	16
9. Distribution dans la nature.....	17
10. Importance des actinomycètes.....	18
Chapitre II : Les substances bioactives.....	20
1.. Introduction.....	20
2.. Les substances bioactives.....	20
2.1. Les antibiotiques.....	20
2.2. Les enzymes.....	23
2.3. Les antifongiques.....	23
2.4. Les antitumoraux.....	24
2.5. Les antiviraux.....	24

2.6. Les immunosupresseurs.....	24
Chapitre III : Méthodologie d'étude des actinomycètes.....	25
1. Mise en culture et isolement.....	25
2. Purification.....	25
3. Criblage.....	25
3.1. Technique de cylindre d'agar.....	25
3.2. Technique des stries.....	25
3.3. Technique de diffusion par puits.....	26
4. Extraction.....	26
5. Techniques d'identification des substances.....	26
Partie 2 : Synthèse des articles.....	28
Chapitre I : Protocole expérimental.....	29
1. Prélèvement des échantillons.....	30
2. Mesure des paramètres physico-chimiques des échantillons.....	30
3. La mise en culture.....	31
4. Isolement.....	31
5. Purification et conservation des isolats.....	31
6. Identification et caractérisation.....	32
7. Mesure de l'activité antibactérienne.....	32
Chapitre II : Résultats et discussion.....	35
1. Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de sol.....	36
2. Le prétraitement et la mise en culture.....	36
3. Isolement des actinomycètes.....	37
4. Identification et caractérisation des isolats.....	38
5. Mesure de l'activité antibactérienne.....	41
6. Extraction des molécules bioactives.....	46
7. Identification des composés bioactifs.....	47
Conclusion générale.....	48
Références bibliographiques.....	49
Annexes.....	62

Liste des abréviations

ADNr	Acide désoxyribonucléique ribosomique
<i>A. flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>B.cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>B.subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>C.albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CSA	Gélose à la caséine
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
ISP2	Milieu gélosé extrait de levure-extrait de malt
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MDR	Multirésistance aux médicaments
MHA	Gélose Mueller-Hinton
<i>M. luteus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
pH	Potentiel hydrogène
<i>P. fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S.cerevisiae</i>	<i>Sacharomyces cerevisiae</i>
<i>S.enteric</i>	<i>Staphylococcus enteric</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

Liste des figures

Figure 1 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant le mycélium substrat et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores.....	7
Figure 2 : Modèle morphologique de base des sporangia.....	7
Figure 3 : Un arbre phylogénétique basé sur le génome pour 97 séquences de génome du phylum Actinobacteria.....	9
Figure 4 : Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non Mobiles.....	10
Figure 5 : Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinomycètes non mobiles dotées d'oligospores.....	11
Figure 6 : Photographie au microscope électronique d'un isolat d'actinimycète non mobile à sporanges.....	11
Figure 7 : Photographie au microscope électronique d'isolat d'actinobactérie mobile sporange.....	11
Figure 8 : Cycle de développement de streptomycètes.....	13
Figure 9 : Caractéristiques morphologiques des spores.....	14
Figure 10 : Types des chaînes des exospores chez différentes genres d'actinomycètes.....	15
Figure 11 : Types des chaînes des endospores chez les Actinomycètes.....	16
Figure 12 : Applications biotechnologiques des actinomycètes.....	19
Figure 13 : Structures des mutactimycines PR (1) et C (2).....	22
Figure 14 : Structure de chloramphénicol.....	22
Figure 15 : Structure de kénalactames.....	22
Figure 16 : La structure de l'iminimycine A.....	23
Figure 17 : Types de pigments produits par les isolats d'Actinomycètes sur la gélose amidon-caséine agar.....	38
Figure 18 : Les genres des isolats basés sur l'observation microscopique.....	39
Figure 19 : Exemple des zones d'inhibition des actinomycètes contre <i>Proteus mirabilis</i> dans le milieu Bennett.....	41
Figure 20 : Zones d'inhibitions des isolats actifs dans le dépistage secondaire.....	42
Figure 21 : Activités antimicrobiennes contre les bactéries à pathologie humaines.....	42
Figure 22 : Activités antimicrobiennes des souches C, MS1, 10.....	43
Figure 23 : Activités des Actinomycètes contre les micro-organismes MDR.....	43
Figure 24 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes à 30°C pendant 7 jours.....	44
Figure 25 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes à 30°C pendant 7 jours.....	44

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des actinomycètes.....	8
Tableau 2a : Habitats de certaines des actinomycètes.....	18
Tableau 2b : Les six articles étudiés.....	29
Tableau 3 : Origine de la station d'échantillonnage.....	30
Tableau 4 : Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de sol.....	36
Tableau 5 : Nombre d'actinomycètes obtenus de chaque isolement.....	37
Tableau 6 : L'identification des souches C, MS1, 10.....	40
Tableau 7 : Structure et caractéristiques des composés Kénalactames bioactifs.....	47

INTRODUCTION

Introduction

Près d'un quart des décès dans le monde résulte de maladies infectieuses et un nombre grandissant d'infections est provoqué par des bactéries de plus en plus résistantes aux antibiotiques (**Mukhopadhyay et al., 2008**).

Devant ces problèmes, la recherche de nouvelles molécules bioactives est plus que nécessaire pour lutter contre ces maladies. La nature a toujours été une source intéressante de produits bioactifs, en particulier ceux issus des micro-organismes les actinomycètes qui sont des bactéries filamenteuses à Gram positif avec un pourcentage de chargaff élevé et, dont la majorité tend à former un mycélium ramifié (**Al-Dhabi et al., 2018**).

Ces bactéries ont montré une capacité sans précédent à produire une vaste gamme des métabolites secondaires avec des structures chimiques intéressantes, innovantes et cliniquement utiles, tels qu'un anticancéreux, un antioxydant et un antibactérien. Ces bactéries filamenteuses produisent environ 8700 antibiotiques, dont la majorité provient des membres du genre streptomyces (**berdy et al., 2005**).

Les streptomyces ont été reconnus comme des producteurs prolifiques de composés naturels utiles, car ils fournissent plus de la moitié des antibiotiques naturels isolés à ce jour et continuent d'émerger comme la source principale de nouveaux composés bioactifs. Ces potentiels ont certainement attiré un grand intérêt de la part de la recherche et une large gamme d'activités biologiques a été ensuite criblée par des recherches avec l'utilisation de différents modèles d'expériences in vivo et vitro (**Lee et al., 2018**).

Avec l'avènement de la biologie moléculaire, les actinobactéries sont devenues importantes pour les biotechnologistes dans la recherche de nouveaux antibiotiques, vitamines, inhibiteurs d'enzymes, etc. Elles jouent également un rôle important dans la biodégradation des déchets, et leur large distribution (naturelle) dans le sol, les composts, l'eau et ailleurs dans l'environnement les rend importantes pour les industries de l'agriculture et des déchets (**Sharma et al., 2014**).

D'après les sites Web of Science, PubMed, PubMed Central ou Medline, on a enregistré entre 2017-2020 plus de 14000 publications sur les actinomycètes (isolement sélectif et activité antimicrobienne) en faisant la découverte de 589 nouveaux composés de classe chimique différente (**Jose et al., 2021**).

Dans l'axe d'étude et de recherche des substances naturelles antimicrobiennes, nous nous sommes fixés comme objectif une synthèse bibliographique de six articles scientifiques publiés ces cinq dernières années sur les actinomycètes producteurs de métabolites antimicrobiens.

Le mémoire est structuré en deux parties : **(i)** La première partie traite une revue bibliographique sur les actinomycètes (caractères cultureux, molécules bioactives et méthodes d'études des actinomycètes). **(ii)** La deuxième partie aborde la réalisation d'une synthèse des six articles retenus portant sur notre thème criblage des actinomycètes producteurs d'agents antimicrobiens.

Partie 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les actinomycètes

1. Définition et historique :

1.1. Définition des actinomycètes :

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à croissance centrifuge donnant naissance sur la boîte de Pétrie à des colonies constituées d'hyphes (**Rastogi et Kishore, 1997**). Cependant ces filaments sont en fait composés de cellules procaryotes, et leur diamètre est beaucoup plus petit que celui des cellules eucaryotes des moisissures (**Tortora et al., 2012**).

Les actinomycètes sont un groupe unique de micro-organismes procaryotes (**Simon et Meunier, 1970**). Ils sont considérés comme des bactéries Gram positif aérobies et non-mobiles dont l'ADN a une forte teneur de coefficient de Chargaff compris entre 70-80% (**Priyanka et al., 2019**).

La majorité des actinomycètes sont des bactéries libres, saprophytes, largement distribuées dans le sol, l'eau et les plantes. La population des actinomycètes d'origine tellurique est la plus identifiée (**Pandey et al., 2004**).

1.2. Historique :

D'après **Leminore et Véron, (1989)** l'histoire des Actinomycètes est divisée par **Waksman** en quatre grandes périodes :

- **La première (1874 - 1900)** : la découverte de leur rôle dans la pathologie.
- **La seconde période (1900-1919)** : implique l'identification et la recherche des actinomycètes dans le sol, par **Krainsky, Cohn, Waksman et Curtis**.
- **La troisième période (1919-1940)** : une meilleure connaissance des germes a été acquise grâce aux recherches de **Waksman**, de **Lieske**, de **Krassilnikov** entre autre.
- **La dernière période historique** concerne les antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle commence en **1940** et le nom de **Selman Waksman** lui est inextricablement lié.

2. Généralités et caractères principaux :

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses qui appartiennent au phylum Actinobacteria, et sont considérés comme le plus grand groupe important du domaine bactérien (**Nathan et Kannan, 2020**).

Le nom actinomycète est d'origine grecque où *aktis* signifie "éclair" et *mykes*, "champignon", ou "croissance radiale comme un champignon" qui étaient initialement classés comme un groupe intermédiaire entre les champignons et les bactéries. Des recherches au microscope électronique et des études cytologiques ont montré que les bactéries filamenteuses sont des procaryotes (**Araujo-Melo et al., 2019**).

Elles peuvent produire des filaments ramifiés et septés d'un diamètre de 0,5-1,0 μm (**Allan et Prosser, 1983**), formant un mycélium végétatif dans la gélose et un mycélium aérien à la surface de la gélose. Ce dernier, forme des conidies ou conidiospores (**Locci, 2005**).

Ces bactéries sont des hétérotrophes, mais de nombreuses espèces sont chimio-autotrophes (**Ensign et al., 1993**). En ce qui concerne le pH, la plupart sont des bactéries neutrophiles et leur pH se situe entre 5 et 9 (**Alexandar, 1977**). L'intervalle de la température de leur croissance est compris entre 20° et 45°C. la majorité ont un optimum autour de 28°C (**Rangaswami et al., 2004 ; Cui et al., 2005**).

Par rapport à d'autres bactéries, elles se développent lentement avec un temps de génération moyen de 2 à 3 heures (**Beckers et Van der Hoeven, 1982**). Elles croissent en l'espace de quelques jours à quelques semaines (**Larpent et Sanglier, 1989**).

Les actinomycètes sont omniprésents dans l'environnement et sont également capables de vivre seul et constitue une symbiose, non seulement avec d'autres micro-organismes mais aussi avec des organismes supérieurs (**Prudence et al., 2020**).

3. Morphologie :

Les membres des actinomycètes couvrent plus de 200 genres et présentent des changements significatifs dans la morphologie cellulaire, allant des cocci chez les microcoques, des bâtonnets dans les mycobactéries, et des spores avec des hyphes ramifiés dans les micro-monospores. Ces hyphes sont décomposés en cellules de coccidies et en forme de bâtonnet cellules de *Nocardia* (**Wink et al., 2017**). A la première vue, la morphologie de ces genres rassemble à celle des moisissures, mais les filaments des actinomycètes sont en réalité constitués de cellules procaryotes dont le diamètre est beaucoup plus petit que celui des cellules eucaryotes des moisissures (**Tortora et al., 2012**).

Le diamètre des cellules des actinomycètes varie de 0,5 à 2,0 μm , généralement moins de 1.0 μm (**Araujo-Melo et al., 2019**). Leur paroi cellulaire ne renferme ni chitine ni cellulose mais une glycoprotéine contenant de la lysine ou de l'acide diaminopimélique et leur cytologie est celle des bactéries (**Mariat et Sebald, 1990**).

Les actinomycètes classiques développent un mycélium radial. Selon la différence de morphologie et de fonction, le mycélium peut être divisé en mycélium de substrat et mycélium aérien. (Li et al., 2016) (Figure 1).

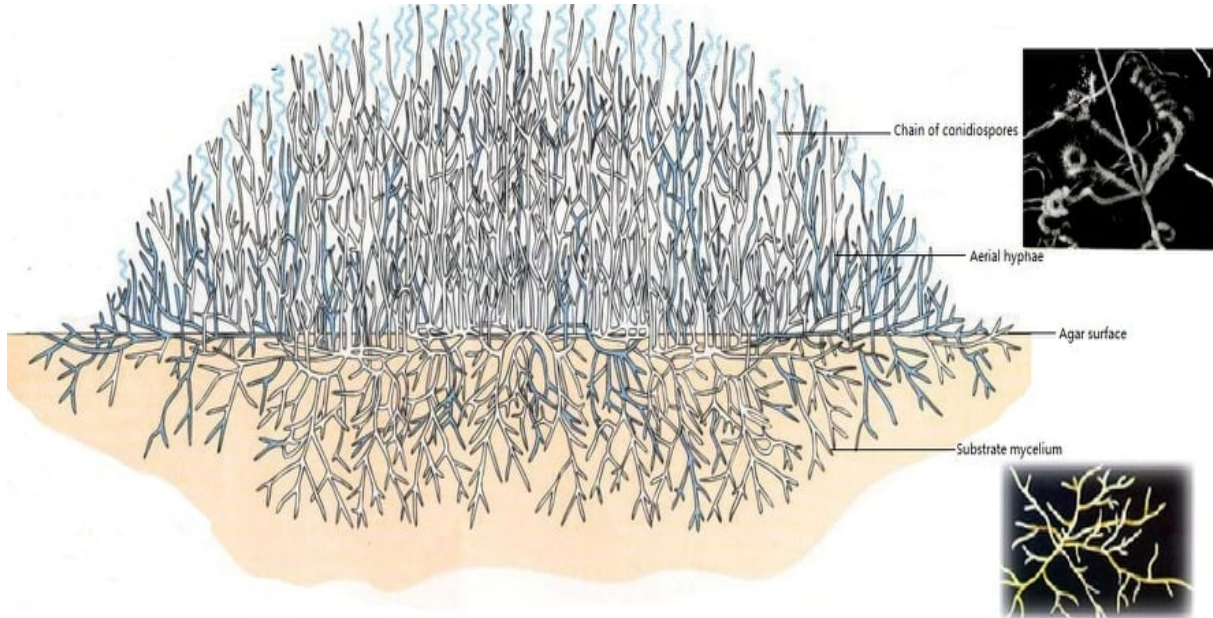


Figure 1 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant le mycélium substrat et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores (Li et al., 2016).

Certains actinomycètes peuvent former des structures compliquées, comme la spore, la chaîne de spores, sporanges (figure 2), et sporangiospore (Li et al., 2016).

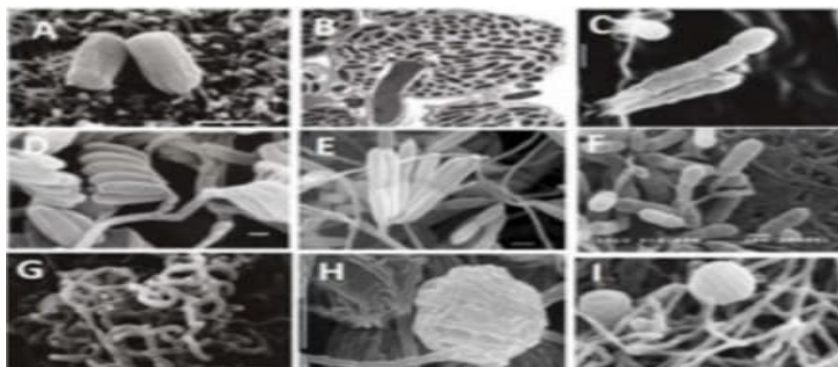


Figure 2 : Modèle morphologique de base des Sporangia (Li et al., 2016).

4. Taxonomie et critère d'identification :

4.1. Taxonomie :

Le Manuel de bactériologie systématique de Bergey - 2ème édition pour la classification des actinomycètes comporte cinq volumes, qui contiennent des noms et des descriptions d'espèces bactériennes internationalement reconnus. La classification des actinomycètes a été réorganisée dans le Volume 5 (Tiwari et al., 2018) (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification des actinomycètes (Tiwari et al., 2018).

Les Archées et les Bactéries profondément ramifiées et phototrophes	Volume 1
Les Protéobactéries	Volume 2
Les Firmicutes	Volume 3
Les Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria.	Volume 4
Les Actinomycètes	Volume 5

La position taxonomique du phylum Actinobacteria est bien proposée par les analyses d'ARNr 16S. Il y a six classes dans l'embranchement des Actinobactéries, à savoir Rubrobacteria, Thermoleophilia, Coriobacteriia, Acidimicrobiia, Nitriliruptoria, Actinobacteria. 5 sous- classes, 6 ordres et 14 sous-ordres (Wink et al., 2017).

L'ordre des actinomycétales a été subdivisé en plusieurs ordres (Actinomycétales, Streptomycétales, Streptosporangiales, Micromonosporales, Micrococcales, etc). L'ordre des actinomycétales actuellement est un petit ordre regroupant peu de genres, dont actinomyces. Ce dernier représente le genre anaérobie strict et pathogène pour l'homme. Depuis 2012, les actinobacteria ont été divisés en 15 ordres, 43 familles et 203 genres (Goodfellow et al., 2012 in Bergey's Manual, 2012).

Le développement des données de séquence du génome fournit une compréhension détaillée de l'évolution du génome et facilite la classification précise des micro-organismes au niveau du genre et de la famille. La figure 3 montre l'arbre phylogénétique des genres actinobactériens séquencés (Wink et al., 2017).

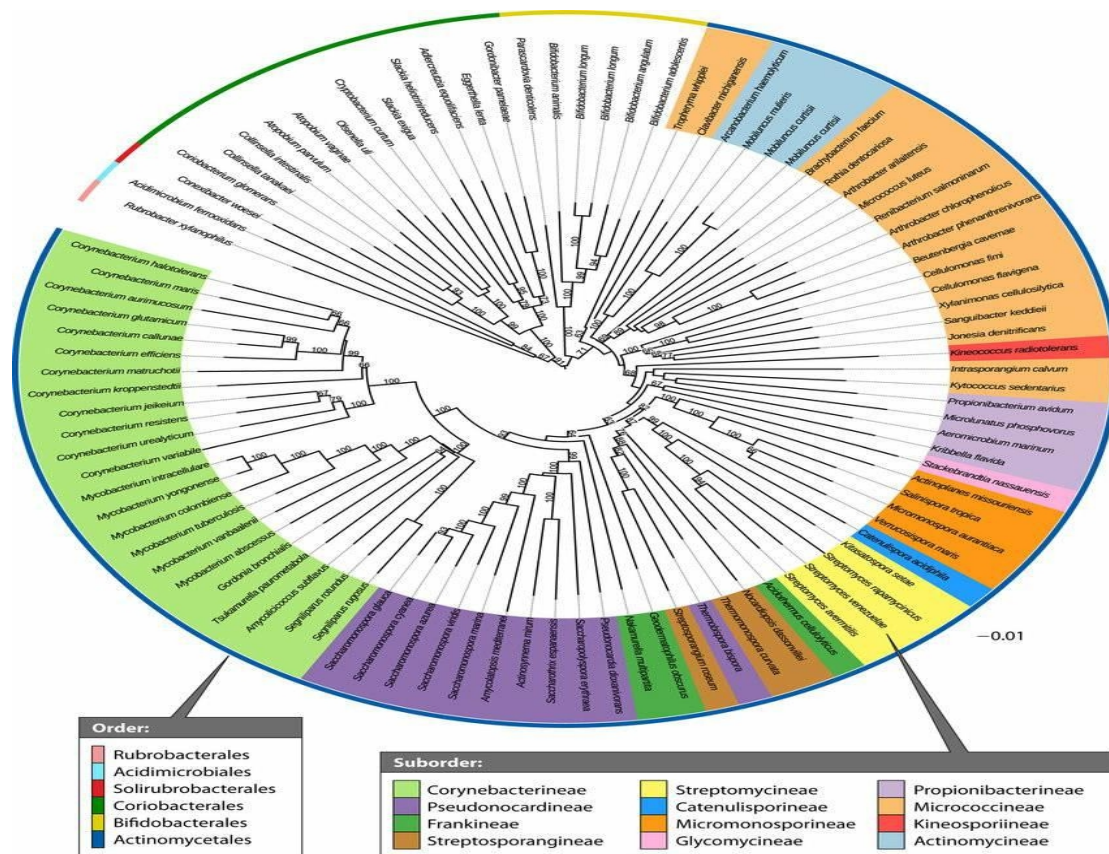


Figure 3 : Un arbre phylogénétique basé sur le génome pour 97 séquences de génome du phylum Actinobacteria (Wink et al., 2017).

4.2. Critère d'identification :

La classification des actinomycètes repose sur plusieurs critères : morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires. La détermination du genre est facilitée par des paramètres morphologiques, tandis que les espèces sont séparées par des paramètres moléculaires (par exemple, l'hybridation de l'ADN) et des paramètres physiologiques (Smaoui, 2010).

4.2.1. Les caractères macromorphologiques :

Les caractères macromorphologiques sont basés sur l'observation à l'œil nu. Il s'agit de noter :

- La production ou non du mycélium aérien (MA).
- La présence ou non du mycélium du substrat (MS).
- La couleur du MA, du MS et des pigments diffusibles dans le milieu de culture.

Les couleurs sont souvent déterminées grâce à l'utilisation de chartes de couleurs (Saker, 2015).

4.2.1.1. Le mycélium de substrat :

Le mycélium de substrat, appelé mycélium végétatif ou primaire se développe à partir d'un tube de germination induit par les spores (**Theilleux, 1993**).

La principale fonction du substrat est l'absorption de nutriments pour la croissance des actinomycètes. Au microscope, les mycéliums de substrat sont minces, transparents, de phase sombre, et plus ramifiés que les hyphes aériens (**Jiang et al., 2019**).

4.2.1.2. Le mycélium aérien :

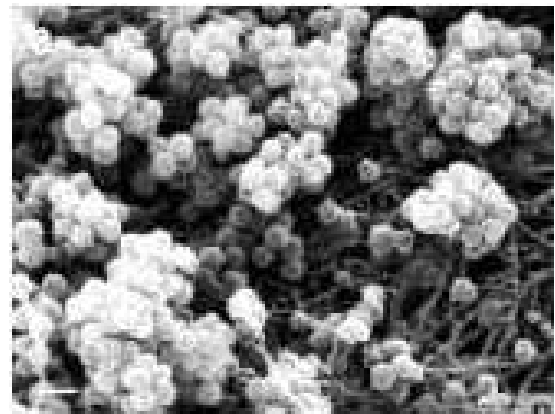
Le mycélium aérien, appelé aussi mycélium secondaire, est formé d'hyphes dressés sur le mycélium du substrat (**Prescott et al., 2003**). Ces hyphes aériens sont grossiers, réfringents et de phase claire (**Jiang et al., 2019**).

4.2.2. Les caractères micromorphologiques :

Les observations concernent les champignons aérobies et substrats. Il s'agit d'observer la présence ou l'absence de sporophores sur le mycélium, la présence ou l'absence de sporanges, sclérotés ou synnémates comme l'Actinosynnema, et la présence de spores mobile tels que Planomonospora, Actinoplanes, ou non mobiles tels que Streptomyces et Streptosporangium. Aussi, observer leur forme et disposition sur le trait d'union et leurs numéros de synnemata tel que Actinosynnema (**Bouaziz, 2018**) (**Figures 4, 5, 6 et 7**).

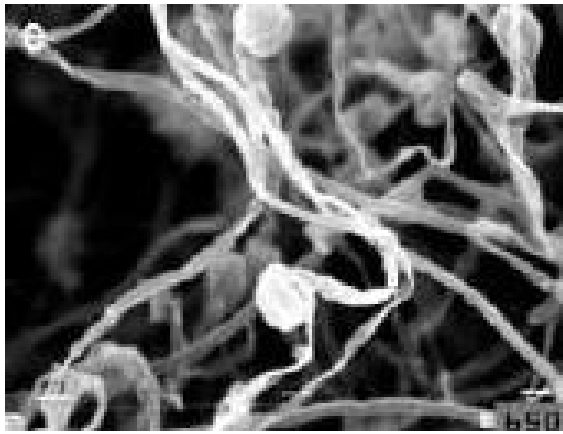


Streptomyces violaceusniger



Micromonospora spp

Figure 4 : Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles monosporulés (**Hayakawa et al., 2004 et Hayakawa, 2008**).



Nonomuraea spp



Actinomadura spp

Figure 5 : Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinomycètes non mobiles dotées d'oligospores (Hayakawa, 2008).

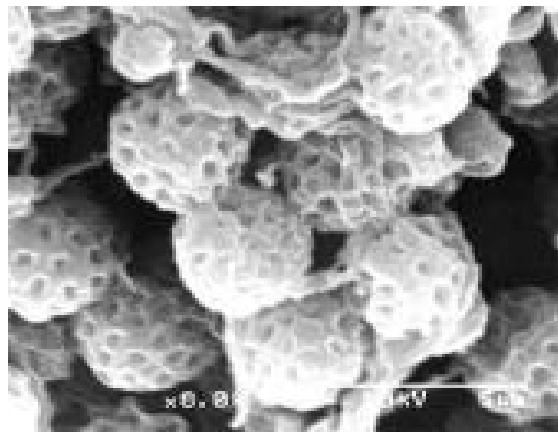


Figure 6 : Photographie au microscope électronique d'un isolat d'actinobactérie non mobile à sporanges (Ara et Kudo, 2007).



Figure 7 : Photographie au microscope électronique d'isolat d'actinobactérie mobile à sporange (Hayakawa, 2008).

4.2.3. Caractères chimiotauxonomiques :

La chimiotauxonomie des actinomyètes est liée à la distribution de substances chimiques spécifiques de l'enveloppe cellulaire tels que les acides aminés, les acides gras, les sucres, les lipides polaires et les quinones (**Wang et al., 2016**).

4.2.3.1. Composition pariétale en acides aminés, sucres et lipides caractéristiques :

La paroi cellulaire des actinomyètes est composée de peptidoglycane. Ce dernier peut contenir du DAP (acide diaminopimélique) ou de la lysine, de la glycine, de l'ornithine ou du DAB (acide 2,4 diaminobutyrique), qui est connu comme la clé de l'analyse chimiotauxonomique (**Nozawa et al., 2007**). En revanche, selon **Lechevalier, (1970)**, les sucres existent par couple : arabinose-galactose, arabinose-xylose, rhamnose-galactose et maltose. Par conséquent, sur la base de la composition des acides aminés et des sucres, cinq types chimiques ont été trouvés dans les actinomyètes. L'analyse des lipides est largement utilisée dans la systématique bactérienne et l'identification des actinomyètes. (**Cross et Goodfellow, 1973**).

4.2.4. Caractères physiologiques et taxonomie numérique :

Afin de déterminer l'espèce, il est important d'utiliser des tests physiologiques de différents types de dégradation de glucides, lipides, composés protéiques, polymères complexes, stéroïdes, etc., des tests de résistance à différents paramètres physiques (température et pH) et chimiques (chlorure de sodium, phénol, lysozyme, antibiotiques...) (**Bouaziz, 2018**). Cette technique a rendu l'identification des espèces plus claire et a obtenu les résultats les plus spectaculaires sur le genre *streptomyces* (**Williams et al., 1989**).

4.2.5. Les caractères moléculaires :

Enfin, l'analyse moléculaire est un outil de choix pour l'identification des actinomyètes. Le % GC indique la famille et le séquençage de l'ADNr 16S distingue clairement les genres (**Pridham et Gottlieb, 1948**). La séquence d'ADNr 16S est utilisée pour suivre toute la phylogénie des actinomyètes (**Stackebrandt, 1997 ; Ventura, 2007 ; Zhi, 2009**). Ces analyses moléculaires sont basées sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), utilisant des amorces universelles bactériennes ou des amorces spécifiques aux actinomyètes (**Farris et Olson, 2007 ; Schäfer et al., 2010**).

5. Le cycle de développement des actinomycètes (ex : type : *Streptomyces* spp.) :

Les actinomycètes présentent un cycle de développement cellulaire asexué similaire à celui des champignons imparfaits (Locci et Sharples, 1984).

Le cycle de développement de *Streptomyces* débute par la germination des spores pour produire du mycélium primaire fixé dans un milieu solide, qui est formé d'hyphes non septiques et plurinucléés (étape 0-1). Ensuite, sur ce mycélium primaire se développera un mycélium aérien (étape 2-3). Le mycélium aérien se spirale (étape 4-5). Les hyphes végétatifs développés forment des sporophytes, qui s'étendent verticalement jusqu'à la surface au-dessus de la colonie. Les extrémités des hyphes aériens se cloisonnent et se différencient (étape 6). Pour former des chaînes de uninucléées (étape 7), et un autre cycle commencera (Figure 8) (Flärdh et Bruttner, 2009).

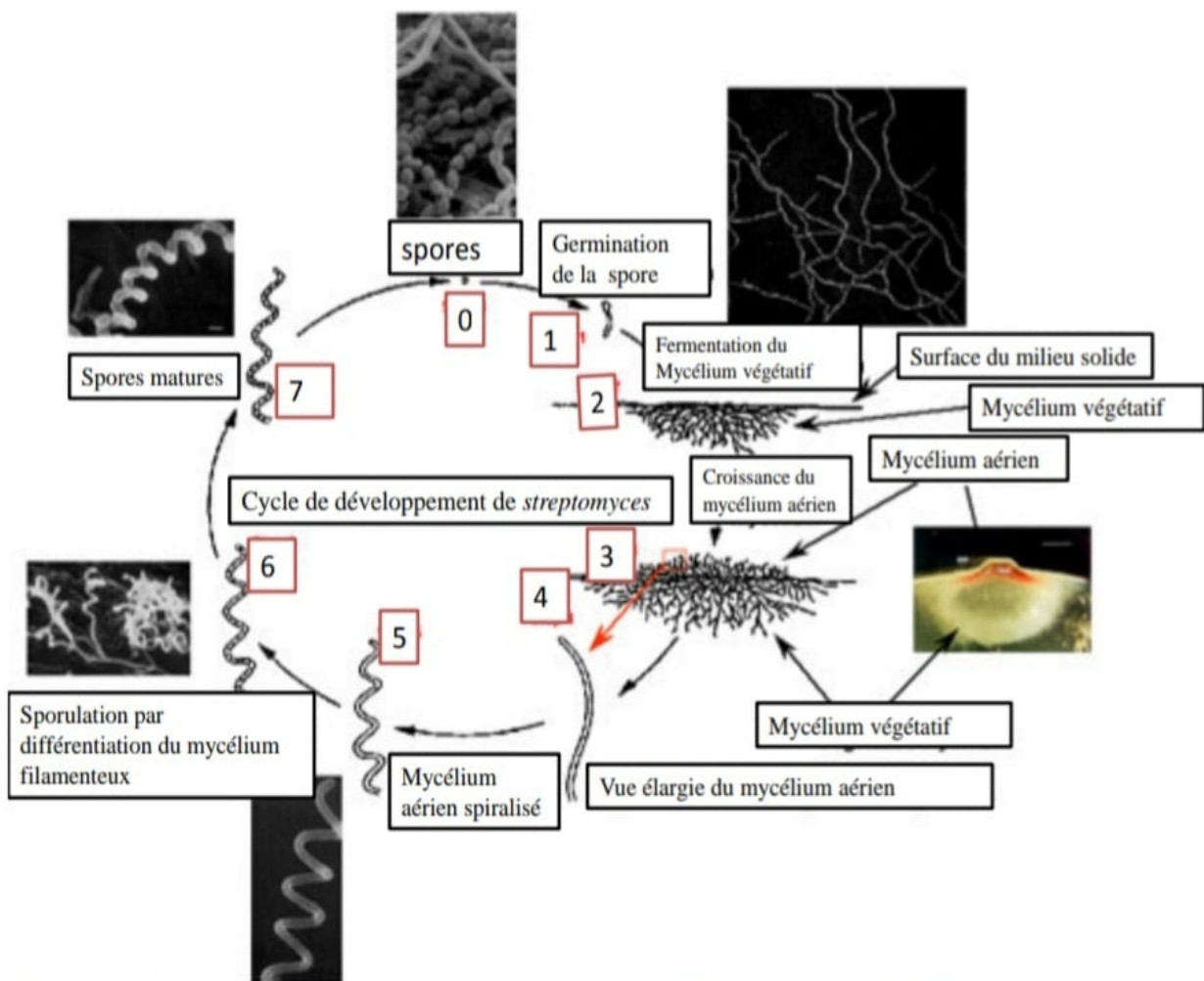


Figure 8 : Cycle de développement de streptomycètes (Miguélez et al., 2000).

6. Formation des spores :

Les caractéristiques des spores ont joué un rôle très important dans la dispersion des espèces depuis des milliers d'années. Les spores produites individuellement ou en courtes chaînes sont en général plus épaisses que les hyphes, alors que celles qui se développent en longues chaînes ont généralement le même diamètre que les hyphes. Les spores ont une épaisseur d'environ 1 à 2 μm et varient en terme de forme (**Figure 9**) et caractéristiques de surface (**Li et al., 2016**).

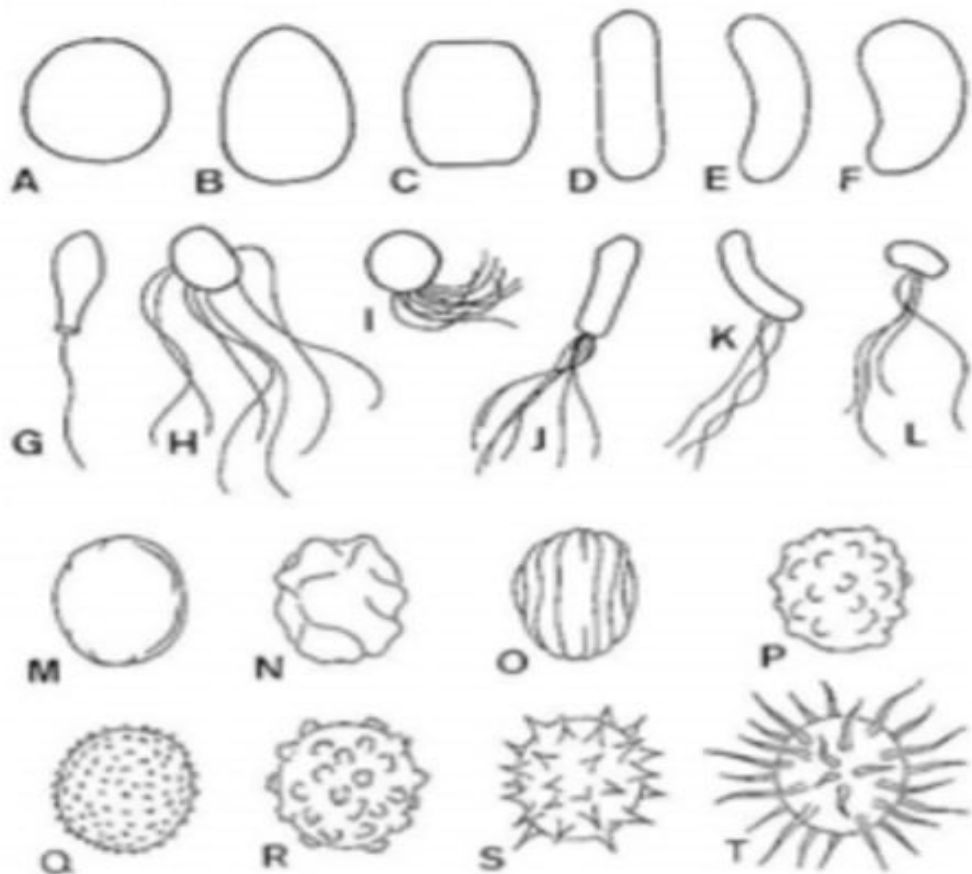


Figure 9 : Caractéristiques morphologiques des spores. Forme générale des spores : (A) globulaire, (B) ovoïde, (C) doliforme, (D) en forme de bâtonnet, (E) allantoïde, (F) réniforme.

Type de flagellation : (G) monotriches monopolaires, (H) péritriches, (I) polytrichous, (J) monoploarpolytriche (=lophotriche), (K) polytriche subpolaire, (L) polytriche latérale. Surface ornementation : (M) lisse, (N) rugueux irrégulier, (O) rugueux parallèle, (P) verruqueux, (Q) verruqueux, (S) épineux, (T), poilu (**Li et al., 2016**).

Les spores d'actinomycètes peuvent être classés en deux groupes principaux selon leurs modes de formation : les endospores et les exospores (**Theilleux, 1993**). Ces spores

d'actinomycètes ont une fonction de dispersion et de survie dans des conditions défavorables de croissances végétatives (Saffory, 2006).

6.1. Les exospores :

Les actinomycètes forment des spores sur le mycélium aérien appelée les exospores, qui peuvent avoir des formes très variables, elles se développent par septation des extrémités des filaments, habituellement en réponse à une privation en élément nutritif (Prescott et al., 2013). La plupart ne sont pas résistante à la chaleur, mais contient des quantités plus importantes de potassium, de calcium et de manganèse que dans le mycélium de substrat (Breton et al., 1989). (Figure 10).

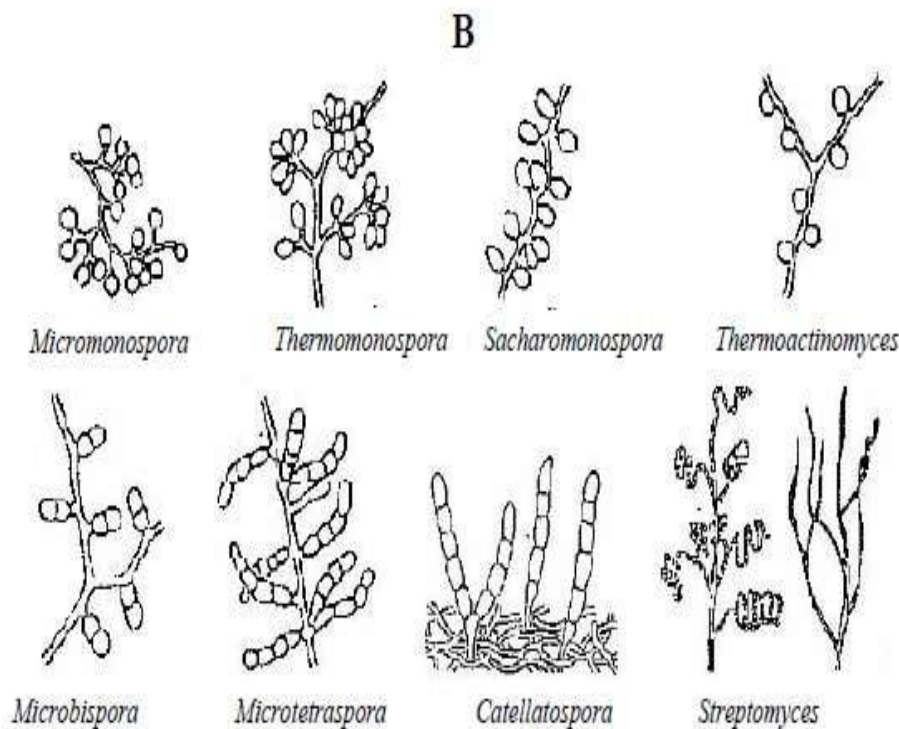


Figure 10 : Types des chaînes des exospores chez différents genres d'actinomycètes (Breton et al., 1989).

6.2. Les endospores :

Les endospores sont produites par les actinomycètes thermophiles, ils naissent d'une régénération du cytoplasme avec la formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe chez le genre Thermoactinomyces. A l'inverse des exospores, les endospores contiennent de l'acide dipicolinique, c'est un composé unique retrouvé exclusivement chez les cellules non végétatives. Ce dernier associé à de grandes quantités d'ion de calcium et de magnésium augmente la résistance des spores à la chaleur (Getha et Vikineswary, 2005 ; Kitouni, 2007) (Figure 11).

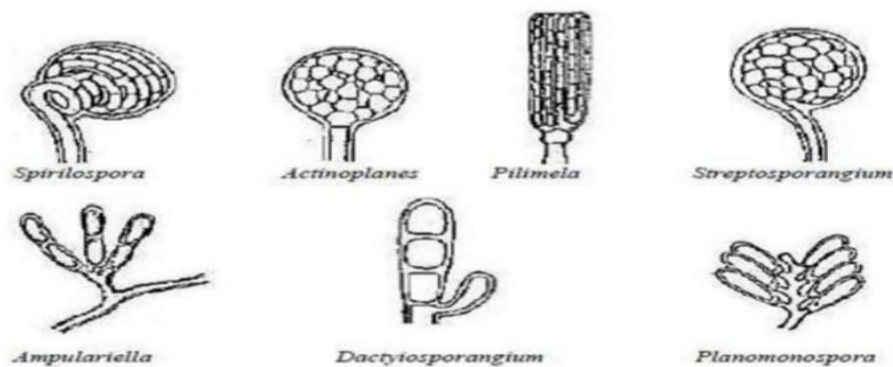


Figure 11 : Types des chaînes des endospores chez les actinomycètes (Breton et al., 1989).

7. Matériel génétique :

Le matériel génétique des actinomycètes est constitué par l'ADN chromosomique ainsi que chez certaines souches par l'ADN plasmidique ou d'ADN phagique (Theilleux, 1993).

La taille du génome des actinomycètes est généralement de 3,7 méga daltons, soit le double de celle d'*E. Coli*, et le temps de réplication de l'ADN est de 50 à 65 minutes. Les actinomycètes possèdent un remarquable degré de variabilité génétique due à des réarrangements du génome à cause de plusieurs types de mutations essentiellement chromosomique. Les plasmides peuvent aussi être sujets à des réarrangements. À la suite de croisements des actinomycètes, des parties du chromosome de la souche donneuse peuvent devenir des plasmides dans la souche receveuse. Ces plasmides jouent un rôle de régulation dans la synthèse des antibiotiques. Il est rare de trouver des gènes codant pour la biosynthèse d'antibiotiques localisés sur le plasmide. Ils sont normalement chromosomiques, regroupés en plusieurs unités de transcription, et ils ont pour voisinage des gènes de régulation spécifiques (Merouane, 2016).

8. Métabolisme :

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

Le métabolisme primaire : Regroupe l'ensemble des réactions anaboliques et cataboliques indispensables à la survie et à la reproduction de la cellule (Hass, 2015). Le pouvoir réducteur et l'énergie produits par ces réactions sont utilisés pour former et assembler les monomères (ex : acides aminés) en macromolécules (ex : protéine) (Strub, 2008).

Le métabolisme secondaire : Un métabolisme secondaire se met en place donnant lieu à la biosynthèse de composés d'une extraordinaire diversité de structures et d'activités biologiques

(Choulet, 2006). Il se différencie du métabolisme primaire par le fait qu'il concerne des métabolites non directement impliqués dans la vie et la croissance de l'organisme (Theilleux, 1993). De manière générale, le métabolisme secondaire est considéré comme l'ensemble des voies de synthèse des composés qui n'ont pas de fonction apparente dans le métabolisme cellulaire (Strub, 2008). (Ex : les antibiotiques, les antifongiques).

9. Distribution dans la nature :

Les actinomycètes représentent un groupe universel de microbes largement répandus dans les écosystèmes naturels dans le monde entier. On les trouve dans de nombreux habitats, qu'il s'agisse d'environnements terrigènes, marins, aquatiques, aériens ou extrêmes, ainsi qu'en association avec des macroorganismes et des organismes supérieurs (Chamikara, 2016). Des actinomycètes ont été isolés à partir d'habitats variés, tels que les rhizosphères des plantes médicinales (Khamna et al., 2010), de l'écorce d'arbres (Pullen et al., 2002) des sédiments marins (Balagurunthan et al., 2010).

Certaines espèces ont, en outre, été isolées à partir de milieux extrêmes : des boues activées (Simon et Meunier, 1970), des sols pollués contenant des métaux (Desjardin, 2002), des hydrocarbures ou du pétrole (Baniasadi et al., 2009). D'autres se comportent comme des parasites intracellulaires des spongiaires (Grandhimathi et al., 2007).

Sol : Les actinomycètes représentent une grande proportion des populations microbiennes dans de nombreux sols, dépassant généralement un million par gramme. Le sol est également la source la plus productive d'isolats, dont beaucoup fournissent des antibiotiques et d'autres métabolites précieux in vitro (Bawazir et Shantaram, 2018). Il a été observé que les actinomycètes du sol se lient à la surface, tels que les sédiments végétaux ou les hyphes fongiques (Mayfield et al., 1972).

Habitats aquatiques : Les actinomycètes sont répartis dans divers écosystèmes aquatiques, y compris les sédiments prélevés dans les eaux profondes (Walker et Colwell, 1975), même dans les fosses en eau profonde (Takami et al., 1997). La biodiversité microbienne de l'écosystème marin est une ressource potentielle pour l'exploration de nouveaux métabolites bioactifs qui présentent des propriétés antimicrobiennes, antivirales, antitumorales, anticoagulantes et cardio actives (Austin, 2006).

Racines : Les actinomycètes existent dans la rhizosphère et le rhizoplane de nombreuses plantes. Les souches de *Frankia* sont des endophytes fixateurs d'azote dans les nodules racinaires de divers arbustes et arbres (Bawazir et Shantaram, 2018). Ce genre est extrêmement important pour les plantes, elles sont responsables de la formation des nodules racinaires de ces

plantes et de fixer l'azote atmosphérique, c'est une association actinorhizienne (**Prescott et al., 2003**).

Milieu extrêmes : Les micro-organismes peuvent survivre dans des conditions extrêmes de température, d'acidité, d'alcalinité ou de concentration chimique. La plupart des extrémophiles produisent des enzymes et des antibiotiques (**Dubey et Maheshwari, 2009**) (**Tableau 2a**).

Tableau 2a : Habitats de certaines des actinomycètes (**Grigorova et Norris, 1990**).

Actinomycètes	Habitas
<i>Actinoplanes</i>	eau douce, litière végétale, sol.
<i>Frankia</i>	nodules racinaires des non-légumineuses.
<i>Micromonospora</i>	eau douce, sédiments, sols humides.
<i>Nocardia amarae</i>	boues activées.
<i>Rhodococcus coprophilus</i>	déjections animales, eau, sol.
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	moisi du foin.
<i>Streptomyces</i>	sol, litière végétale, eau.
<i>Thermoactinomyces</i>	Compost.

10. Importance des actinomycètes :

Les actinomycètes sont exploités pour produire de nouveaux composés bioactifs ayant des activités antibactériennes, antifongiques, antiparasitaires, anticancéreuses et immunosuppressives (**Dholakiya et al., 2017**).

Les actinomycètes ont apporté une contribution positive significative à la santé humaine :

- Elles sont des producteurs de nombreux composés utilisés comme médicaments importants, y compris la plupart des antibiotiques (**Lewin et al., 2016**). Plusieurs d'antibiotiques actuellement utilisés, tels que la streptomycine, la gentamicine, la rifamycine et l'érythromycine produits par les actinomycètes (**Jeffrey, 2008**).
- Elles produisent des inhibiteurs enzymatiques qui peuvent être utilisés pour traiter le cancer et des immunomodificateurs qui améliorent la réponse immunitaire (**Anandan et al., 2016**).
- Elles produisent des enzymes tels que la cellulase, la lipase, l'amylase et la protéase qui sont d'une importance industrielle dans l'alimentation, la fermentation, et les industries textiles

(Sharma *et al.*, 2014). En plus de leur importance sur la santé humaine, les actinomycètes jouent un rôle écologique clé (Lewin *et al.*, 2016).

- Elles ont la capacité de dégrader une large gamme d'hydrocarbures, de pesticides et de composés aliphatiques et aromatiques.
- Elles effectuent des transformations microbiennes de composés organiques.
- Les membres de nombreux genres d'actinomycètes peuvent être potentiellement utilisés dans la bioconversion de déchets agricoles et urbains sous-utilisés en produits chimiques de grande valeur.

Les actinomycètes sont également importants dans le domaine de la biotechnologie végétale, contre les agents pathogènes des plantes (Anandan *et al.*, 2016). La figure 12 résume les applications importantes des actinomycètes.



Figure 12 : Applications biotechnologiques des actinomycètes (Anandan *et al.*, 2016).

Chapitre II : Les substances bioactives

1. Introduction :

De nombreux métabolites secondaires obtenus à partir de microbes récupérés dans diverses régions géographiques et d'habitats ont été développés comme des thérapeutiques potentielles et sont souvent le point final d'un système biosynthétique complexe qui comprend une voie métabolique. Ces produits ont changé le visage de la médecine humaine et vétérinaire au cours des dernières décennies et continuent de fournir de nouvelles pistes pour le développement pharmaceutique (Raveh et al., 2013).

Les actinomycètes sont un groupe extrêmement intéressant de micro-organismes qui sont largement utilisés comme sources biologiques de divers métabolites secondaires (Siddharth et al., 2020).

2. Les substances bioactives :

Les actinomycètes sont à l'origine des deux tiers de tous les antibiotiques et d'une gamme de plusieurs médicaments anticancéreux, antihelminthiques, antifongiques, immunosuppresseurs et des composés anti-infectieux (Demain et Sanchez, 2009). Elles produisent des inhibiteurs enzymatiques ayant diverses utilisations industrielles et des applications biotechnologiques (Manivasagan et al., 2014). Les actinomycètes ont permis la découverte de nombreux médicaments cruciaux qui sauvent encore de nombreuses vies humaines dans le monde entier. Cependant, l'émergence d'une résistance aux antibiotiques rend souvent les médicaments disponibles inefficaces, et le besoin de nouveaux médicaments est indiscutable (Jackson et al., 2018).

Aujourd'hui, 65 % des antibiotiques utilisés en médecine sont d'origine d'actinomycètes, dont plus de 10 000 composés bioactifs ont été produits par les membres du genre *Streptomyces*. Même après des décennies de recherche en bio prospection le genre *Streptomyces* reste sous les feux de la rampe pour l'identification de nouveaux antibiotiques (Lee et al., 2018).

2.1. Les antibiotiques :

2.1.1. Définition des antibiotiques :

Les antibiotiques se définissent comme des substances produites par des micro-organismes, qui peuvent inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries ou d'autres sans affecter l'hôte (cellules eucaryotes) (Van Bambeke et Tulkens, 2007).

2.1.2. Mécanisme d'action :

L'efficacité antibactérienne de la plupart des types d'antibiotiques est basée sur les caractéristiques uniques de la structure bactérienne ou de ses processus métaboliques. Les mécanismes d'action des antibiotiques sont les suivants :

- 1) Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire : céphalosporine, vancomycine, monobactame, pénicillines, cyclosérine, carbapénème,..
- 2) Inhibition de la structure ou de la fonction de la membrane cellulaire : polymixine, daptomycine.
- 3) Inhibition de la structure et de la fonction des acides nucléiques : quinolones, sulfamides.
- 4) Inhibition de la synthèse des protéines : aminoglycoside, macrolide, tétracycline.
- 5) Blocage des voies métaboliques clés : imidazole et nitrofuranes. **(Etebu et Ariekpar, 2016).**

2.1.3. Résistance aux antibiotiques :

La résistance est la capacité d'une bactérie à s'opposer à l'effet antagoniste d'un agent antibactérien sur la prévention de la reproduction ou le bactéricide **(Cesur et Demiröz, 2013).**

2.1.3.1. Résistance naturelle :

C'est l'insensibilité aux antibiotiques, qui existe naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Cela fait donc partie du patrimoine génétique naturel du germe **(Yala et al., 2001).**

2.1.3.2. Résistance acquise :

Les bactéries peuvent acquérir une résistance aux antibiotiques grâce à deux grands mécanismes génétiques. Le premier a pour support le chromosome et définit donc une résistance chromosomique, le second affecte les plasmides, les éléments transposables ou même les intégrons, sont une résistance extra-chromosomique **(Lozniewski et Rabaud, 2010).**

2.1.4. Quelques substances antibactériennes produites par les actinomycètes :

En Algérie, la majorité des actinomycètes étudiés sont isolées des milieux extrêmes. **Zitouni et al., (2004)** ont purifié de nouveaux antibiotiques la mutactimycine PR et la mutactimycine C de nature polykétidique isolés à partir de la souche *Saccharothrix spp.* (SA 103) collectée à Tamanrasset **(Figure 13).**

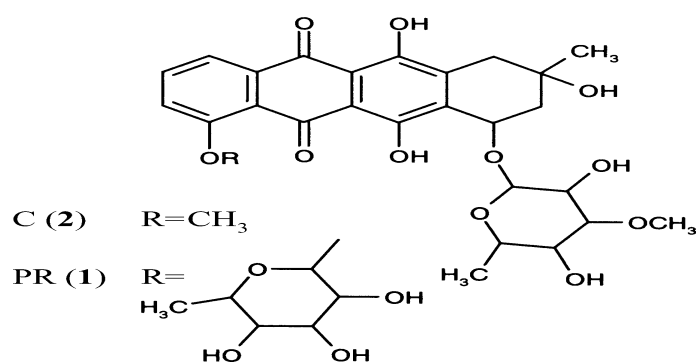


Figure 13 : Structures des mutactimycines PR (1) et C (2) (Zitouni *et al.*, 2004).

Aouiche et al., en 2012, ont isolé le chloramphénicol de la famille phénicolés de la souche *Saccharothrix spp.* (PAL54A) isolée d'un sol saharien à Ghardaïa. Cette molécule a montré une très forte activité contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif responsables des infections nosocomiales. Il s'agit donc de la première production de cet antibiotique par une espèce *Saccharothrix* (Figure 14).

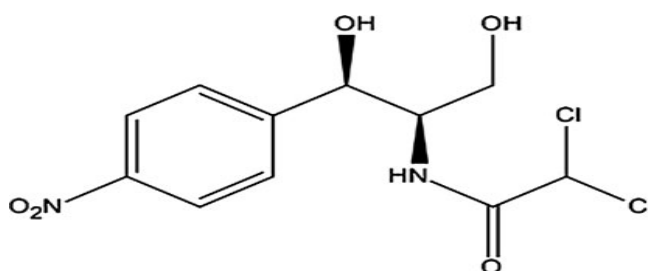


Figure 14 : Structure de chloramphénicol (Aouiche *et al.*, 2012).

Messaoudi et al, (2019) ont purifié cinq nouvelles macrolactams polyéniques, nommés Kénalactames à partir d'une nouvelle souche *Nocardioopsis CG3* isolée d'un habitat salé de Sebka de Kenadsa de la wilaya de Bechar. Ils ont montré des activités antimicrobiennes contre *Staphylococcus aureus*, des champignons (*Candida albicans*) et une activité cytotoxique intéressante (Figure 15).

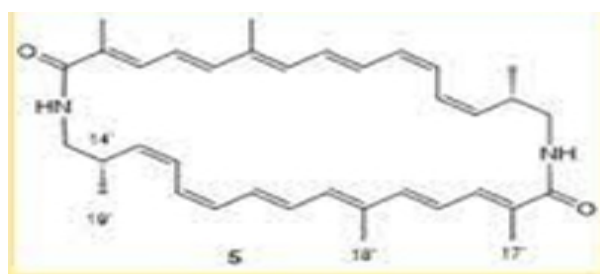


Figure 15 : Structure de kénalactames (Messaoudi *et al.*, 2019)

Aujourd'hui, la mer constitue une source abondante de nouvelles espèces d'actinomycètes. En Chine, plusieurs molécules ont été isolées dont un dérivé anthraquinone isolé de *Pseudonocardia*

spp. (SCSIO) montrant une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* ATCC 292113, *Enterococcus faecalis* ATCC 292112 (Li et al., 2011) et l'iminimycine A (C₉H₁₁NO₇) de nature inolizidine alcaloïde, issue de *Streptomyces griseus* (OS-3601) qui a montré une activité antibactérienne contre plusieurs souches bactériennes comme *Bacillus subtilis*, *Kocuria rhizophila* et *Xanthomonas campestris* (Nakashima et al., 2016) (Figure 16).

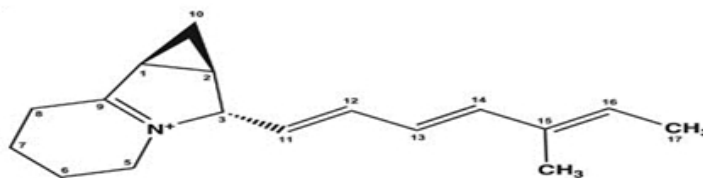


Figure 16 : La structure de l'iminimycine A (Nakashima et al., 2016)

De nouveaux composés polykétides d'origine marine présentant de nouvelles structures hétérocycliques appelés Alchivemycine A et B produites par *Streptomyces spp.* (CJ 6) ont été identifiés. L'Alchivemycine A présente une activité antimicrobienne contre les micrococci lorsqu'elle est utilisée à une concentration extrêmement faible (Onaka et al., 2017).

Récemment, Maiti et al., (2020) ont isolé une souche d'actinomycète, *Streptomyces spp.* (SM01) qui produit une nouvelle famille de molécule, picolinamycine qui montre une activité antimicrobienne contre les souches bactériennes multirésistantes aux antibiotiques.

2.2. Les enzymes :

Les enzymes représentent le second grand groupe de produits industriels synthétisés par les actinomycètes après les antibiotiques. Ils sont considérés comme des biocatalyseurs potentiels pour un grand nombre de réactions (Mukhtar et al., 2012). Ils sont utilisés dans plusieurs domaines, les protéases produites par *Nocardioopsis spp.* sont connues comme d'importantes enzymes dans le domaine industriel (Dastagar et al., 2005). Les lipases et les estérases catalysent les lipides comme les tryglycérides (Aly et al., 2012) et les pectinases utilisés dans le domaine agroalimentaire dans l'industrie d'élaboration des jus de fruits (Bennamoun, 2017).

2.3. Les antifongiques :

Les métabolites fongiques tels que les mycotoxines et les composés organiques volatils sont généralement susceptibles d'entraîner de nombreux effets nocifs sur la santé des individus. Par conséquent, jusqu'à présent la recherche de nouveaux agents morphologiquement actifs de sources naturelles a conduit à la découverte de nombreux médicaments qui pourraient jouer un rôle important dans le traitement de nombreuses maladies fongiques et contre les mycotoxines sans pollution de l'environnement ni le développement d'agents pathogènes résistants aux

fongicides (**Hassan et al., 2011**). La grande majorité des antifongiques naturels est synthétisés par les streptomycètes qui sont bien connues comme agents biocontrôles qui inhibent plusieurs champignons pathogènes (**El-Tarabily et al., 2000**).

La nystatine est un important agent antifongique issu de *Streptomyces noursei*, utilisé en thérapie humaine pour le traitement de certains types de mycoses (**Fjaervik et Zotchev, 2005**).

2.4. Les antitumoraux :

L'exploitation des actinomycètes pour la production des médicaments antitumoraux utiles en clinique, tels que les anthracyclines (aclaurubicine, daunomycine et doxorubicine), les peptides (bléomycine et actinomycine D), les acides auréoliques (mithramycine), les enediynes (néocarzinostatine), les antimétabolites (pentostatine), la carzinophiline et les mitomycines (**Davies-Bolorunduro et al., 2019**).

2.5. Les antiviraux :

Plusieurs études ont rapporté que les actinomycètes produisent de nouveaux métabolites ayant des activités antivirales contre plusieurs virus pathogènes, dont le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest, le VIH-1, le virus Zika, le virus de l'herpès simplex de type 1 résistant à l'acyclovir, ainsi que les virus de la grippe A et B (**Berezin et al., 2019**).

2.6. Les immunosuppresseurs :

Un certain nombre de composés microbiens capables de supprimer la réponse immunitaire ont été découverts. Par exemple : le sirolimus (rapamycine) et le tacrolimus (FK506), qui sont produits par les actinomycètes. La rapamycine un macrolide, découvert pour la première fois en 1975 comme produit de *S. hygroscopicus*. Il est particulièrement utile dans les transplantations rénales. Le tacrolimus (FK506) issue de *Streptomyces tsukubaensis* été découvert en 1987 au Japon. En 1994, il a été utilisé pour la première fois comme immunosuppresseur à faible dose dans la transplantation du foie (**Demain et Sanchez, 2009**).

❖ Il existe d'autres composés bioactives produits industriellement par les actinomycètes :
Les herbicides, comme la phosphinothricine, l'herbicidine A et la geldanamycine.
Le traitement du diabète, comme l'acarbose. **Les agents antihelminthiques**, tels que l'ivermectine et la milbémycine (**Araujo-Melo et al., 2019**). **Les anti-parasitaires** : ivermectines et milbémycine, et ainsi que **les insecticides** : spinosynes (**Jose et al., 2021**).

Chapitre III : Méthodologie d'étude des actinomycètes

1. Mise en culture et isolement :

Dans le but d'isoler un nombre important d'actinomycètes, plusieurs échantillons sont prélevés de manière aléatoire à partir de différents environnements (sol, marin, rhizosphère, plantes...). Afin de favoriser la croissance des actinomycètes prélevés, les échantillons sont cultivés dans différents milieux additionnés d'antibiotiques afin d'inhiber les bactéries et les champignons. La technique d'isolement microbien est une tentative de cultiver des micro-organismes en dehors de leur environnement naturel (Jufri, 2020).

2. Purification :

Afin d'obtenir des cultures pures, toutes les colonies proches d'actinomycètes par leur aspect macroscopique sont observées au microscope à l'état frais après coloration de Gram. Ces différentes colonies sont repiquées etensemencées par la méthode des stries sur des boîtes de Pétrie contenant le même milieu d'isolement, puis l'incubation (Boussaber *et al.*, 2012).

3. Criblage :

En ce qui concerne les techniques de criblage, plusieurs techniques sont utilisées : Les techniques de cylindre d'agar, des stries, et des puits.

3.1. Technique de cylindre d'agar :

Consiste àensemencer la surface de la gélose le micro-organisme d'intérêt et incuberpour quelques jours, les cylindres de gélose sont prélevés et déchargés à la surface des boîtesensemencées par des germes de test. Placés deux heures à 4 °C pour permettre la diffusion desubstances actives, les boîtes sont réincubées pour l'observation de la zone d'inhibition autour des cylindres indiquant la présence de l'effet inhibiteur (Eccleston *et al.*, 2008).

3.2. Technique des stries :

Les isolats subculturels ont été utilisés pour former des lignes de stries sur la gélose MHA, et incubés pendant 2-3 jours à 28°C. Ces lignes d'actinomycètes ont été testées contre les bactéries pathogènes. En traçant une ligne perpendiculaire à la ligne d'actinomycètes. La zone d'inhibition a été observée dans les 24h après une incubation appropriée à 37°C (Shrestha *et al.*, 2021).

3.3. Technique de diffusion par puits :

Après ensemencement des boîtes de Périe, des puits sont percés aseptiquement et sont remplis avec des volumes définis de filtrats de culture ou avec les bouillons extraits par des solvants organiques. Les activités relatives des métabolites sont déterminées en fonction du diamètre des zones d'inhibition formées dans le milieu (**Khanna et al., 2011**).

4. Extraction :

Afin de caractériser les molécules, l'extrait actif est soumis à une extraction liquide-liquide par des solvants dont la polarité dépend de la nature de la molécule (**Kitouni, 2007**). Cette extraction consiste à transférer un soluté d'un solvant à un autre, les deux solvants étant immiscibles ou partiellement miscibles entre eux. Souvent, l'un des solvants est l'eau ou un mélange aqueux et l'autre est un liquide organique non polaire (**Berk, 2018**).

5. Techniques d'identification des substances :

5.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Est une technique d'analyse utilisée pour séparer des mélanges. Elle permet de réaliser des analyses qualitatives et des criblages rapides afin d'obtenir des informations telles que la stabilité, la pureté et l'uniformité de l'échantillon (**Kaur et Ritika, 2018**).

5.2. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) :

Est l'une des techniques de séparation chromatographique la plus utilisée pour séparer les composants d'un mélange, identifier chaque composant, et pour quantifier les composants séparés (**Sarker et Nahar, 2015**).

5.3. Spectrométrie de masse (MS) :

Le spectromètre de masse est un instrument qui peut mesurer les masses et les concentrations relatives des atomes et des molécules. C'est également une technique d'analyse qui identifie la composition chimique d'un composé ou d'un échantillon sur la base du rapport masse/charge des particules chargées (**Patel et al., 2012**).

5.4. Spectroscopie dans l'infrarouge (IR) :

La spectroscopie infrarouge permet d'identifier les groupes fonctionnels tels que les cétones, les esters, les amides et les groupes hydroxyle, ainsi que le degré de substitution des doubles liaisons (**Guggisberg et Hesse, 2003**).

Le rayonnement infrarouge couvre une section du spectre électromagnétique dont les nombres d'onde vont d'environ 13 000 à 10 cm^{-1} , ou des longueurs d'onde de 0,78 à 1 000 μm . Il est délimité par l'extrémité rouge de la région visible à haute fréquence et la région des micro-ondes à basse fréquence (**Hsu, 1997**).

5.5. Spectroscopie en UV-visible

Est une technique qui permet de connaître le degré de saturation des molécules (présence ou non de doubles liaisons) (**Lindenfelser et al., 1964 ; Bastide et al., 1986**).

Cette étude permet la détection des composés aromatiques (absorption entre 240 et 260nm), les systèmes insaturés de certaines substances colorées (absorbant dans le visible) et les polyènes (absorbent entre 291 et 405nm) (**Dinya et Sztaricskai, 1986**).

5.6. La résonance nucléaire magnétique (RMN)

Est une technique spectroscopique qui permet la détermination de la structure tridimensionnelle ainsi que de la dynamique des systèmes biomoléculaires (**Krishnan, 2019**).

Elle est constituée d'un diagramme représentant des signaux de résonance émis par certains noyaux atomiques de l'échantillon. Pour obtenir ces signaux, l'échantillon est soumis à l'action conjointe de deux champs magnétiques dont l'un est intense et fixe, tandis que l'autre est plus faible et variable (**Diop, 1998**).

Partie 2 : SYNTHÈSE DES ARTICLES

Chapitre I : Protocole expérimental

Problématique :

Les actinomycètes sont considérés comme les procaryotes les plus précieux comme source de molécules bioactives. Dans l'optique d'étude et de valorisation des agents antimicrobiens naturels, nous présentons dans ce modeste mémoire une synthèse bibliographique des travaux réalisés durant ces cinq dernières années sur les métabolites antimicrobiens obtenus à partir des actinomycètes. Pour cela, nous avons sélectionné six publications (**tableau 2b**) qui relatent la découverte de nouvelles molécules à partir des souches d'actinomycètes isolées en différentes régions du monde.

Tableau 2b : Les six articles étudiés.

Articles	Titre	Références
Article 1	Isolation and Characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara Soils with Antimicrobial Activities	(Harir et al., 2017)
Article 2	Antimicrobial Activity of Marine Actinomycetes against Human Pathogenic Bacteria	(Viswanthan et Rebecca, 2017)
Article 3	Isolation and Screening of Antibiotics Producing Streptomyces spp from the Soil Collected around the Root of Alnus nepalensis from Godawari	(Baniya et al., 2018)
Article 4	Kenalactams A-E, Polyene Macrolactams Isolated from Nocardiopsis CG3	(Messaoudi et al., 2019)
Article 5	Isolation and screening of actinomycetes producing antimicrobial substances from an extreme Moroccan biotope	(El Karkouri et al., 2019)
Article 6	Isolation, Characterization, and Screening of Antimicrobial-Producing Actinomycetes from Soil Samples	(Sapkota et al., 2020)

1. Prélèvement des échantillons :

Selon les articles étudiés (**annexes**), les échantillons ont été prélevés dans différents environnements à travers le monde (sol, rhizosphère, milieu extrême, écosystème marin) (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Origine de la station d'échantillonnage

Références	Viswanathan et Rebecca, 2017	Harir et al., 2017	Baniya et al., 2018	Messaoudi et al., 2019	El Karkouri et al., 2019	Sapkota et al., 2020
Origine	Sol marin (Plage de Marina, plage d'Elliot's et plage de Neelankarai d'Inde)	Sahara (Algérie)	Rhizosphère autour l' <i>alnus nepalensis</i> (Népal)	Sol salin de Kenadsa (Sud-ouest d'Algérie)	Deux sites salins (Maroc)	Champs cultivés biologiquement, zone rhizosphérique et berges de rivières (Népal)

Quelques soit l'origine des échantillons, la méthode d'échantillonnage appliquée est celle par randomisation. Les échantillons du sol prélevés (100-150 g) à l'aide d'un matériel stérile en écartant les 5-15 cm de la première couche du sol sont placés dans des boîtes stériles. Une fois arrivé au laboratoire, les échantillons sont soumis à un prétraitement avant la préparation du milieu de culture. Cette étape consiste à sécher les échantillons par la chaleur sèche (**Baniya et al., 2018**) ou à l'air libre (**Harir et al., 2017**).

2. Mesure des paramètres physico-chimiques des échantillons :

Dans le but de voir la relation entre les micro-organismes et les caractéristiques de leurs écosystèmes, des paramètres comme le pH, la conductivité, humidité, matière organique..... sont étudiés.

2.1. Mesure du pH :

Pour déterminer le pH, 10g d'échantillon de sol sont mélangés avec 50ml d'eau distillée. Après une bonne agitation pendant 15min, la suspension est laissée reposer pendant 2 heures (**El Karkouri et al., 2019**).

2.2. Mesure de la conductivité électrique :

5g de sol sont mélangés avec 25ml d'eau distillée. Après agitation pendant 30min, la suspension est laissée au repos pendant 15 minutes puis centrifugée (3000 rpm/10min) (El Karkouri *et al.*, 2019).

3. La mise en culture :

D'après les 6 articles étudiés, l'isolement des actinomycètes a été réalisé sur différents milieux :

- ◆ Le milieu amidon caséine agar (CSA) (Baniya *et al.*, 2018 ; Sapkota *et al.*, 2020). Additionné de l'Ampicilline (20 µg/ml) et du Fluconazol (20 µg/ml) dans l'étude de El Karkouri et son équipe (2019), de l'Amphotéricine B (50 µg/mL) par Messaoudi *et al.*, (2019) et de la nalidixique + la nystatine (Viswanathan et Rebecca, 2017).
- ◆ Le milieu gélosé à l'extrait de levure et l'extrait de Malt (ISP2) complété par 40mg/mL d'actidione, le milieu gélosé à l'extrait de levure et l'extrait de Malt peptoné (GLM) complété par l'actidione (5µg/mL) et de la rifampicine (5µg/mL) (Harir *et al.*, 2017).

4. Isolement :

Selon les articles étudiés, la technique d'isolement utilisée est la méthode de dilution en série. En utilisant les différents milieux de culture qui peuvent être sélectives par la présence de substances chimiques variées (Delarras, 2007).

10g de chaque échantillon de sol sont mélangés dans 100 ml d'eau physiologique stérile (0,9% de NaCl). Puis un traitement thermique a été réalisé dans un bain-marie à 50°C pendant 60 minutes sous agitation. Des dilutions sérielles de 10 fois ont été préparées avec une solution saline stérile à 0,9 %. Les dilutions ont ensuite été placées en triplicatas sur CSA et incubées pendant 4 à 6 semaines à 28°C (El Karkouri *et al.*, 2019).

5. Purification et conservation des isolats :

Les colonies qui se rapprochent par leur aspect macroscopique et microscopiques, sont purifiées pour obtenir des cultures pures (Messaoudi, 2020).

El Karkouri *et al.*, (2019) ; Harir *et al.*, (2017) ont purifié les isolats d'actinomycètes en réalisant des stries successives sur des boîtes de Pétrie en utilisant de la gélose à l'extrait de levure et l'extrait de Malt (ISP2), puis ils ont conservés dans le glycérol (20%) à -80°C et/ou maintenus à 4°C pour une étude ultérieure.

6. Identification et caractérisation :

Les chercheurs des six articles ont identifiés les isolats intéressants sur des bases morphologiques, biochimiques et moléculaires.

6.1. Observation macroscopique :

L'examen macroscopique des isolats cultivés sur les différents milieux est réalisé par l'observation de la pigmentation du mycélium aérien et celui du substrat, la couleur et la présence des pigments diffusibles (**Sapkota et al., 2020**).

6.2. Observation microscopique :

L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'une lamelle couvre-objet et de la méthode de coloration de Gram.

6.2.1. Technique de culture sur lamelle :

Cette technique consiste à insérer une lamelle couvre-objet dans la plaque de milieu d'amidon caséine agar solidifiée, incliné à 45° par rapport à la surface de la gélose. L'isolat d'actinomycète a été inoculé le long de la surface du milieu qui rencontre la surface de la lamelle couvre-objet enterrée. Le site a été incubé à 28°C pendant quatre jours. La lamelle couvre-objet a été retiré de la gélose à l'aide de pinces stériles et placer sur une lame de verre propre, qui ensuite a été observée en immersion dans l'huile objectif (**Sapkota et al., 2020 ; Harir et al., 2017**). Par contre, **Viswanathan et Rebecca, (2017)** ont utilisé le bleu de méthyle pour l'observation microscopique.

6.2.2. Coloration de Gram :

Cette technique permet de fixer des colorants basiques sur les composants cytoplasmiques. Elle utilise ces propriétés pour distinguer et classifier les bactéries selon la composition de leur paroi. Les bactéries à Gram positif sont colorées en violet et les bactéries à Gram négatif en rose (**Brelière et al., 2009**).

6.3. Les tests biochimiques :

Une anse de colonie d'une culture pure incubée pendant 7 jours, a été étalée dans un bouillon d'amidon caséine et incubée à 28°C d'environ 4 jours. Après l'apparition de la turbidité, la suspension de culture a été utilisée pour différents tests d'utilisation des sucres, des protéines,

de la catalase et de l'oxydase. Différents tests d'hydrolyse, Notamment l'hydrolyse de l'amidon, de la caséine, de la gélatine, et l'hydrolyse des lipides et le test de la résistance au chlorure de sodium ont été effectués. (**Sapkota et al., 2020 ; Harir et al., 2017**).

6.4. Identification par MALDI- TOF- MS :

La technique MALDI-TOF est une méthode de diagnostic microbiologique qui utilise la spectrométrie de masse (SM) pour analyser les macromolécules des microorganismes. **Harir et son équipe (2017)** ont utilisé un appareil (MALDI-TOF-MS Bruker Microflex Daltonics, Bremen, Allemagne).

Grâce à cette technologie, les isolats sont identifiés en comparant le spectre obtenu à la banque de données enregistrées. C'est une excellente technique alternative aux techniques classiques d'identification et de classification microbiologiques, ne nécessitant qu'un minimum d'efforts de préparation des échantillons (**Maier et al., 2006**).

6.5. Identification moléculaire :

L'identification moléculaire des souches est réalisée par les techniques moléculaires (PCR et Séquençage). **Messouadi et al., (2018)** ont identifié la souche CG3 comme une nouvelle espèce du genre *Nocardiosis* sur la base du séquençage de son l'ADNr 16s.

7. Mesure de l'activité antibactérienne :

Diverses souches microbiennes de références (bactéries, levures et champignons) ont été utilisées pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes.

7.1. Criblage primaire :

Le dépistage primaire des isolats est effectué pour vérifier le potentiel des souches en ce qui concerne la production de métabolites secondaires antimicrobiens. Au cours de ce processus un grand nombre d'isolats sont criblés contre une série de souches sensibles (**Khanna et al., 2011**).

7.1.1. Technique de stries croisées :

Afin de déterminer l'activité antibactérienne, le dépistage primaire a été effectué par la méthode de stries croisées. Pour cela, les isolats d'actinomycètes sontensemencées en stries perpendiculaires à la surface du milieu agar Muller Hinton et en bordure de la boîte de pétrie.

Après incubation des boîtes de Pétrie à 20°C pendant 7 jours, la colonie pure est transférée dans un bouillon nutritif frais et incubée à 37°C pendant 24h jusqu'à ce que la turbidité soit visible. Après ajustement de la turbidité à 0.5 Mc Ferland (environ 1.5×10^8 UFC/ml), les micro-organismes à tester ont été étalés perpendiculairement à la strie longitudinale de l'isolat. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h (**Sapkota et al., 2020**). La lecture des résultats se fait par la mesure de la zone d'inhibition entre les bordures de l'actinomycète et la souche (**Harir, 2018**).

7.1.2. Technique double couche d'agar (Oudouch et al., 2001) :

L'équipe d'**El Karkouri (2019)**, ont déposé les isolats purs dans trois milieux de culture testés : SCA, Bennett et Mueller Hinton. Les boîtes ont été incubées à 30°C ou à 37°C pendant 7 jours, puis exposées à de la vapeur de chloroforme pendant 40 minutes. Les colonies émergentes ont ensuite été recouvertes d'une couche de gélose à 0,6 % du milieu de Bennett, auparavantensemencé avec l'un des micro-organismes testés. Après l'incubation à 30°C ou à 37°C, l'activité antimicrobienne a été estimée en mesurant la zone d'inhibition.

7.1.3. Technique des cylindres d'agar :

L'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode des cylindres d'agar, en mesurant la zone d'inhibition autour de la colonie de chaque isolat après incubation à 30° pendant 24h (bactérie et levure) et à 25° pendant 48h (champignon) (**Harir et al., 2017**).

7.2. Criblage secondaire

Le criblage secondaire a pour but d'optimiser les conditions de culture. **Baniya et al., (2018)** et **Sapkota et al., (2020)** ont utilisé la méthode de diffusion en puits qui consiste à percer des trous sur la surface de gélose en les remplissant avec de l'extrait à tester avec un témoin positif et négatif.

Après optimisation, la production des substances antimicrobiennes sur les milieux de culture sélectionnés est réalisée afin de récupérer les substances bioactives de bouillon de culture par fermentation.

Dans l'étude de **Baniya et al., (2018)**, l'extraction a été réalisée avec une technique de fermentation sur substrat tandis que **sapkota et al., (2020)** ont utilisés la technique de la fermentation submergée.

7.3. Extraction et identification des composés antimicrobiens :

Les molécules actives sont généralement extracellulaires et leur purification à partir de surnageants de culture complexes nécessite diverses techniques de séparation telles que l'extraction par solvant, la précipitation chimique, CCM, HPLC préparative.....etc. Par contre leur identification nécessite les études spectroscopiques (UV-V, IR, CPG, SM, RMN). Le nombre de techniques à utiliser dépend de la nature de la molécule (**Bouaziz, 2018**).

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de sol :

L'analyse physico-chimique des échantillons de sol renseigne sur la densité et la nature des actinomycètes présents. D'après **Messaoudi, (2020)**, la présence et le nombre d'isolats d'actinomycètes sont influencés par plusieurs facteurs physico-chimiques, notamment le pH, la matière organique, la salinité du sol.

Les résultats des analyses physico-chimiques de sol prélevés sur deux sites à Taza (Maroc) par **El Karkouri et al., (2019)** sont représentés dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de sol
(El karkouri et al., 2019).

	pH	Conductivité électrique (dS/ m) 25° C	Salinité	Nombre Isolats
Site N°1	8.8	1.78	Salé	13
Site N°2	9.3	2.45	Très salé	09

D'après le **tableau 5**, on constate que :

- Le sol du site n°1 à pH alcalin (8,8-9,3), de conductivité électrique de 1,78 et salé contient plus d'actinomycètes que le site n°2. Cela qualifie que ce biotope est dans la catégorie des sols alcalins.

Les actinomycètes peuvent se développer dans des conditions de pH ou de salinité sélectives. En effet, le pH du sol influence fortement la biomasse, l'activité et la composition de la communauté microbienne (**Fang et al., 2017**).

2. Le prétraitement et la mise en culture :

Afin d'obtenir un nombre intéressant d'actinomycètes les chercheurs ont utilisés des stratégies différentes :

- Un traitement préalable des échantillons : par un chauffage et un séchage à l'air libre pour inhiber les bactéries GRAM-négative dans l'étude de **Harir et al., (2017)** et par un séchage sèche et humide dans l'étude de **Baniya, (2018)**.
- Pour l'isolement des *Actinomycètes*, les meilleurs milieux de cultures sont les milieux contenant de l'amidon, l'arginine, l'asparagine, la caséine et la chitine. Alors que la croissance des champignons et des bactéries est faible (**Williams et Davies, 1965**). Pour cela, les auteurs ont choisi deux milieux sélectifs : le milieu caséin-agar et le milieu ISP2 dans leurs

études pour isoler les actinomycètes (**Harir et al., (2017)** ; **Viswanathan et Rebecca, (2017)** ; **Messaoudi et al., (2019)** ; **Baniya et al., (2018)** ; **El Karkouri et al., (2019)** ; **Sapkota et al., (2020)**).

- Pour inhiber la croissance des micro-organismes indésirables, les auteurs ont utilisé des antibiotiques et des antifongiques dans les milieux sélectifs (**Harir et al., (2017)** ; **Viswanathan et Rebecca, (2017)** ; **Messaoudi et al., (2019)** ; **El Karkouri et al., (2019)**). Un mélange d'antibiotique et d'antifongique sont utilisés : la nalidixique et la nystatine par **Viswanathan et Rebecca, (2017)** et de l'Ampicilline et le Fluconazol par **El Karkouri et son équipe (2019)**.

3. Isolement des actinomycètes

Un nombre varié des souches d'actinomycètes sont obtenus par la méthode de suspension-dilution dans les six études (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Nombre d'actinomycètes obtenus de chaque isolement.

Les références	Harir et al., (2017)	Viswanathan et Rebecca, (2017)	Baniya et al., (2018)	El Karkouri et al., (2019)	Sapkota et al., (2020)
Milieux utilisés	CSA				ISP2
Le nombre d'isolats d'actinomycètes	32	114	40	22	41

Dans chaque étude, les isolats d'actinomycètes ont été prélevés dans des milieux sélectifs supplémentés de substances antimicrobiennes. Ces différents isolats prélevés ont été reconnus par leur aspect macroscopique et microscopique.

D'après les résultats observés dans les six publications, nous avons constaté qu'à partir de chaque source (sol, sol rhizosphérique, milieu salé, désertique et marin) des souches d'actinomycètes sont isolées.

Selon **Jose et al., (2021)**, les mêmes méthodes traditionnelles de traitement des échantillons et les mêmes milieux d'isolement sont utilisés dans toutes les études.

Ces dernières années, l'exploitation des milieux extrêmes pour l'isolement des actinomycètes s'est accrue en raison de la production par ces micro-organismes de divers composés bioactifs et de leurs adaptations à des environnements difficiles. Dans l'étude d'**El Karkouri et al., (2019)**, l'isolement des actinomycètes dans l'écosystème salin de Tazza (Maroc) est très difficile par rapport aux milieux communs en raison de leur taux de croissance

qui est lent. Cependant, ces micro-organismes ont développé plusieurs stratégies pour survivre dans les écosystèmes hypersalins.

Les sols du Sahara Algérien exposés à des conditions climatiques difficiles représentent des écosystèmes particuliers et une biodiversité importante. Un nombre intéressant d'isolats a été isolé de ces régions (Harir *et al.*, 2017 ; Messaoudi *et al.*, 2019).

Selon, Baniya *et al.*, (2018), Pandey *et al.*, (2004) et Sapkota *et al.*, (2020) la grande variation dans le type de sols et leur contenu contribuent à la forte distribution des actinomycètes producteurs d'antibiotiques.

4. Identification et caractérisation des isolats :

Les isolats d'actinomycètes ont été identifiés sur la base des tests morphologiques (microscopiques, macroscopiques), physiologiques, biochimique, spectrales, et moléculaires.

4.1. Étude des caractères morphologiques :

4.1.1. Étude macro et microscopique :

Les travaux de Viswanathan et Rebecca (2017), El Karkouri *et al.*, (2019), Harir *et al.*, (2017), Baniya *et al.*, (2018) et Sapkota *et al.*, (2020) ont mis en évidence plusieurs souches d'Actinomycètes par la couleur du mycélium aérien, la couleur du substrat, la production des pigments diffusibles, la croissance et la présence des spores, la coloration de Gram et l'utilisation de la technique du culture sur lamelle (Figure 17).

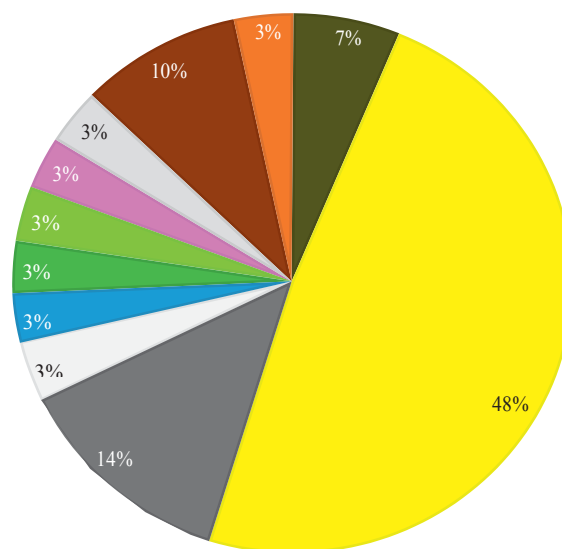


Figure 17 : Types de pigments produits par les isolats d'Actinomycètes sur la gélose amidon-caséine agar (El Karkouri *et al.*, 2019).

Brun verdâtre
 Blanc grisâtre
 Jaune
 Bleu
 Marron
 Vert
 Jaune verdâtre
 Orange clair
 Gris
 Blanc pale
 Violet clair

Bien que les caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) sont pratiquement dépassés devant l’outil moléculaire, leurs utilisation est toujours d’actualité pour caractériser les genres d'actinomycètes. Selon **Shirling et Gottlieb (1976)**, les caractères morphologiques sont envisagés comme des caractères stables pour l'identification des actinomycètes.

En effet, grâce à la technique de la lamelle couvre-objet, **Sapkota, (2020)** a identifié comme *Streptomyces spp.* (29 isolats), *Nocardia spp.* (8 isolats) et *Micromonospora spp.* (4 isolats) (**Figure 18**).

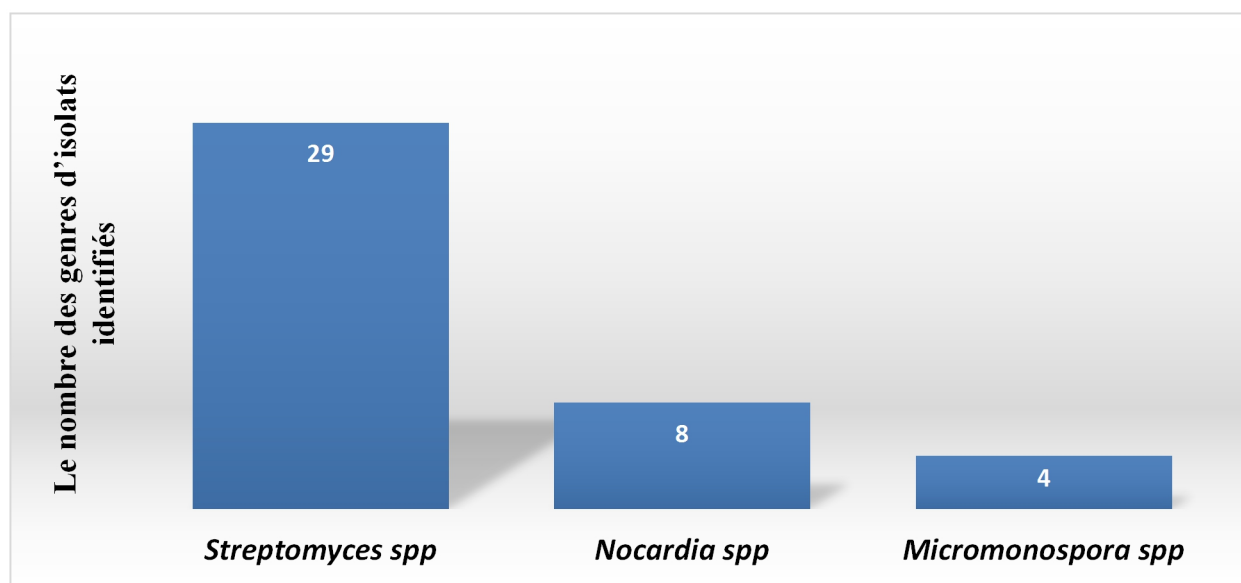


Figure 18 : Les genres des isolats basés sur l'observation microscopique (**Sapkota et al., 2020**).

4.1.2. Les tests biochimiques et physiologiques :

En ce qui concerne les caractéristiques physiologiques et biochimiques, l’utilisation des milieux à différentes concentration en NaCl, de différentes sources de carbone et l’hydrolyse d’un grand nombre d’enzymes (catalase, oxydase, gélatinase, amylase, lipase, caséinase) et d’un grand nombre de composés (arabinose, fructose, galactose, glucose, mannitol, xylose) a permis la sélection de plusieurs souches d’actynomycètes en comparaison aux espèces répertoriées (**Sapkota et al., 2020 ; Messaoudi et al., 2019 ; Harir et al., 2017**).

La température de croissance optimale de la plupart des isolats dans l’étude de **Harir et al., (2017)** se situait entre 25° et 30°C, et la croissance étant inhibée à des températures supérieurs à 40°C.

Le mycélium aérien de l'isolat CG3 obtenu par **Messaoudi et al., (2019)** est de couleur blanche sur tous les ISP utilisés et porte des courtes chaînes de spores avec une surface lisse, par contre le mycélium de substrat est de couleur jaune sur les ISP_{2, 3, 4, 6}. En plus la souche n'utilise pas comme source de carbone le rhamnose et l'arabinose et elle est uréase positif et qu'elle peut liquéfier la gélatine. Tous ces caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques, ont permis à l'auteur et ses collaborateurs de rapprocher l'isolat CG3 à l'espèce *Nocardioopsis rosea*. Cependant, cette dernière utilise le rhamnose, l'arabinose, uréase négatif et ne peut pas liquéfier la gélatine. C'est pourquoi, la nécessité de faire une analyse moléculaire par le séquençage.

4.1.3. Identification des isolats par analyse MALDI-TOF MS :

Harir et son équipe (**2017**), ont identifiés trois isolats C, MS1 et 10 par l'analyse MALDI-TOF - MS. Les résultats d'identification de ces isolats sont présentés dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : Identification des souches C, MS1, 10 (**Harir et al., 2017**).

Les isolats	C	MS1	10
Le nom des isolats identifiés	<i>Streptomyces violaceoruber</i>	<i>Streptomyces albus</i>	<i>Streptomyces badius</i>
Code	NCBI 1935	NCBI 1888	NCBI 1941

D'après le **tableau 6**, chaque isolat a présenté un code et un score. Le premier (C) a montré un score élevé et le troisième (10) était acceptable. Néanmoins, le deuxième (MS1) n'a pas présenté un score élevé par l'analyse MALDI-TOF-MS, mais après étude des caractéristiques culturelles, physiologiques et biochimiques de cet isolat ils ont conclu qu'il est très probable que cette souche est *Streptomyces albus*.

Cette technique permet l'identification des espèces bactériennes rapidement et précisément que les méthodes traditionnelles précédentes (**Wieser et al., 2012**).

4.1.4. Les caractéristiques moléculaires :

L'outil moléculaire (le séquençage de l'ADNr 16s) est d'actualité pour confirmer l'appartenance phylogénétique des espèces isolées.

La souche CG3 isolée par **Messaoudi et al., (2019)** : Les tests de similarités obtenus par les techniques moléculaires (PCR et séquençage), ont montré que cette souche présente un niveau de similarité bas comparé aux autres espèces. Mais l'hybridation ADN-ADN, entre la CG3 et *Nocardioopsis rosea* (espèce la plus proche) indique que CG3 est une nouvelle souche. Les auteurs lui ont attribué le nom de *Nocardioopsis becharensis* sp. nov.

5. Mesure de l'activité antibactérienne :

Le criblage a toujours été la voie essentielle pour obtenir de nouvelles molécules antibactériennes bien que son rendement soit réduit. C'est pourquoi, les chercheurs sont forcés de diversifier les sources des micro-organismes en particulier à partir d'habitats extrêmes (Larpent *et al.*, 1989 ; Ouhdouch *et al.*, 2001 ; Hilali *et al.*, 2002 ; Lemriss *et al.*, 2003).

L'observation de zones d'inhibition claires autour des puits des boîtes inoculées est une indication de l'activité antimicrobienne contre les souches testées (Viswanthan *et Rebecca*, 2017) (Figure 19).



Figure 19 : Exemple des zones d'inhibition des *actinomycètes* contre *Proteus mirabilis* dans le milieu Bennett (El Karkouri *et al.*, 2019).

Les variations des diamètres de la zone d'inhibition sont dues au fait que les souches d'*actinomycètes* peuvent produire plusieurs molécules antibactériennes avec des modes d'actions différentes selon la composition du milieu (Boudmagh, 2005).

Généralement, le spectre d'activité antimicrobienne des isolats d'*actinomycètes* est évalué par deux méthodes, la méthode de stries croisées et la méthode des puits vis-à-vis des bactéries à Gram positif, des bactéries à Gram négatif, des levures et des champignons. Les résultats obtenus par les auteurs sont illustrés par les figures 20, 21 et 22. Cette activité antibactérienne peut être influencée par plusieurs facteurs (composition du milieu, pH, température).

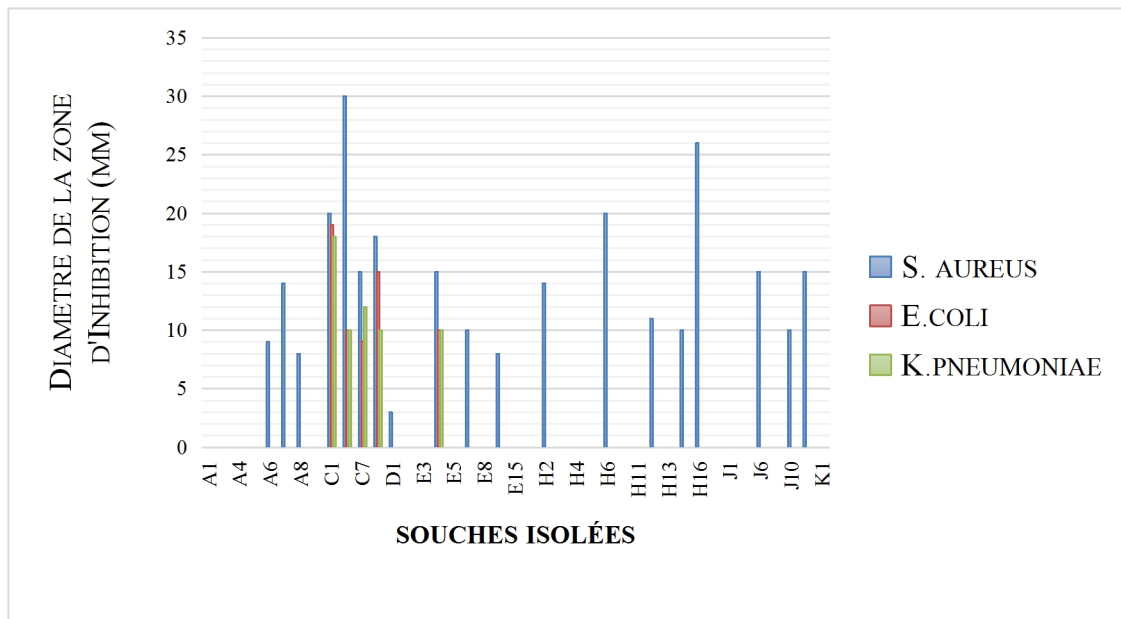


Figure 20 : Zone d’inhibition des isolats actifs dans le dépistage secondaire (Sapkota et al., 2020).

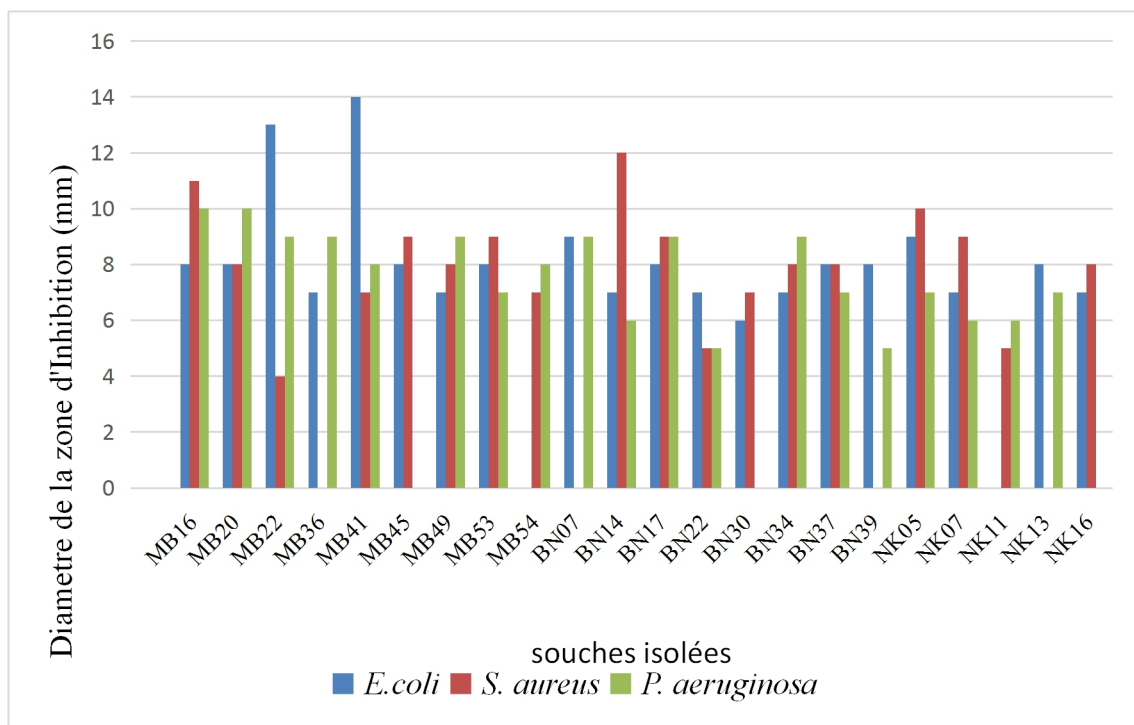


Figure 21 : Activités antimicrobiennes des isolats contre les bactéries à pathologie humaines (Viswanthan et Rebecca, 2017).

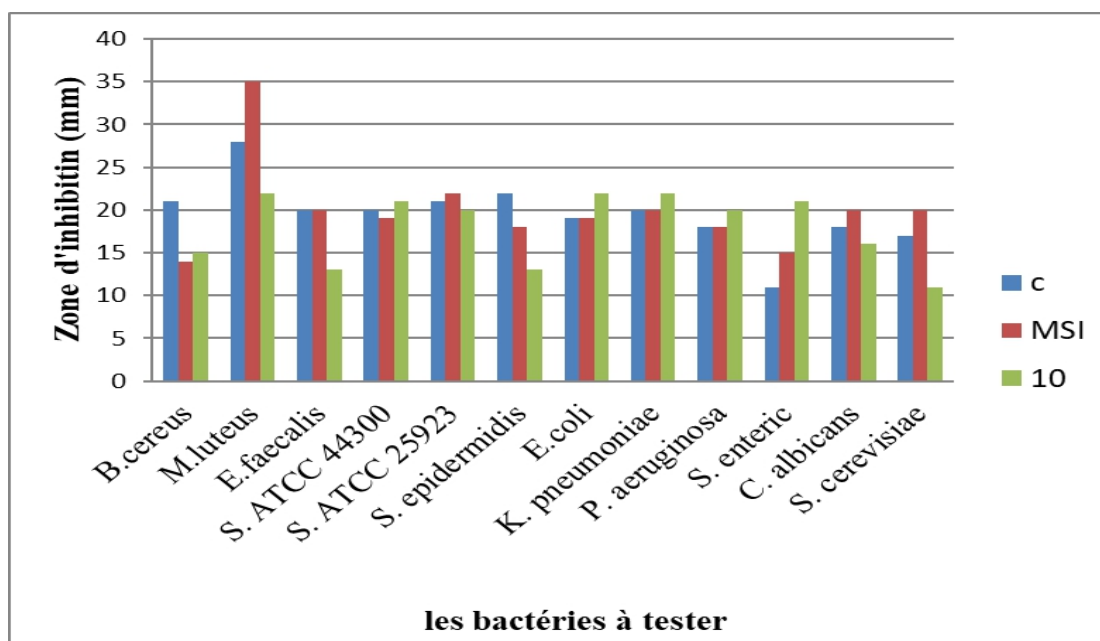


Figure 22 : Activités antimicrobiennes des souches C, MS1,10 (Harir et al., 2017).

L'équipe de Baniya et al., (2018) ont testé l'activité antibactérienne en mélangeant les isolats avec les bactéries MDR et non MDR (Figure 23).

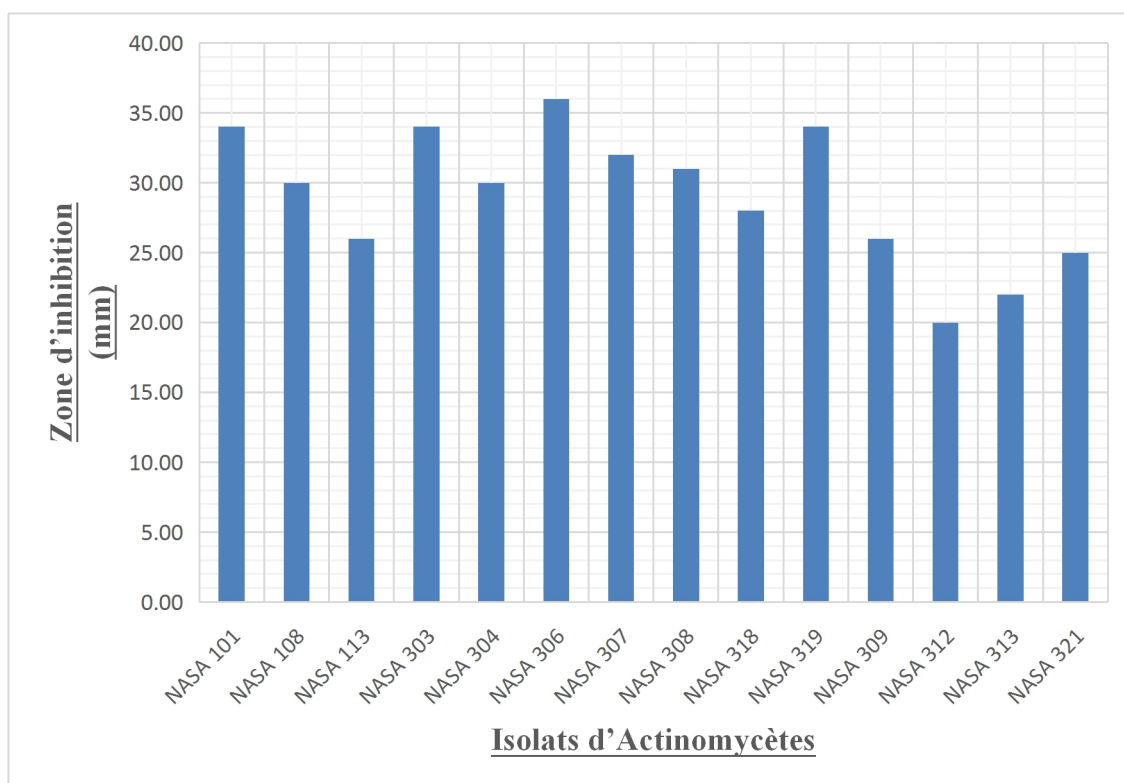


Figure 23 : Activités des Actinomycètes contre les micro-organismes MDR (Baniya et al., 2018).

El Karkouri *et al.*, (2019), ont testé l'activité antibactérienne par rapport aux températures 30°C et 37°C (Figure 24 et 25).

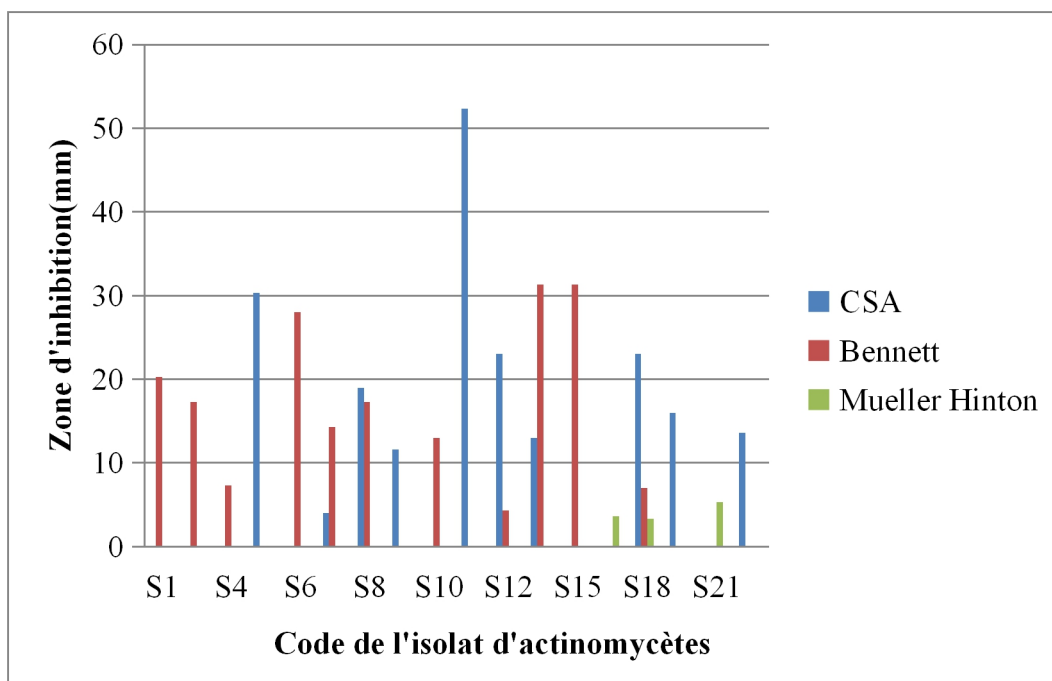


Figure 24 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes à 30°C pendant 7 jours (El karkouri *et al.*, 2019).

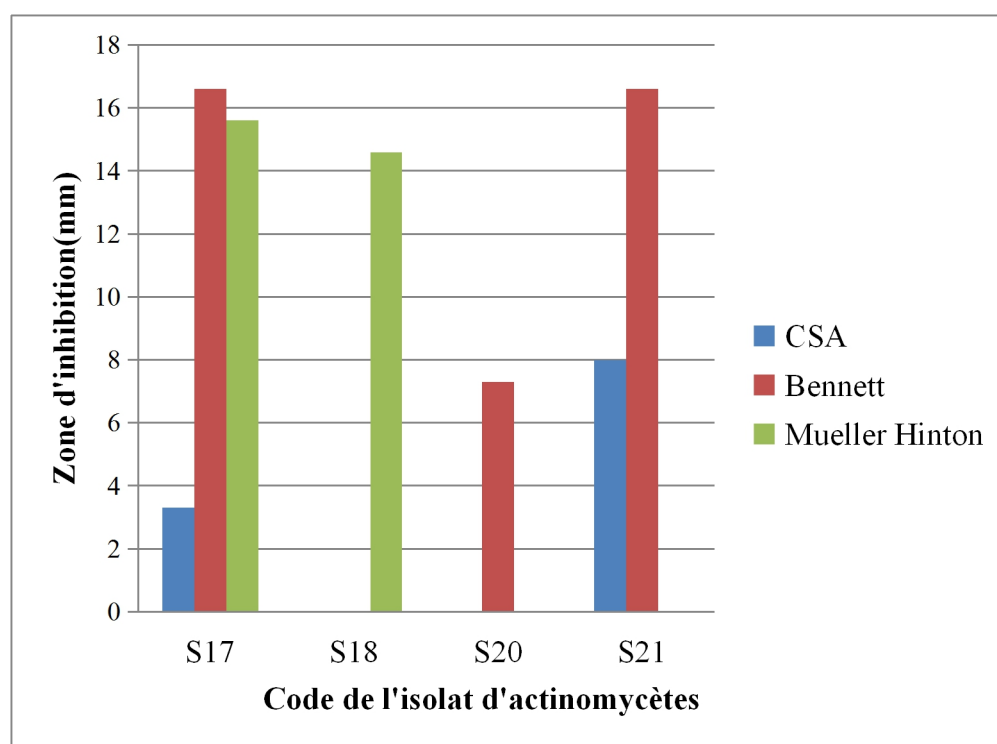


Figure 25 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes à 30°C pendant 7 jours (El karkouri *et al.*, 2019).

D'après les figures ci-dessus, la majorité des isolats sont actifs sur les bactéries et en particulier sur les bactéries à Gram positif. Selon **Shirling et Gottlieb, (1966)**, la raison de la sensibilité différente entre les bactéries à Gram-positif et les bactéries à Gram-négatifs pourrait être expliquée par rapport aux différences morphologiques entre ces microorganismes. Les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane polysaccharidique externe rendant la paroi cellulaire imperméable aux solutés lipophiles alors que les bactéries à Gram-positif ne possèdent qu'une couche externe peptidoglycane qui ne constitue pas une barrière de perméabilité.

Dans l'étude de **Viswanthan et Rebecca (2017)**, les isolats d'actinomycètes ont montré une activité inhibitrice modérée contre *P. aeruginosa* contrairement aux résultats de **Sapkota et al., (2020)** qui n'ont pas montré d'activité contre cette souche. L'absence d'activité antibactérienne de certains isolats d'actinomycètes contre les bactéries testées peut être à l'origine de la résistance aux substances sécrétées par les actinomycètes. En effet, la résistance des bactéries aux antibiotiques d'actinomycètes peut être attribuée à l'inactivation des enzymes de ces antibiotiques ou à la diminution de la perméabilité de la membrane bactérienne (**Lobel et al., 2007**).

Les résultats de **Harir et al., (2017)**, montrent que l'isolat MS1 a enregistré une importante activité antimicrobienne vis-à-vis la bactérie *M. luteus*. D'ailleurs on remarque une activité antifongique importante marquée contre plusieurs champignons : *S. cerevisiae* et *S. epidermidis*. L'activité antimicrobienne des extraits bruts des isolats était testée par la méthode de diffusion en puits sur MHA. Les résultats ont révélé que la zone d'inhibition maximale enregistrée par l'extrait brut de *Streptomyces violaceoruber* était contre *C. albicans* (17mm). Suivie de *M. luteus* (15mm) et *K. pneumoniae* (15mm). Pour *Streptomyces albus*, son extrait brut était également actif contre les bactéries et les champignons mais beaucoup moins actif que *Streptomyces violaceoruber*, avec une zone d'inhibition maximale contre *M. luteus* (18mm) et *P. fluorescens* (15mm). *Streptomyces badius* a présenté une activité antimicrobienne supérieure à celle des *Streptomyces violaceoruber* et *Streptomyces albus*, notamment contre *P. fluorescens* (36mm), *S. aureus* (35mm), *S. epidermidis* (35mm), *E. coli* (34mm) et *C. albicans* (31mm).

D'après **Berdy et al., (1987)**, près de 40% des antibiotiques synthétisés par l'ensemble des micro-organismes possèdent une activité antifongique et plus de la moitié de ces antifongiques possèdent également des activités antibactériennes. Ces activités sont dues probablement à la production d'antibiotiques et les enzymes lytiques (**Bubici et al., 2013**).

L'activité antibactérienne des isolats testés par **Baniya et al., (2018)** s'est montrée peu efficace contre les bactéries MDR dont seulement 14 isolats ont montré une activité inhibitrice contre les bactéries MDR. L'isolat NASA 101 a inhibé le *Staphylococcus aureus* résistant à la

méticilline, les isolats NASA 309, 312, 313, 321 ont inhibé l' tandis que les isolats NASA 304, 306, 307, 308, 318 ont inhibé *K. pneumoniae*. Ces isolats actifs produisent donc des substances de structures différentes aux antibiotiques classiques (**Baniya et al., 2018**).

Dans l'étude de **El karkouri et al., (2019)** La température d'incubation de 30°C a entraîné un nombre élevé d'isolats d'actinomycètes. Par rapport à 37°C. Plusieurs paramètres peuvent conditionner la synthèse et la production de ces molécules antimicrobiennes par les actinomycètes comme la composition du milieu de culture, la température et le temps d'incubation (**Shearer, 1989**). La température d'incubation varie en fonction de variétés de souches car chaque espèce présente une température idéale pour sa croissance et sa physiologie (**Shuler et Kargi, 1992**).

Après extraction et purification des métabolites secondaires secrétés par la nouvelle souche CG3, ils ont obtenu une faible quantité de kénalactames 2, Donc les composés 1, 3, 4 et 5 ont été testés pour leurs activités antimicrobiennes, cytotoxiques et antivirales contre le virus de l'hépatite C chez l'homme. Selon **Messaoudi et son équipe, (2019)** Les composés 3, 4 et 5 ont montrés des activités modérées à faibles contre *S. aureus* (CMI varie de 16.7 à 66.7 µg/mL) tandis que le composé 3 a également montré une activité antifongique modérée contre *C. albicans* et *Mucor hiemalis* avec une CMI de 66.7 µg/mL. Cependant ces molécules ont montré une activité cytotoxique intéressante surtout pour le composé c qui a était actif contre quatre ligné cancéreuse différente dont la plus forte activité a été remarqué contre la lignée PC-3 (cancer de la prostate humain avec une valeur de IC50 = 2.1 µm. Ils ont observés que les composés 3 à 5 ont une activité antivirale contre VHC, tandis que le composé 1 n'était pas actif. Dans une autre étude entamée par **Oh et al., (2011)** ils ont isolés un nouveau polyène macrolactame appelé lobosamide A à partir d'une actinobactérie marine du genre *Micromonospora* qui a montré une activité inhibitrice vis-à-vis la croissance du parasite protozoaire *Trypanosoma brucei*.

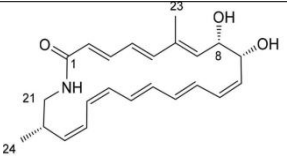
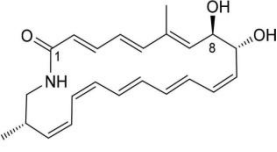
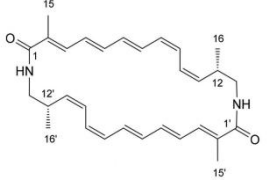
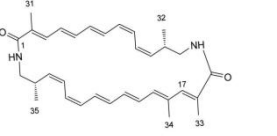
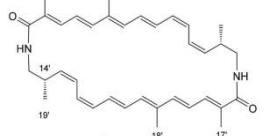
6. Extraction des molécules bioactives :

La production de l'antibiotique de différent isolats était effectuée sur le milieu ISP2 dans l'étude de **Harir et al., (2017)** et sur le milieu ISP3 dans l'étude de **Messaoudi et al., (2019)**. Qui s'avèrent les milieux les plus favorables pour la production de ces molécules antimicrobiens. l'extraction des antibiotiques était réalisé par des différents solvants organiques de polarité différente (**Harir, 2018**).

7. Identification des composés bioactifs :

Lors de dépistage de nouveaux métabolites secondaires biologiquement actifs, l'équipe de **Messaoudi et al., (2019)** ont analysés l'extrait de la nouvelle souche identifiée *Nocardioopsis becharensis* sp. nov. L'analyse par différentes techniques chromatographiques (LH, HPLC-UV-HRESIMS, RMN) a permis d'identifier cinq métabolites polyéniques inconnus, nommés kénalactames A-E. Les structures des cinq kénalactames sont présentées dans le **tableau 7**.

Tableau 7 : Structure et caractéristiques des composés Kénalactames bioactifs (**Messaoudi et al., 2019**).

Molécule	Formule	Structure	Caractéristiques
Kénalactame A	C ₂₃ H ₂₉ NO ₃		<ul style="list-style-type: none"> * Polyène principale. * 10 équivalents de double liaison. * 23 carbones.
Kénalactame B	C ₂₃ H ₂₉ NO ₃		<ul style="list-style-type: none"> * Un isomère structurellement apparenté au A. * La structure présenté même squelette carboné que A sauf C8 a été inversé.
Kénalactame C	C ₃₀ H ₃₈ N ₂ O ₂		<ul style="list-style-type: none"> * 13 équivalents de double liaison. * Spectre UV (λ 325, 329, et 338 nm)
Kénalactame D	C ₃₃ H ₄₂ N ₂ O ₂		<ul style="list-style-type: none"> * 14 équivalents de double liaison. * Spectre UV similaire à celui de C.
Kénalactame E	C ₃₆ H ₄₆ N ₂ O ₂		<ul style="list-style-type: none"> * 15 équivalents de double liaison. * Dimère de macrolactame.

Conclusion générale

Après avoir synthétisé les six articles, nous constatons que la recherche de nouveaux composés biologiquement actifs produits par les actinomycètes est toujours d'actualité en raison de l'augmentation de la résistance aux agents antimicrobiens.

Sur la base des études de **Harir et al., (2017)** ; **Viswanthan et Rebecca, (2017)** ; **Baniya et al., (2018)** ; **Messaoudi et al., (2019)** ; **El Karkouri et al., (2019)** et **Sapkota et al., (2020)**, les isolats d'actinomycètes prélevés dans différents environnements à travers le monde ont montrés des activités antimicrobiennes contre les différentes souches a testés.

Les travaux de **Harir et al., (2017)** ; **Viswanthan et Rebecca, (2017)** ont révélés la capacité des métabolites secondaires sécrétés par des isolats d'actinomycètes d'agir contre les bactéries Gram-positifs et Gram-négatifs, les champignons et les levures.

L'équipe de **Messaoudi et al., (2019)** ont découvert une nouvelle souche *Nocardiosis becharensis* sp. nov. qui synthétise cinq métabolites polyéniques (Kénalactames A-E) à différents activités antimicrobiens, antivirales et cytotoxiques. Aussi, les isolats d'actinomycètes dans l'étude de **Baniya et al., (2018)** capables de lutter les bactéries MDR.

D'autre part, l'étude d'**El karkouri et al., (2019)** a signalé l'importance de contrôler les conditions de croissance et les besoins nutritionnels des isolats d'actinomycètes pour trouver de nouvelles substances naturelles ayant des activité biologiques intéressantes. De plus, les mêmes résultats obtenus par **Sapkota et al., (2020)** ont montré l'activité des extraits d'isolats d'actinomycètes contre les bactéries.

Enfin, nous espérons exploiter les différents sources environnementales en particulier les régions extrêmes afin d'augmenter l'isolement des actinomycètes pour répondre à la demande de nouveaux antibiotiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Anandan, R., Dharumadurai, D., & Manogaran, G. P. (2016). An introduction to actinobacteria. In : Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications. Intechopen.

Al-Dhabi, N. A., Mohammed Ghilan, A. K., & Arasu, M. V. (2018). Characterization of silver nanomaterials derived from marine *Streptomyces* sp. al-dhabi-87 and its in vitro application against multidrug resistant and extended-spectrum beta-lactamase clinical pathogens. *Nanomaterials*, 8(5), 279.

Allan, E. J., & Prosser, J. I. (1983). Mycelial growth and branching of *Streptomyces coelicolor* A3 (2) on solid medium. *Journal of General Microbiology*, 129(7), 2029-2036.

Alexander, M. (1977). Introduction to soil microbiology. Wiley, New York. 480.

Aly, M. M., Tork, S., Al-Garni, S. M., & Nawar, L. (2012). Production of lipase from genetically improved *Streptomyces exfoliates* LP10 isolated from oil-contaminated soil. *African journal of microbiology research*, 6(6), 1125-1137.

Aouiche, A., Sabaou, N., Meklat, A., Zitouni, A., Bijani, C., Mathieu, F., & Lebrihi, A. (2012). *Saccharothrix* sp. PAL54, a new chloramphenicol-producing strain isolated from a Saharan soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(3), 943-951.

Ara, I., & Kudo, T. (2007). *Krasilnikovia* gen. nov., a new member of the family Micromonosporaceae and description of *Krasilnikovia cinnamonea* sp. nov. *Actinomycetologica*, 21(1), 1-10.

Araujo-Melo, R. D. O., de Oliveira, T. H. B., de Oliveira, C. V. J., de Araújo, J. M., de Sena, K. X., & Coelho, L. C. B. B. (2019). Actinobacteria: a renewable source of bioactive molecules with medical, industrial and pharmacological importance. *Advances and Trends in Biotechnology and Genetics*, 1, 63-79.

Austen, P. B. M. C., Bilton, D. T., Lamshead, P. J. D., Rogers, A. D., & Smerdon, G. R. (2006). Molecular detection of marine nematodes from environmental samples: overcoming eukaryotic interference. *Aquatic Microbial Ecology*, 44(1), 97-103.

Bh

Balagurunatha, R., Radhakrishnon, M., Somasumdarom, S. T. (2010). L-glutaminase Producing Actinomycetes from marine sediments-selective isolation, semi quantitative assay and characterization of potential strain. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4, 698-705.

Baniasadi, F., Shahidi, G. H., & Nik, A. K. (2009). In Vitro Petroleum Decomposition by Actinomycets Isolated from Petroleum Contaminated Soils. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 6(3), 268-270.

Baniya, A., Singh, S., Singh, M., Nepal, P., Adhikari, M., Aryal, S., & Adhikari, A. (2018). Isolation and screening of antibiotics producing *Streptomyces* spp from the soil collected around the root of *Alnus nepalensis* from Godawari. *Nepal Journal of Biotechnology*, 6(1).

Bastide, A., De Méo, M., Andriantsoa, M., Laget, M., & Duménil, G. (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. *MIRCEN journal of applied microbiology and biotechnology*, 2(4), 453-466.

Bawazir, A. M. A., & Shantaram, M. (2018). Ecology and distribution of actinomycetes in nature - a review. *International Journal of Current Research*, 10(7), 71664-71668.

Beckers, H. J., & Van der Hoeven, J. S. (1982). Growth rates of *Actinomyces viscosus* and *Streptococcus mutans* during early colonization of tooth surfaces in gnotobiotic rats. *Infection and Immunity*, Vol. 35(2), 583-587.

Bennamoun, L. (2017). Isolement, sélection de souches levuriennes de sols arides sahariens (El-M'gheir) productrices de polygalacturonase : purification et caractérisation enzymatique. Th. doct : Biochimie et Microbiologie Appliquées : Université des Frères Mentouri-Constantine 1. 37-40.

Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of antibiotics*, 58(1), 1-26.

Berdy, J., Azalos, A., & Mc Nitt, K. L. (1987). Microbial Metabolites, Parts 1, 2, 3. Vol. XIII, In *CRC Handbook of antibiotic compounds*. CRC Press, Boca Raton.

Berezin, V., Abdukhakimova, D., Trenochnikova, L., Bogoyavlenskiy, A., Turmagambetova, A., Issanov, A., & Azizan, A. (2019). Antiviral activities of extremophilic actinomycetes extracts from Kazakhstan's unique ecosystems against influenza viruses and paramyxoviruses. *Virology journal*, 16(1), 1-16.

Berk, Z. (2018). Chapitre 11 - Extraction In : *Food process engineering and technology*. Academic press. United States. 289-310.

Bouaziz, S. (2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Th. doct : Biologie : Université Kasdi Merabah Ouargla.

Boudmagh, A. (2006). Isolement à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Th. doct : Microbiologie appliquée : Université Mentouri Constantine.

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.

Brelière, B., Cerrato, M., Martinez, A., & Virginie Romoli. (2009). Microbiologie et les savoirs en situation. Hachette Technique. France. 26.

Breton, A., Theilleux, J., Sanglier, J. J., & Vobi, G. (1989). Organismes producteurs: biologie, taxonomie et écologie. In: *Biotechnologie des antibiotiques*. Larpent, J. P. and Sanglier, J. J. Paris, Masson, 33-70.

Bubici G., Marsico A.D., D'Amico M., Amenduni M., and Cirulli M. (2013) Evaluation of *Streptomyces* spp. For the biological control of corky root of tomato and *Verticillium* wilt of eggplant, *Appl Soil Ecology*, 72, 128-134.



Chamikara, P. (2016) Advanced Study on selected taxonomic groups of Bacteria and Archaea Actinomycetes.

Choulet, F. (2006). Evolution du génome des *Streptomyces* : transfert horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Th. doct : Université Henri Poincaré, Nancy 1. France. 210.

Cesur, S., & Demiröz, A. P. (2013). Antibiotics and the mechanisms of resistance to antibiotics. *Medical journal of islamic world academy of sciences*, 109(1007), 1-5.

Cross, T., & Goodfellow, M. (1973). Taxonomy and classification of the actinomycetes. *Society for Applied Bacteriology symposium series*, 2, 11-112.

Cui, Q., Wang, L., Huang, Y., Liu, Z., & Goodfellow, M. (2005). *Nocardia jiangxiensis* sp. nov. and *Nocardia miyunensis* sp. nov., isolated from acidic soils. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(5), 1921-1925.



Dastager, S. G., Dayanand, A., Li, W. J., Kim, C. J., Lee, J. C., Park, D. J., Tian, X. P., & Raziuddin, Q. S. (2008). Proteolytic Activity from an Alkali-Thermotolerant *Streptomyces gulbargensis* sp. nov. *Current microbiology*, 57(6), 638-642.

Davies-Bolorunduro, O. F., Adeleye, I. A., Akinleye, M. O., & Wang, P. G. (2019). Anticancer potential of metabolic compounds from marine actinomycetes isolated from Lagos Lagoon sediment. *Journal of pharmaceutical analysis*, 9(3), 201-208.

Delarras, C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Editions Médicales Internationales. Paris.

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

Demain, A. L., & Sanchez, S. (2009). Microbial drug discovery : 80 years of progress. *The Journal of antibiotics*, 62(1), 5-16.

Desjardin V. (2002). Réduction du chrome (VI) par la souche *Streptomyces thermocarboxyodus* NH50 isolée à partir d'un sol pollué. Th. doct : Sciences et Techniques du Déchet : École doctorale de Chimie de Lyon. France. 247.

Dholakiya, R. N., Kumar, R., Mishra, A., Mody, K. H., & Jha, B. (2017). Antibacterial and antioxidant activities of novel actinobacteria strain isolated from Gulf of Khambhat, Gujarat. *Frontiers in microbiology*, 8, 2420.

Diop, C. A. K. (1998). Synthèse et étude par spectroscopie infrarouge, RAMAN, Mossbauer, RMN et par diffraction aux rayons X de quelques dérivés organostanniques de type $(\text{Sn Ph}_3)_n$ ($n= 1,2,3$; $A=$ oxoanion) et de leur interaction avec les bases de Lewis, complexes organostanniques de SnCl_4 , de l'ion hydrogéoarséniate et contenant Sb_2Cl_8 . Th. doct : Sciences physiques (mention chimie de coordination inorganique) : Faculté des Sciences et Techniques : Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Sénégal.

Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2009). A Textbook of Microbiology.10th, New Delhi, Rajendra Ravindra.

Dynia, Z. M., & Sztaricskai, F. J. (1986). Ultraviolet and light spectrometry. In : A modern analysis of antibiotics. Aszolas. A. Eds, Marcel. Dekker. inc New York, 19-96.



Eccleston, G. P., Brooks, P. R., & Kurtböke, D. I. (2008). The occurrence of bioactive micromonosporae in aquatic habitats of the Sunshine Coast in Australia. *Marine drugs*, 6(2), 243-261.

El Karkouri, A., Assou, S. A., & El Hassouni, M. (2019). Isolation and screening of actinomycetes producing antimicrobial substances from an extreme Moroccan biotope. *The Pan African Medical Journal*, 33.

El-Tarabily, K. A., Soliman, M. H., Nassar, A. H., Al-Hassani, H. A., Sivasithamparam, K., McKenna, F., & Hardy, G. S. J. (2000). Biological control of *Sclerotinia minor* using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. *Plant pathology*, 49(5), 573-583.

Ensign, J. C., Normand, P., Burden, J. P., & Yallop, C. A. (1993). Physiology of some actinomycete genera. *Research in microbiology*, Vol. 144(8), 657-660.

Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res*, 4(2016), 90-101.



Fang, B. Z., Salam, N., Han, M. X., Jiao, J. Y., Cheng, J., Wei, D. Q., Xiao, M., & Li, W. J. (2017). Insights on the effects of heat pretreatment, pH, and calcium salts on isolation of rare Actinobacteria from karstic caves. *Frontiers in microbiology*, 8, 1535.

Farris, M. H., & Olson, J. B. (2007). Detection of Actinobacteria cultivated from environmental samples reveals bias in universal primers. *Letters in applied microbiology*, 45(4), 376-381.

Fjærvik, E., & Zotchev, S. B. (2005). Biosynthesis of the polyene macrolide antibiotic nystatin in *Streptomyces noursei*. *Applied microbiology and biotechnology*, 67(4), 436-443.

Flårdh, K., & Buttner, M. J. (2009). *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nature Reviews Microbiology*, 7(1), 36-49.



Getha, K & Vikineswary, S. (2005). Evaluation of *Streptomyces* sp. strain g10 for suppression of Fusarium wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(1), 24-32.

Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Suzuki, K. I., Ludwig, W., & Whitman, W. B. (2012). *Bergey's manual® of systematic bacteriology : Volume five the actinobacteria, part a.* Springer New York. 171-206.

Grandhimathi, R., Arunkumar, M., Selvin, J., Thangavelu T., Sivaramakrishnen S., & Kiran G.S, (2007). Potentiel antimicrobien d'actinomycètes marins associés aux éponges. *Journal of Medical Mycology*, 18, 16-22

Grigorova, R., & Norris, J. R. (1990). *Methods in microbiology* ,vol 22 : Technique in microbial Ecology.

Guggisberg, A., & Hesse, M. (2003). Alkaloids In : *Encyclopedia of Physical Science and Technology* (Third Edition). Elsevier Science Ltd. 477-493.



Haas, D. (2015). Métabolisme secondaire de *Streptomyces* ambofaciens : exploration génomique et étude du groupe de gènes dirigeant la synthèse du sphydrofurane. Th. doct : Biochimie, Biologie Moléculaire : Université Paris Sud. France.

Harir, M. (2018). Caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d'actinobactéries isolées des sols arides et semi arides d'Algérie. Th. doct : Biotechnologie : Université d'Oran Ahmed Ben Bella.

Harir, M., Bellahcene, M., Fortas, Z., G., Grazcía-Arenzana, J. M., Veloso, A., & Rodríguez-Couto, S. (2017). Isolation and characterization of actinobacteria from Algerian sahara soils with antimicrobial activities. *International journal of molecular and cellular medicine*, 6(2), 109.

Hassane, S. O. S., Ghanmi, M., Satrani, B., Mansouri, N., Mohamed, H., El Hajaji, H., & Chaouch, A. (2011). Composition chimique et activités antibactériennes, antifongiques et antioxydante de l'huile essentielle de *Pelargonium asperum* Ehrh. ex Wilde des Comores. *Acta botanica gallica*, 158(2), 225-237.

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

Hayakawa, M., Yoshida, Y., & Iimura, Y. (2004). Selective isolation of bioactive soil actinomycetes belonging to the *Streptomyces violaceusniger* phenotypic cluster. *Journal of Applied Microbiology*, 96(5), 973-981.

Hilali, L., Khattabi, A., Nssarlah, N., Maliki, A., & Finance, C. (2002). Isolement des nouvelles souches d'Actinomycètes productrices de substances antifongiques à partir du milieu naturel marocain. *Rev. biol. Biotechnol*, 2(1), 49-53.

Hsu, C. P. S. (1997). Infrared spectroscopy In : Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry. Frank A. Settle, editor. United States. 247-277.



Jackson, S. A., Crossman, L., Almeida, E. L., Margassery, L. M., Kennedy, J., & Dobson, A. D. (2018). Diverse and abundant secondary metabolism biosynthetic gene clusters in the genomes of marine sponge derived *Streptomyces* spp. isolates. *Marine drugs*, 16(2), 67.

Jeffrey, L. S. H. (2008). Isolation, characterization and identification of actinomycetes from agriculture soils at Semongok, Sarawak. *African Journal of Biotechnology*, 7(20).

Jiang, Y., Li, Q., Chen, X., & Jiang, C. (2016). Isolation and cultivation methods of Actinobacteria. *Actinobacteria–Basics and Biotechnological Applications*, 39-57.

Jose, P. A., Maharshi, A., & Jha, B. (2021). Actinobacteria in natural products research: Progress and prospects. *Microbiological Research*, 126708.

Jufri, R. F. (2020). Microbial Isolation. *Journal La Lifesci*, 1(1), 18-23.



Kaur, N., & Ritika. (2018). A review of thin layer chromatography : forensic analytical technique. *Pramana Research Journal*, 8(5), 126-132.

Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J. F., & Lumyong, S. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp isolated from some Thai medicinal plant rhizospheres soil. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4, 23-32.

Khanna, M., Solanki, R., & Lal, R. (2011). Selective isolation of rare actinomycetes producing novel antimicrobial compounds. *Int J Adv Biotechnol Res*, 2(3), 357-75.

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. Th. doct : Microbiologie appliquée. Université Mentouri-Constantine.

Krishnan, V. V. (2019). Molecular thermodynamics using nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. *Inventions*, 4(1), 1.



Larpent, J. P., & Sanglier, J. J. (1989). *Biotechnologie des antibiotiques*. Masson, Paris, 481.

Lee, L. H., Chan, K. G., Stach, J. E. M., Wellington, E. M., & Goh, B. H. (2018). The search for biological active agent (s) from actinobacteria. *Frontiers in microbiology*, 9, 824.

Lechevalier, M. P., & Lechevalier, H. (1970). Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 20(4), 435-443.

Leminor, L., & Véron, M. (1989). *Bactériologie médicale* (2ème édition). Flammarion médecine-sciences, Paris. 335-349.

Lemriss, S., Laurent, F., Couble, A., Casoli, E., Lancelin, J. M., Saintpierre-Bonaccio, D., Rifai, S., Fassouane, A., & Boiron, P. (2003). Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Canadian journal of microbiology*, 49(11), 669-674.

Lewin, G. R., Carlos, C., Chevrette, M. G., Horn, H. A., McDonald, B. R., Stankey, R. J., Fox, B. G., & Currie, C. R. (2016). Evolution and ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications. *Annual review of microbiology*, 70, 235-254.

Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016). Morphological identification of actinobacteria. *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. Rijeka, Croatia : InTech, 59-86.

Li S., Tian X., Niu S., Zhang W., Chen Y., Zhang H., Yang X., Zhang W., Li W., Zhang S., Ju J. and Zhang C., (2011). Pseudonocardians A–C, New Diazaanthraquinone Derivatives from a Deep-Sea Actinomycete *Pseudonocardia* sp. SCSIO 01299. *Mar. Drugs* 2011, 9, 1428-1439; doi:10.3390/md9081428

Lindenfelser, L. A., Shotwell, O. L., Bachler, M. J., Shannon, G. M., & Pridham, T. G. (1964). Antibiotics against plant disease: VIII. screening for nonpolyenic antifungal antibiotics produced by streptomycetes. *Applied microbiology*, 12(6), 508-512.

Lobel, B., & Soussy, C. (2007). *Les infections urinaires*. Springer science & Business media.

Locci, R. (2005). Actinomycete spores. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Inc., Chichester, England.

Locci R & Sharples GP. (1984). Morphology. In: Goodfellow M, Mordarski MM, Williams ST.(Eds.) *The Biology of the Actinomycetes*. Academic Press, London. 165–199.

Lozniewski, A., & Rabaud, C. N. (2010). Bacterial antibiotic resistance. *Lyon: CCLIN Sud-Est*.

M

Maier, T., Klepel, S., Renner, U., & Kostrzewa, M. (2006). Fast and reliable maldi-tof ms-based microorganism identification. *Nature Methods*, 3(4), i-ii.

Maiti, P. K., Das, S., Sahoo, P., & Mandal, S. (2020). *Streptomyces* sp SM01 isolated from Indian soil produces a novel antibiotic picolinamycin effective against multi drug resistant bacterial strains. *Scientific reports*, 10(1), 1-12.

Manivasagan, P., Kang, K. H., Sivakumar, K., Li-Chan, E. C., Oh, H. M., & Kim, S. K. (2014). Marine actinobacteria : an important source of bioactive natural products. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(1), 172-188.

Mariat F., Sebald M., (1990). « Les actinomycètes » In : Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-science. Flammarion, France.

Mayfield, C. I., Williams, S. T., Ruddick, S. M., & Hatfield, H. L. (1972). Studies on the ecology of actinomycetes in soil IV. Observations on the form and growth of streptomycetes in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 4(1), 79-91.

Merouane, F. (2016). Extraction, purification et caractérisation des lectines produites par la souche *Micromonospora aurantiaca* GF44c, et tests biologiques. Th. doct : Biotechnologies Microbiennes, Génomes et Environnement: Université des Frères Mentouri Constantine.

Messaoudi, O. (2020). Isolement et caractérisation de nouvelles molécules bioactives à partir d'actinomycètes isolés du sol algérien. Th. doct : Microbiologie appliqué : Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

Messaoudi, O., Sudarman, E., Bendahou, M., Jansen, R., Stadler, M., & Wink, J. (2019). Kenalactams A–E, polyene macrolactams isolated from nocardiosis CG3. *Journal of natural products*, 82(5), 1081-1088.

Miguélez, E. M., Hardisson, C., & Manzanal, M. B. (2000). Streptomycetes: a new model to study cell death. *International microbiology*, 3(3), 153-158.

Mukhtar S., Ahmad Zaheer., Dalaq Aiysha., Kauser Abdulla Malik., & Samina Mehnaz. (2017). Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 10, 316-319.

Mukhopadhyay, D., Howell, K. S., Riezman, H., & Capitani, G. (2008). Identifying key residues of sphinganine-1-phosphate lyase for function in vivo and in vitro. *Journal of Biological Chemistry*, 283(29), 20159-20169.



Nakashima, T., Miyano, R., Iwatsuki, M., Shirahata, T., Kimura, T., Asami, Y., Kobayashi, Y., Shiomi, K., Petersson, G. A., Takahashi, Y., & Ōmura, S. (2016). Iminimycin A, the new iminium metabolite produced by *Streptomyces griseus* OS-3601. *The Journal of antibiotics*, 69(8), 611-615.

Nathan, J., & Kannan, R. R. (2020). Antiangiogenic molecules from marine actinomycetes and the importance of using zebrafish model in cancer research. *Heliyon*, 6(12), e05662.

Nozawa, Y., Sakai, N., Arai, K., Kawasaki, Y., & Harada, K. I. (2007). Reliable and sensitive analysis of amino acids in the peptidoglycan of actinomycetes using the advanced Marfey's method. *Journal of microbiological methods*, 70(2), 306-311.



Oh, D. C., Poulsen, M., Currie, C. R., & Clardy, J. (2011). Sceliphrolactam, a polyene macrocyclic lactam from a wasp-associated *Streptomyces* sp. *Organic letters*, 13(4), 752-755.

Onaka, H. (2017). Novel antibiotic screening methods to awaken silent or cryptic secondary metabolic pathways in actinomycetes. *The Journal of antibiotics*, 70(8), 865-870.

Ouhdouch, Y., Barakate, M., & Finance, C. (2001). Actinomycetes of Moroccan habitats: isolation and screening for antifungal activities. *European Journal of Soil Biology*, 37(2), 69-74.



Pandey, B., Ghimire, P., & Agrawal, V. P. (2004). Studies on the antibacterial activity of the Actinomycetes isolated from the Khumbu Region of Nepal. *J. Biol. Sci*, 23, 44-53.

Patel, R. S., Roy, M., & Dutta, G. K. (2012). Mass spectrometry-A review. *Veterinary World*, 5(3).

Prescott L. M., Harley J. P., & Klein D. A. (2003). Microbiologie. De Boeck et Larcier. France.

Prescott, Willey J., Sherwood L. M., Woolverton C., (2013). Microbiologie. 4ème édition, de boeck, Paris, 1070.

Pridham, T. G., & Gottlieb, D. (1948). The utilization of carbon compounds by some Actinomycetales as an aid for species determination. *Journal of bacteriology*, 56(1), 107-114.

Priyanka, S., Jayashree, M., Shivani, R., Anwasha, S., & Rao, K. B. (2019). Characterisation and identification of antibacterial compound from marine actinobacteria: In vitro and in silico analysis. *Journal of infection and public health*, 12(1), 83-89.

Prudence, S. M., Addington, E., Castaño-Espriu, L., Mark, D. R., Pintor-Escobar, L., Russell, A. H., & McLean, T. C. (2020). Advances in actinomycete research: an ActinoBase review of 2019. *Microbiology*, 166(8), 683-694.

Pullen C., Schmitz P., Meuer K., Bamberg D. D., Lohman S., De Castro França S. (2002). New and bioactive compounds from Streptomyces strain residing in the wood of Celastraceae. *Planta*. 16. 162-16.



Rangaswami. G., & Bagyaraj. D. J. (2004). Agricultural Microbiology. PHI : New Delhi. 440.

Rastogi, V. B., & Kishore, B. (1997). *A complete course in ISC biology*. Pitambar Publishing, New Delhi. 592.

Raveh, A., Delekta, P. C., Dobry, C. J., Peng, W., Schultz, P. J., Blakely, P. K., Tai, A. W., Matainaho, T., Irani, D. N., Sherman, D. H., & Miller, D. J. (2013). Discovery of potent broad spectrum antivirals derived from marine actinobacteria. *PloS one*, 8(12), e82318.



Saffroy S. (2006). Etude du métabolisme carboné chez Streptomyces pristinaespiralis. Th. doct : Procédés biotechnologiques et alimentaires : Institut nationale polytechnique de Lorraine. France. 150.

Saker, R. (2015). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Th. doct : Microbiologie : Faculté des sciences de la Nature et de la Vie : Université Farhat Abbas Sétif 1.

Sapkota, A., Thapa, A., Budhathoki, A., Sainju, M., Shrestha, P., & Aryal, S. (2020). Isolation, characterization, and screening of antimicrobial-producing actinomycetes from soil samples. *International journal of microbiology*, 2020.

Sarkar, S. D., Nahar, L. (2015). Chapter 19 - Applications of High Performance Liquid Chromatography in the Analysis of Herbal Products In : Evidence-based validation of herbal medicine. Elsevier. 405-425.

Sharma, M., Dangi, P., & Choudhary, M. (2014). Actinomycetes: source, identification, and their applications. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 3(2), 801-832.

Schäfer, J., Jäckel, U., & Kämpfer, P. (2010). Development of a new PCR primer system for selective amplification of Actinobacteria. *FEMS microbiology letters*, 311(2), 103-112.

Shearer, M. C. (1987). Methods for the isolation of non-sptreptomycete actinomycetes. *Developments in industrial microbiology*, 28, 91-97.

Shearling et Gottlieb. (1966). Methods, Classification Identification and Description of Genera and Species. The william and wilkin compagny, Baltimore, MD. USA. 61-292.

Shirling, E. B., & Gottlieb, D. (1976). Retrospective evaluation of International Streptomyces Project taxonomic criteria. *Actinomycetes: the Boundary Microorganisms*. Ed : Arai T. Tokyo. 9-42.

Shrestha, B., Nath, D. K., Maharjan, A., Poudel, A., Pradhan, R. N., & Aryal, S. (2021). Isolation and Characterization of Potential Antibiotic-Producing Actinomycetes from Water and Soil Sediments of Different Regions of Nepal. *International journal of microbiology*, 2021.

Shuler, M. L., Kargi F. (1992). Bioprocess engineering. New Jersey. Prentice-Hall Inc.

Siddharth, S., Vittal, R. R., Wink, J., & Steinert, M. (2020). Diversity and bioactive potential of actinobacteria from unexplored regions of Western Ghats, India. *Microorganisms*, 8(2), 225.

Simon P., Meunier R. (1970). Microbiologie industrielle et génie biochimique. 452.

Smaoui, S. (2010). Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Th. doct : Génie de Procédés et Environnement : Université de Toulouse.

Stackebrandt, E., Rainey, F. A., & Ward-Rainey, N. L. (1997). Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(2), 479-491.

Strub, C. (2008). Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrix algeriensis*. Th. Doct : Génie de Procédés et de l'Environnement : Université de Toulouse INP-ENSAT. France.



Takami, H., Inoue, A., Fuji, F., & Horikoshi, K. (1997). Microbial flora in the deepest sea mud of the Mariana Trench. *FEMS Microbiology Letters*, 152(2), 279-285.

Theilleux, J. In Levreau, J.Y., Bouix, M. (1993). Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Lavoisier, Paris. Ch : 6 : 425–481. Technique et documentation. Lavoisier. Paris.

Tiwari, D., Bhati, P., Das, P., & Shouch, S. (2018). Potential of actinomycetes as bioremediating and biocontrolling agents. *International Journal of Biomedical Engineering*, 3(2), 25-37.

Tortora, G., Funke, B., Case, C. (2012). Introduction à la microbiologie (2 ème édition). Éditions du Renouveau pédagogique, Saint-Laurent (QC). 152-408.



Van Bambeke, F., & Pharm, P. P. (2007). Pharmacologie et Pharmacothérapie anti-infectieuse. *Syllabus Natl Belge Pharmacol*, 2008, 1.

Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., & van Sinderen, D. (2007). Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and molecular biology reviews*, 71(3), 495-548.

Viswanathan, K., & Rebecca, L. J. (2017). Antimicrobial Activity of Marine Actinomycetes against Human Pathogenic Bacteria. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(11), 2086-2088.



Walker, D., & Colwell, RR. (1975). Factors affecting enumeration and isolation of actinomycetes from Chesapeake Bay and Southeastern Atlantic Ocean sediments. *Marine Biology*, 30(1), 193-201.

Wang, Y., & Jiang, Y. (2016). Chemotaxonomy of actinobacteria. *Actinobacteria—basics and biotechnological applications*. Dhanasekaran. InTech. doi, 10, 61482.

Wieser, A., Schneider, L., Jung, J., & Schubert, S. (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied microbiology and biotechnology*, 93(3), 965-974.

Williams, S. T., & Davies, F. L. (1965). Use of antibiotics for selective isolation and enumeration of actinomycetes in soil. *J. gen. Microbiology*, 38(2), 251-261.

Williams, S. T., Goodfellow, M., & Alderson G. (1989). Genus *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943.339AL. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins Company, Baltimore. 4. 2452-2492.

Wink, J., Mohammadipanah, F., & Hamedi, J. (2017). *Biology and biotechnology of actinobacteria*. Berlin. Springer International Publishing.



Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Ouar korichi, M. N. (2001). Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, n°91.



Zhi, X. Y., Li, W. J., & Stackebrandt, E. (2009). An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(3), 589-608.

Zitouni, A., Boudjella, H., Mathieu, F., Sabaou, N., & Lebrihi, A. (2004). Mutactimycin PR, a new anthracycline antibiotic from *Saccharothrix* sp. SA 103 I. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Biological Activities. *The Journal of antibiotics*, 57(6), 367-372.

ANNEXES

Isolation and Characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara Soils with Antimicrobial Activities

Harir Mohamed^{1,3}, Bellahcene Miloud², Fortas Zohra¹, José María García-Arenzana⁴,
Antonio Veloso⁵, Susana Rodríguez-Couto^{6,7*}

1. *Biology of Microorganisms and Biotechnology Laboratory, University of Oran 1 Ahmed Ben Bella, Oran, Algeria.*

2. *Faculty of Sciences, Natural and Life Sciences Department, Mohamed Boudiaf University, M'sila, Algeria.*

3. *Institut of Sciences, Faculty of Sciences, Natural and Life Sciences Department, University Center of Ain Temouchent, Temouchent, Algeria.*

4. *Microbiología, Hospital Universitario Donostia, Donostia-San Sebastián, Spain.*

5. *POLYMAT, University of the Basque Country UPV/EHU, Donostia-San Sebastian, Spain.*

6. *Ceit-IK4, Water & Health Division, Donostia-San Sebastian, Spain.*

7. *IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain.*

Submitted 27 April 2017; Accepted 29 June 2017; Published 11 July 2017



K.Viswanathan et al/J. Pharm. Sci. & Res. Vol. 9(11), 2017, 2086-2088

ISSN:0975-1459

Journal of Pharmaceutical
Sciences and Research

www.jpssr.pharmainfo.in

Antimicrobial Activity of Marine Actinomycetes against Human Pathogenic Bacteria.

K.Viswanathan* and L.Jeyanthi Rebecca

Department of Industrial Biotechnology, Bharath University, Chennai, Tamilnadu, India

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Isolation and Screening of Antibiotics Producing *Streptomyces* spp from the Soil Collected around the Root of *Alnus nepalensis* from Godawari

Amina Baniya^{1,2}, Sushma Singh^{1,2}, Minu Singh^{1,2}, Pragya Nepal¹, Mahesh Adhikari¹, Sagar Arya², Anurag Adhikari^{2*}

¹ Asian Institute of Management and Technology, Lalitpur, Nepal

² Kathmandu Research Institute for Biological Sciences, Lalitpur, Nepal

JOURNAL OF
NATURAL
PRODUCTS

Cite This: *J. Nat. Prod.* XXXX, XXX, XXX–XXX

Article

pubs.acs.org/jnp

Kenalactams A–E, Polyene Macrolactams Isolated from *Nocardiosis* CG3

Omar Messaoudi,^{†,‡,§} Enge Sudarman,^{†,||} Mourad Bendahou,[‡] Rolf Jansen,^{†,||} Marc Stadler,^{†,||} and Joachim Wink^{*,†,||}


[†]Microbial Strain Collection, Helmholtz Centre for Infection Research GmbH (HZI), Inhoffenstrasse 7, 38124 Braunschweig, Germany

[‡]Laboratory of Applied Microbiology in Food and Environment, Abou bekr Belkaïd University, Tlemcen, Algeria

[§]Department of Biology, Faculty of Science, University of Amar Telidji, Laghouat, Algeria

[†]Department Microbial Drugs, Helmholtz Centre for Infection Research GmbH (HZI), Inhoffenstrasse 7, 38124 Braunschweig, Germany

^{||}German Centre for Infection Research Association (DZIF), Partner site Hannover-Braunschweig, Inhoffenstrasse 7, 38124 Braunschweig, Germany

 Supporting Information

Research

Isolation and screening of actinomycetes producing antimicrobial substances from an extreme Moroccan biotope



Abdenbi El Karkouri^{1,*}, Soumia Ait Assou², Mohammed El Hassouni²

¹Team of Biotechnology and Environment, Natural Resources and Environment Laboratory, Department of Biology Chemistry Geology, Polydisciplinary Faculty of Taza, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez 30050, Morocco, ²Team of Microbial Biotechnology, Biotechnology Laboratory, Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, Department of Biology, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez 30050, Morocco

*Corresponding author: Abdenbi El Karkouri, Team of Biotechnology and Environment, Natural Resources and Environment Laboratory, Department of Biology Chemistry Geology, Polydisciplinary Faculty of Taza, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez 30050, Morocco

Key words: Actinomycetes, antimicrobial assay, saline environment

Received: 03/05/2019 - Accepted: 14/08/2019 - Published: 29/08/2019

Hindawi
International Journal of Microbiology
Volume 2020, Article ID 2716584, 7 pages
<https://doi.org/10.1155/2020/2716584>



Research Article

Isolation, Characterization, and Screening of Antimicrobial-Producing Actinomycetes from Soil Samples

Anupama Sapkota,¹ Aishwarya Thapa,¹ Anupa Budhathoki,¹ Muskan Sainju,¹ Prativa Shrestha,¹ and Sagar Aryal^{1,2}

¹Department of Microbiology, St. Xavier's College, Maitighar, Kathmandu, Nepal

²Department of Natural Products, Kathmandu Research Institute for Biological Sciences, Lalitpur, Nepal

Correspondence should be addressed to Sagar Aryal; sag.micro@gmail.com

Received 16 October 2019; Accepted 10 March 2020; Published 27 March 2020

Academic Editor: Clemencia Chaves-López

Copyright © 2020 Anupama Sapkota et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.