

*N° d'Ordre :*

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

# *Mémoire*

*De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master*

*Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)*

*Filière : Sciences biologiques*

*Spécialité : Biotechnologie microbienne*

*Intitulé du thème :*

## **Isolement et sélection de souches d'Actinomycètes productrices d'antibiotiques.**

Présenté par : **Melle** Haddi Dounia

**Melle** Hadjadji Fatima

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury: <b>Mr</b>	<b>BENINE.M.A</b>	(M.C.A/ UDL/SBA)
Examineur : <b>Mme</b>	<b>CHAMA.Z</b>	(M.C.B/ UDL/SBA)
Examineur : <b>Mme</b>	<b>ZEMRI.K</b>	(M.C.A/ UDL/SBA)
Promoteur : <b>Melle</b>	<b>KANOUN.K</b>	(M.C.A/ UDL/SBA)
Co-Promoteur : <b>Mme</b>	<b>BOUCHOUICHA.S</b>	(Doctorant/ UDL/SBA)

**Année universitaire 2019 - 2020**

**Session : « Septembre »**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## REMERCIEMENTS

Au terme de ce modeste travail, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience de réaliser ce travail.

Je tiens à remercier avant tous mon encadreur Dr **KANOUN.K**, qui a accepté de superviser ce travail pour ses conseils, sa disponibilité et son sérieux dans le travail. Qu'elle reçoive l'expression de ma vive gratitude.

Nos remerciements vont aussi à mon Co- encadreur madame **BOUCHOUICHA.S** pour son appui scientifique, sa rigueur, ses conseils, sa disponibilité.

Mes sincères considérations et remerciements vont également aux membres du jury : M<sup>r</sup> **BENINE** qui m'a fait l'honneur de présider ce jury, M<sup>me</sup> **ZEMRI** et M<sup>me</sup> **CHAMA** qui ont accepté de faire partie de ce jury, d'examiner ce travail et consacrer de leur temps précieux pour l'évaluation de ce modeste travail.

À toutes la promotion de « Biotechnologie Microbienne » et les ingénieurs du laboratoire de microbiologie appliqué.

Je tiens à exprimer mes sentiments de reconnaissance à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail, et qui m'ont appris une infinité de choses et m'ont aidé, conseillé et soutenu de manière continue afin de mener ce travail dans les meilleures conditions.



## Dédicace

Avec l'aide du tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

À

mes chers parents

À

Mes deux frères, Mohamed et Redwane,

Mes sœurs Nacira, fatiha et yakout

À

Mes amis Nadjia, Houaria, Tinhinéne, Lilia, Djamila, Fatima, Oum elkheir, Nour elhouda, Mahdjouba et surtout mes très chères sœurs Ikram et Feriel, pour tous

les bons moments que nous avons partagés.

À

Tous les membres de ma famille sans oublier mes cousines Fatima et Souad.

**Donia Haddi.**



## Dédicace

*Après avoir remercié « ALLAH » le tout puissant qui m'a aidé d'accomplir mes études, je tiens à dédier ce modeste travail à ceux qui m'ont aidé à affronter cette vie, ceux qui je ne réussirais jamais à les remercier, À ceux que je porte toujours dans mon cœur ;*

*Mon très cher père, qui m'a soutenu, protégé, et encouragé tout le long de ma vie. Merci*

*Ma très chère mère qui m'a donné beaucoup d'affection et d'amour toute au long de ma vie. Merci*

*À mes frères et mes sœurs qui ont veillé sur moi avec leurs grands cœurs.*

*À mon oncle et ses fils, mes amis, ma famille pour leur appui et leurs encouragements.*

***Fatima.***

## RESUME

Devant la recrudescence des infections bactériennes, la résistance est rapide de plus en plus, ce qui provoque des insuffisances de la thérapeutique antibactérienne, ou des échecs thérapeutiques. Ces raisons font l'objectif de chercher des nouvelles molécules à activité antibactérienne.

Au cours de notre travail nous nous sommes intéressés à la recherche des microorganismes producteurs de molécules bioactive à partir de L'échantillons du sol.

Le prélèvement du sol est suivi par des isolements sélectifs des Actinomycètes, 53 souches devraient être isolées, respectivement. Les isolats qui devraient être retenus sont ceux des genres *Streptomyces*.

Le test d'activité antimicrobienne devrait être effectué contre les bactéries pathogènes suivantes :

- *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, et une levure : *Candida albicans*.

Les souches actives devraient montrer une forte activité inhibitrice vis-à-vis des microorganismes pathogènes, avec des diamètres des zones d'inhibition qui varient entre 07 et 22 mm pour les Actinomycètes.

Les écosystèmes Algériens abritent une variété intéressante de microorganismes qui peuvent être une source prodigieuse de molécules antimicrobiennes d'une grande diversité.

**Mots clés** : Sol, Actinomycètes, activité antimicrobienne, méthode de diffusion sur agar.

## Abstract

With the upsurge of bacterial infections, the resistance of antibiotics is rapidly increasing, which causes inadequacies of antibacterial therapy, or therapeutic failures. These reasons make the goal of looking for new molecules with antibacterial activity.

During our work, we were interested to search for the microorganisms producing bioactive molecules from soil samples.

The soil sampling is followed by selective isolations of Actinomycetes, 53 strains should be isolated, respectively. The isolates, which should be retained, are those of the genera *Streptomyces*.

The antimicrobial activity test should be performed against the following pathogenic bacteria:

- Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Micrococcus luteus, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, and a yeast: Candida albicans.

The active strains should show strong inhibitory activity, against pathogenic microorganisms, with diameters of the zones of inhibition varying between 07 and 22 mm for Actinomycetes.

Algerian ecosystems are home to an interesting variety of microorganisms, which can be a prodigious source of antimicrobial molecules of great diversity.

**Key words:** Soil, Actinomycetes, antimicrobial activity, agar diffusion method.

# ملخص

نظرا للتطور المتزايد للالتهابات البكتيرية، وازدياد مقاومة هذه الأخيرة للمضادات الحيوية مما يؤدي إلى قصور في العلاج المضاد للبكتيريا، أو فشل العلاج كليا، أدت هذه الأسباب للبحث عن جزيئات جديدة ذات نشاط مضاد للبكتيريا. كان هدفنا من هذه الدراسة: البحث عن كائنات حية دقيقة من عينات التربة منتجة لجزيئات نشطة بيولوجيًا.

أخذ عينات التربة يتبع بعزل انتقائي للبكتيريا الهيفية، حيث يجب عزل 53 سلالة على التوالي. العزلات التي يجب الاحتفاظ بها هي تلك الخاصة بالأجناس *Streptomyces*.

يجب إجراء اختبار النشاط المضاد للميكروبات ضد البكتيريا الممرضة التالية:

*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*,  
*Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, et une levure : *Candida albicans*.

يجب أن تُظهر السلالات النشطة نشاطًا مثبتًا قويًا ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض، بأقطار تتراوح بين 07 و 22 مم بالنسبة للبكتيريا الهيفية.

النظم البيئية الجزائرية هي موطن لمجموعة متنوعة مثيرة للاهتمام من الكائنات الحية الدقيقة التي يمكن أن تكون مصدرًا رائعًا للجزيئات المضادة للميكروبات ذات التنوع الكبير.

**الكلمات المفتاحية:** التربة، البكتيريا الهيفية، النشاط المضاد للميكروبات، طرق الانتشار على الاوساط المغذية

## TABLES DES MATIERES

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Tables des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01

### Chapitre I : Le sol

I.1. <b>définition de sol</b> .....	03
I.2. <b>Constituants du sol</b> .....	03
I.2.1 La phase solide du sol .....	04
I.2.1.1. Constituants minéraux.....	04
I.2.1.2. Constituants organiques .....	04
I.2.2.La phase liquide du sol .....	04
I.2.3. La phase gazeuse du sol.....	04
I.3. <b>Les microorganismes du sol</b> .....	05
I.3.1. Les protozoaires.....	06
I.3.2. Les levures.....	06
I.3.3. Les algues.....	06
I.3.4. Les virus.....	07
I.3.5. Les bactéries.....	07
I.3.6. Les champignons.....	07

### Chapitre II : Les Actinomycètes

II.1. <b>Généralités sur les Actinomycètes</b> .....	09
II.1.1.Définition.....	09
II.1.2. Historique .....	10

II.1.3. Ecologie et physiologie .....	10
II.1.4. Morphologie.....	11
II.1.5. Distribution dans la nature.....	11
I.6. L'importance des Actinomycètes. ....	12
<b>II. Taxonomie des Actinomycètes</b> .....	<b>13</b>
II.1 Systèmes des Actinomycètes .....	13
II.2 Caractéristiques et critères de classification .....	13
II.2.1. Les critères morphologiques.....	13
II.2.2. Les critères chimiques d'identification.....	14
II.2.2.1. Les acides Aminés pariétaux.....	14
II.2.2.2. Les sucres cellulaires et pariétaux.....	15
II.2.2.3. Les lipides.....	15
II.2.2.4. Les ménaquinones.....	16
II.2.3. Critères d'identification des espèces.....	16
II.2.3.1. Critères physiologiques et taxonomiques numériques.....	16
II.2.3.2. Critères moléculaires.....	16
<b>II.3. Isolement sélectif des Actinomycètes rares</b> .....	<b>16</b>
II.3.1. Choix de l'écosystème pour l'échantillonnage.....	17
II.3.2. Traitement chimiques .....	17
II.3.3. Traitement physiques.....	17
<b>II.4. Développement et croissance des Actinomycètes</b> .....	<b>18</b>
II.4.1 formation de mycélium de substrat en mycélium aérien.....	18
II.4.1.1. le mycélium de substrat .....	18
II.4.1.2. Le mycélium Aérien .....	18
II.4.2. Formation des spores.....	18
II.4.2.1. Les endospores.....	18
II.4.2.2. Les exospores.....	19
II.4.3. Croissance des actinomycètes sur milieu solide et liquide.....	20
<b>II.5. Le métabolisme des Actinomycètes</b> .....	<b>21</b>
II.5.1. Le métabolisme primaire.....	22
II.5.2. Le métabolisme secondaire.....	22
<b>II.6. Production de biomolécules d'intérêt thérapeutique et biotechnologique</b> .....	<b>22</b>

II.6.1. Les antibiotiques.....	22
--------------------------------	----

### Chapitre III: Matériel et Méthodes

<b>III.1. Isolement et screening des souches des Actinomycètes.....</b>	<b>25</b>
III.1.1. Origine du prélèvement des échantillons de sols.....	25
III.1.2. Isolement et milieux de culture utilisés.....	25
III.1.2.1. Isolement de souches d'actinomycètes à partir d'échantillons de sol non traités....	25
III.1.3. Traitement des échantillons.....	25
III.1.3.1. Les milieux de cultures utilisés.....	26
III.1.3.2. Purification et conservation des souches.....	28
<b>III.2. Mise en évidence de l'activité antibiotique des souches d'Actinomycètes.....</b>	<b>28</b>
III.2.1. Mise en évidence de l'activité antibiotique sur milieu solide.....	28
III.2.1.1. Microorganismes cibles.....	28
III.2.1.2 Standardisation de l'inoculum.....	28
III.2.1.3. Technique des cylindres d'agar.....	28
<b>III.3. Production d'antibiotiques sur milieu liquide.....</b>	<b>29</b>
III.3.1. Méthode de diffusion des puits.....	29
III.3.2. Cinétique de croissance et de production d'antibiotique et suivi du pH.....	30
III.3.2.1. Cinétique de croissance.....	30
III.3.2.2. Cinétique de production d'antibiotique.....	31
III.3.2. 3. Evolution du pH.....	31
<b>III.4 Extraction d'antibiotiques.....</b>	<b>31</b>
III.4.1. Extraction à partir du filtrat de culture (Choix du solvant d'extraction).....	31

### IV. Résultats et Discussion

Résultats.....	32
Conclusion.....	35
Références bibliographiques.....	36

Annexe

## Liste des abréviations

**ATB** : Antibiotique

**BTT** : Bennett

**c.sp** : Chaînes de spores

**MA** : Mycélium aérien

**MS** : Mycélium du substrat

**PC** : Phosphatidylcholine

**PE** : Phosphatidyléthanolamine

**PG** : Phospholipides contenant de la glucosamine

**PGI** : Phosphatidylglycérol; +, présent; -, absent

**RA** : Retinaculum *Apertum* (chaînes en crochets ou en boucles)

**RF** : Rectus *Flexibilis* (chaînes de spores droites à flexueuses)

**S** : Spira (chaînes spiralées)

**sg** : Sporangies.

**sp.i** : Spores isolés

**sp.m** : Spores mobiles

**V** : Variable selon les genres et les espèces.

## Liste des figures

### Numéro de page

<b>Figure.01</b> : Coupe transversale d'une colonie d'Actinomycètes. ....	<b>09</b>
<b>Figure.02</b> : Micromorphologie des principaux genres d'Actinobactéries.....	<b>14</b>
<b>Figure.03</b> : Structure d'une endospore Actinomycétale .....	<b>19</b>
<b>Figure.04</b> : Types des chaines des endospores chez les Actinomycètes .....	<b>19</b>
<b>Figure.05</b> : Types des chaines des exospores chez différentes genres d'Actinomycètes .....	<b>20</b>
<b>Figure.06</b> : Morphologies rencontrés au cours de culture liquide.....	<b>21</b>
<b>Figure.07</b> : Age d'or de la découverte des antibiotiques .....	<b>23</b>

## Liste des tableaux

### Numéro de page

<b>Tableau.01</b> : Principaux constituants du sol .....	<b>05</b>
<b>Tableau.02</b> : Nombre de microorganismes par gramme de terre de jardin, en fonction de la profondeur.....	<b>08</b>
<b>Tableau.03</b> : Fréquence de divers genres d' <i>Actinomycètes</i> dans le solErreur ! Signet non défini.	
<b>Tableau.04</b> : Chimiotypes rencontrés chez les <i>Actinobacteria</i> .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Tableau.05</b> : Types de phospholipides membranaires rencontrés chez les <i>Actinobacteria</i> .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Tableau.06</b> : Structures et cibles cellulaires d'antibiotiques produits par des souches du genre <i>Streptomyces</i> .....	<b>24</b>

# INTRODUCTION

## Introduction

Les sols présentent une grande diversité en terme de composition chimique, mais également biologique. Quelques grammes de sols peuvent contenir des milliers voire des centaines de milliers d'espèces microbiennes. Ces espèces ont une répartition en fonction des caractéristiques physico-chimiques des sols, de leur capacité à vivre en aérobie ou anaérobie, mais également en fonction d'interactions avec certains organismes supérieurs, dont les végétaux et la microfaune (**Bertrand, 2011**).

Les sols de palmeraies d'Algérie, qui constituent un écosystème assez particulier, ont montré une biodiversité surprenante en Actinomycètes rares (**Sabaou et al., 1998**). Les Actinomycètes sont des bactéries filamenteuses particulièrement intéressantes pour leur grande capacité à produire des métabolites secondaires avec diverses structures chimiques (**Valan et al., 2008**).

Les Actinomycètes rares constituent une source attractive de nouvelles molécules bioactives, la recherche de ces dernières peut être concentrée sur des isollements d'Actinomycètes en excluant les *Streptomyces*, ce fait est démontré par la production de plusieurs antibiotiques très intéressants par : *Nocardia*, *Nocardiosis*, *Saccharothrix*, *Actinomadura*, *Actinoplana*, *Saccharopolyspora* et *Streptosporangium* (**Boubetra et al., 2013**).

Toutefois, les espèces appartenant au genre *Streptomyces* représentent 80% de la population totale des Actinomycètes du sol, plus de 75-80% des antibiotiques commercialisés est utilisés en médecine sont produits par ce genre. L'isolement de nouvelles espèces de *Streptomyces* est très fortement recommandé pour la production de nouvelles molécules biologiquement actives avec une grande importance clinique (**Smaoui et al., 2012**).

L'objectif principal de notre travail est de caractériser certaines souches Actinomycétales isolées à partir de sols sahariens, et pour atteindre cet objectif, nous sommes passés par deux étapes :

- Une synthèse bibliographique sur les actinomycètes présentés en chapitre I : le sol, généralités sur les actinomycètes, isolement sélectif, écologie, taxonomie ; ainsi qu'un aperçu sur l'importance des nouvelles molécules bioactives produites par de nouveaux genres ou espèces d'Actinomycètes.

- Une deuxième partie (expérimentale) qui devait comprendre :
  - L'isolement des Actinomycètes à partir d'échantillons de sols sahariens ;
  - Des tests d'activité des souches isolées et purifiées vis-à-vis des germes cibles de référence.
- La discussion des résultats expérimentaux devait faire l'objet de la troisième partie

**REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUES**

## I.1. Définition du sol

Plusieurs définitions ont été adoptées par des scientifiques parmi lesquelles on a :

Le sol est un milieu vivant, il figure parmi les habitats les plus diversifiés et renferme certains des assemblages les plus variés d'organismes vivants. Il constitue l'un des écosystèmes les plus complexes de la nature, aucun autre habitat n'abrite une densité d'espèces aussi élevée que le sol. Par exemple, un gramme de sol peut contenir des millions d'individus et plusieurs milliers d'espèces de bactéries (**Kilbertus, 1980**).

Le sol est un corps naturel de constitution minérale et organique, différencié en Horizons d'épaisseur variable qui diffère des matériaux sous-jacent par sa morphologie, ses propriétés physiques et chimiques, sa composition et ses caractéristiques biologiques (**Joffe, 1999**).

Le sol ne constitue pas un environnement homogène, mais une mosaïque d'habitats pour chacun des populations microbiennes propres, le nombre et le type d'organismes varient d'un système et d'un milieu à l'autre. Le nombre, la composition et la diversité des espèces dans un sol donné dépendent de nombreux facteurs, notamment l'aération, la température, l'acidité, l'humidité, la teneur en éléments nutritifs et en substrat organique. La rhizosphère représente un compartiment d'intérêt majeur (**Marilley et al., 2007**).

Le sol est l'un des compartiments essentiels de l'écosystème agissant comme contrôleur et révélateur de nombreux processus écologiques par ses caractères physiques, chimiques et biologiques à court et à long terme : « soil should be the best over all reflection of ecosystem process » (**Davset, 1996**).

Le sol est un véritable laboratoire biologique, où se déroulent des réactions qu'on ne trouve nulle part ailleurs (**Pedro, 1996**).

## I.2. Les constituants du sol

Le sol est un milieu polyphasique, composé d'une phase solide (minérale et organique), d'une phase liquide, d'une phase gazeuse, et colonisé par des organismes vivants. Il est traversé par des flux d'énergie et de matière dont la régulation est en grande partie assurée par les communautés vivantes qui le colonisent. C'est un milieu organisé et cette organisation, qui influe directement sur l'ensemble des propriétés du sol, dépend des interactions bio-organominérales (**Clavet, 2003**).

### I.2.1. La phase solide du sol

Elle est constituée par des minéraux et des matières organiques en proportions variables. On pourrait considérer que les organismes vivants du sol font partie de la phase solide puisqu'ils ne sont ni gazeux ni liquides (**Clavet, 2003**).

### **I.2.1.1. Constituants minéraux**

Les constituants minéraux du sol sont primaires, hérités directement de la roche-mère, ou secondaires ; issus de la transformation chimique des précédents et réunis alors dans le complexe d'altération. Celui-ci comporte des sels (ex. carbonates de calcium ou de magnésium) ou des silicates (ex. micas et argiles) ; ces dernières sont des colloïdes, comme les hydroxydes de fer ou d'aluminium et autres minéraux secondaires (**Gobat, 2003**).

### **I.2.1.2. Constituants organiques**

Concernant l'humus (constituants organiques), il contient les produits de décomposition partielle des végétaux, ainsi certaines matières végétales peu dégradables comme la lignine ou les acides humiques (**Jerome et al., 2004**).

### **I.2.2. La phase liquide du sol**

La phase liquide du sol n'est pas de l'eau pure, mais une solution dont la composition est complexe et très variable. On la désigne souvent par l'expression « solution du sol » (**Calvet, 2003**). L'eau se présente sous trois états principaux dans le sol ; et il n'est pas toujours aisé d'y retrouver la solution du sol. La teneur globale en eau d'un sol est soumise à des changements très rapides, en fonction des précipitations, de l'évapo-transpiration et des remontées capillaires (**Gobat, 2003**).

### **I.2.3. La phase gazeuse du sol**

La phase gazeuse du sol est encore appelée atmosphère du sol, sa composition est souvent voisine à celle de l'air, mais elle peut être très variable dans l'espace et dans le temps.

Elle dépend principalement de deux facteurs, la proximité de l'atmosphère, c'est-à-dire la profondeur dans le sol et l'activité biologique (**Clavet, 2003**).

**Tableau.01 : Principaux constituants du sol (Soltner, 1996 ; Gobat, 2003).**

	Constituants solides		Constituants liquides	Constituants gazeux
	Minéraux	Organiques	(solution du sol)	(atmosphère du sol)
Origine	Désagrégation physique et altération biochimique des roches.	Décomposition des êtres vivants.	Précipitations, nappes ruissellement.	Air hors sol, matière en décomposition respiration.
Critères de classement	Taille (granulométrie) Qualité (minéralogie)	Etats (vivants, morts) Qualité chimique (originelle, transformée)	Origine(météorique phréatique) Etat physique(potentiel hydrique) Qualité chimique.	Origine (air, organismes) qualité chimique
Catégorie	<i>Selon granulométrie</i> -Squelette (>2mm) -Terre fine (<2mm) <i>Selon minéralogie :</i> - Quartz -Minéraux silicatés -Minéraux carbonatés	- Organismes vivants - Organismes morts -Matières organiques héritées :cellulose,lignine résines. - Matières organiques humifiées :acides fulviques humiques, humines.	- Eau -Substances dissoutes :glucides, alcools,acides organiques et minéraux - Cation et anion	- Gaz de l'air, N <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> - Gaz issus de la respiration et de la décomposition des organismes : CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , NH <sub>4</sub> .....

### I.3. Les microorganismes du sol

Le sol constitue pour l'homme une réserve de microorganismes dont il devra, à l'avenir, domestiquer un nombre croissant d'espèces en vue de satisfaire ses besoins en molécules simple, (telles que les acides acétique ou citrique) et surtout en molécules complexes (vitamines, hormones, antibiotiques, enzymes et acides aminés essentiels) (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

Les organismes vivants du sol sont des bactéries, des champignons, des algues, les parties souterraines des plantes ainsi que des animaux très variés, des protozoaires aux mammifères. Il est intéressant de noter que plus de 90% de la biomasse des sols, sont constitués par les organes souterrains végétaux (50%), principalement les racines, et la microflore (41,7%) (**Calvet, 2003**).

Tous participent d'une manière ou d'une autre à la formation et à l'évolution du sol, en particulier de sa fraction organique. Leurs nombres et biomasse dans le sol dépassent souvent l'imagination (**Gobat, 2010**).

Les bactéries et les champignons du sol peuvent, dans des conditions de milieu très variées, d'utiliser l'ensemble des substrats organiques apportés, ou présents dans le sol et même des produits chimiques, autre que ceux fournis par le règne végétal et animal (produits xénobiotiques) (**Michel-Cauld et al., 2005**).

### **I.3.1. Les protozoaires**

Plusieurs espèces de protozoaires du sol, se montrent très ubiquistes et se retrouvent dans des conditions climatiques très différentes. On attribue parfois aux Amibes à thèques une préférence pour les sols acides, il en existe cependant des espèces exclusivement calcicoles (**Davet, 2003**).

### **I.3.2. Les levures**

Les levures sont peu nombreuses dans le sol et l'on doit recourir, pour les mettre en évidence. Il faut donc admettre que, le sol renferme une population propre composée de levures variables suivant, son type et ses caractéristiques et suivant la végétation qu'il porte. Cependant les lois de leur répartition, ou de leurs éventuelles fluctuations saisonnières sont encore imparfaitement connues.

Les levures sont nombreuses dans les sols riches en matière organique fraîche, ou peu décomposée et peut-être plus encore dans les litières forestières (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

### **I.3.3. Les algues**

Les algues, du fait de leur caractère phototrophe, possèdent pour la microbiologie du sol une signification très différente de celle des bactéries ou des champignons. Les algues peuvent se contenter de faibles intensités lumineuses, ce qui leur permet d'avoir un comportement autotrophe actif à plusieurs millimètres, au-dessous de la surface, particulièrement dans les sols riches en particules de quartz translucides (la lumière peut diffuser jusqu'à plus de 2 cm dans certains sols) (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

### **I.3.4. Les virus**

A côté des bactéries, Actinomycètes, champignon, et algues, qui sont visible au microscope optique, le sol renferme des microorganismes sub-microscopiques, dont l'existence ne peut être démontrée que par la microscopie électronique, Il s'agit essentiellement de virus (**Dommergues et Mangenot, 1970**). Les virus libres, placés hors d'une cellule vivante et à la lumière sont rapidement inactivés. Mais dans le sol ils peuvent une fois adsorbés conserver longtemps leur pouvoir infectieux (**Davet, 2003**).

### I.3.5. Les bactéries

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants, et métaboliquement les plus actifs du sol. On estime d'ailleurs que tous les groupes de bactéries connus pourraient être isolés d'un échantillon du sol, si les techniques et les milieux adéquats sont utilisés (**Dommergues et Mangenot, 1970**). De ce fait, accéder à la diversité bactérienne de manière exhaustive, constitue un des défis majeurs de ces dernières décennies en écologie microbienne et les techniques qui y sont dédiées n'ont cessé d'évoluer (**Theodorakopoulos, 2013**).

### I.3.6. Les champignons

Tous les sols contiennent une microflore abondante. La biomasse fongique est sans doute très variable suivant les cas mais, on peut l'évaluer entre 120 Kg/ha et plus d'une tonne dans les sols normaux (**Dommergues et Mangenot, 1970**). Leurs activités métaboliques sont multiples et fondamentales à l'équilibre écologique des sols. De nombreux travaux indiquent la prédominance de : *Mucor*, *Trichoderma* et *Aspergillus*, alors que *Rhizopus*, *Fusarium*, *Zygorhynchus*, *Cephalosporium*, *Cladosporium* et *Verticillium* sont couramment isolés. (**Noumeur, 2008**).

**Tableau.02:** Nombre de microorganismes par gramme de terre de jardin, en fonction de la profondeur. (**Alexander 1991**).

Profondeur (cm)	Bactéries	Actinomycètes	Mycètes	Algues
3 à 8	2750000	2080000	119000	25000
20 à 25	2179000	545000	50000	5000
35 à 40	570000	49000	400000	500
65 à 75	11000	5000	6000	100
135 à 145	1400	-	3000	-

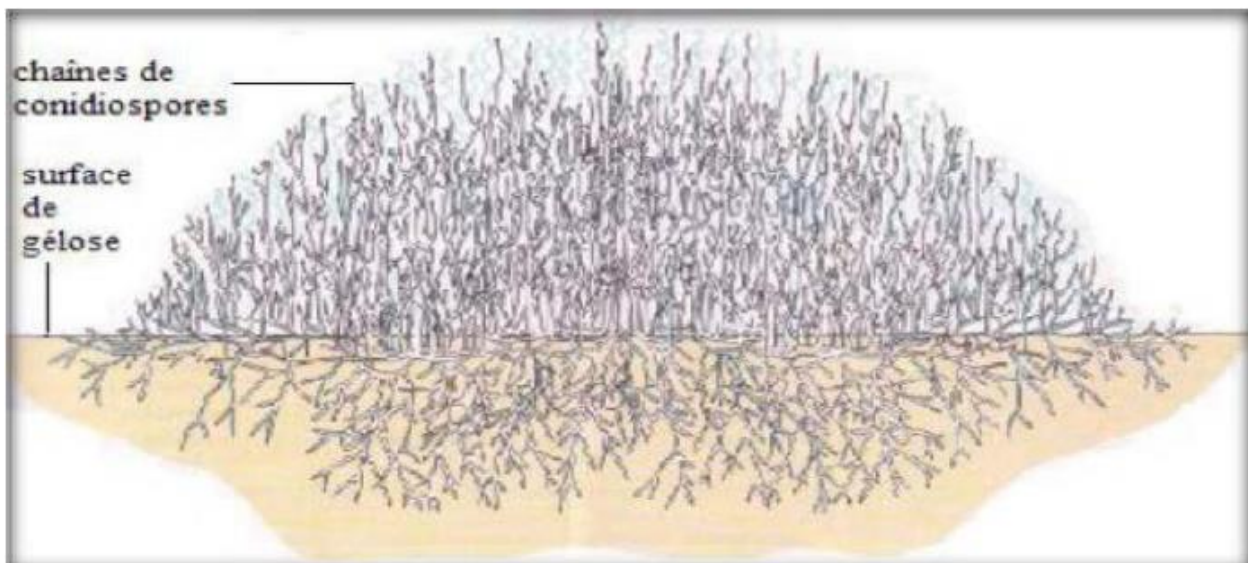
## II.1. Généralités sur les *Actinomycètes*

### II.1.1. Définition

Les Actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, séptées, ramifiées, à coloration de Gram positif, avec une proportion de G+C élevée (>55 %) (Nanjwad *et al.*, 2010). À l'origine ils ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et les champignons, mais sont des organismes procaryotes (Naikpatil et Rathod, 2011 ; Khan et Patel, 2011).

Les Actinomycètes sont hétérotrophes et/ou chimiotrophes pour certains (Williams *et al.*, 1984). Ils sont chimio-organotrophes, aérobies strictes ou microaérophiles. En générale, les conditions optimales pour leurs croissances, sont des températures comprises entre 25-30°C (50°C pour les *Thermo-actinomycètes*) et un pH neutre, mais de nombreuses espèces ont été isolées à partir d'environnements extrêmes (Ensign *et al.*, 1993 ; Chun *et al.*, 1997 ; Wattre *et al.*, 2001). Ils sont capables de dégrader certains résidus des matières organiques, tels que la chitine...etc., et contribuent ainsi à la fertilisation des sols (Dommergues et Mangenot, 1970).

Ils présentent des hyphes embranchés et des spores (Batelli *et al.*, 2013). L'embranchement du mycélium peut se présenter sous deux formes : mycélium de substrat et mycélium aérien (Sulaiman Ali Alharbi *et al.*, 2012).



**Figure.01** : Coupe transversale d'une colonie d'Actinomycètes. (Prescott *et al.*, 2003).

### II.1.2. Historique

Le terme d'Actinomycète a été utilisé pour la première fois par Bollinger en 1877, pour désigner l'agent responsable d'une maladie du bétail, cette période a été nommée « période médicale » du fait que l'intérêt porté à ces microorganismes était dû presque exclusivement, aux propriétés pathogènes qu'on leur attribuait (**Baldacci, 1962**). La seconde période (1900-1940), se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des Actinomycètes du sol, avec les travaux de Rossi-Doria (1890-1891), Waksman (1919), Lieske (1921), Jensen (1931-1933) (**Mariat et Sebald, 1990**).

Elle couvre la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des Actinomycètes et les premières tentatives pour distinguer deux groupes : les pathogènes et les saprophytes. L'époque suivante est celle de la découverte l'actinomycine par Waksman en 1940, à partir d'une culture de *Streptomyces antibioticus*. (**Waksman et Woodruff, 1940**), et de la streptomycine chez *Streptomyces griseus* ainsi, la période suivante (1940-1970), peut être définie comme une période de développement de critères morphologiques et biochimiques, pour la classification des Actinomycètes, en parallèle avec la meilleure compréhension de la physiologie de ces bactéries, de leur intérêt pour la production de métabolites secondaires, leur potentialité de biodégradation de composés organiques (**Shartz et al., 1994**).

### II.1.3. Ecologie et physiologie

Les Actinomycètes sont largement distribués dans la nature, on peut les trouver dans le sol, les sédiments marins et les eaux usées.

Dans le sol, les Actinomycètes représentent 80% de la population microbienne totale, par ailleurs, dans les sols sahariens, les Actinomycètes constituent 15 à 60% de la microflore tellurique. Les sols des oasis du Sahara Algérien, bien que soumis à un climat aride, se sont révélés riches en Actinomycètes parfois réputés "rares" de par le monde, on les trouve non seulement dans les horizons de surface, mais aussi à plus de 2 mètres de profondeur et en quantité appréciable (**Sabaou et al., 1998**).

Physiologiquement et écologiquement, il existe deux groupes d'Actinomycètes. En premier lieu, les formes fermentatives, anaérobies strictes ou facultatives, illustrées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligés des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs, et ils ne sont jamais retrouvés dans le sol (**Mariat et Sebald, 1990**). En second lieu, les formes oxydatives, aérobies, telles que les *Streptomyces* où le sol est leur réservoir principal, et à partir duquel elles sont disséminées, en particulier dans l'air. Dans ce dernier, les spores sont considérées comme des contaminants (**Reponen et al., 1998**).

Certains genres d'Actinomycètes sont des chimio-organotrophes, utilisant une grande variété de sources d'énergie, y compris les polymères complexes. Mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimioautotrophique, en utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**).

#### II.1.4. Morphologie

Morphologiquement on peut rencontrer en plus des filaments ramifiés, des bacilles et aussi des coccobacilles comme *Rhodococcus* et *Mycobacterium* (**Avril et al., 1992**).

Ces microorganismes, en effet, présentent des similitudes à la fois avec les *Eubactéries* et avec les champignons. Il existe d'ailleurs, toute une série de formes de transition entre les formes mycéliennes typiques et les formes unicellulaires, présentant une aptitude peu marquée à former un mycélium ramifié (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

Les Actinomycètes n'ont pas de membrane nucléaire, elles possèdent des organites flagellaires rassemblant à ceux des bactéries. Elles sont, pour la plupart, sensibles au lysozyme et aux agents antibactériens ; le diamètre de leurs hyphes est plus petit que celui des champignons (**Kitouni, 2007**).

Leurs propriétés chimiques, physiologiques, et immunologiques les rangent parmi les procaryotes. Leur paroi cellulaire ne renferme ni chitine ni cellulose, mais une glycoprotéine contenant de la lysine (formes fermentatives) ou de l'acide diaminopimélique (formes oxydatives), et leur cytologie est celle des bactéries (**Mariat et Sebald, 1990**). Ces caractères s'ajoutant à d'autres (leur parasitage par des bactériophages, leur sensibilité aux antibiotiques antibactériens) ne permet pas de les classer parmi les mycètes (**Hasley et Leclerc, 1993**).

#### II.1.5. Distribution dans la nature

Les Actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires, on les rencontre sur tous les substrats naturels courants (**Waksman, 1999**). Ils sont adaptés à divers milieux écologiques, ainsi, ils peuvent être dans les sols, les eaux douces ou salines et dans l'air. Toutefois, ils se trouvent abondamment dans le sol que les autres milieux, spécialement dans les sols alcalins et les sols riches en matière organique où ils constituent une part importante de la population microbienne (**Loqman, 2009**). Le genre *Streptomyces* est le plus fréquent dans le sol, il couvre à lui seul 95% des souches d'Actinomycètes isolées (**Tableau.03**). (**Nonomura, 1999**).

**Tableau. 03 :** Fréquence de divers genres d'*Actinomycètes* dans le sol (Lechevalier et Lechevalier, 1997).

Genre	Pourcentage
<i>Streptomyces</i>	95,34
<i>Nocardia</i>	1,98
<i>Micromonospora</i>	1,4
<i>Thermomonospora</i>	0,22
<i>Actinoplanes</i>	0,20
<i>Microbispora</i>	0,18

Les Actinomycètes sont bien représentés dans les milieux aquatiques, d'où l'on peut facilement isoler des souches de *Microspora*, d'*Actinoplanes* et de *Streptosporangium*. C'est essentiellement dans les sédiments des fonds fluviaux ou lacustres, que ceux-ci sont présents, où ils jouent un rôle important dans la décomposition des débris végétaux et donnent à l'eau son odeur de terre et sa saveur (Andriambololona, 2010).

#### II.1.6. Importance des Actinomycètes

Ce sont les microorganismes les plus utilisés en biotechnologie (Berdy, 2005). Ils produisent un grand nombre de métabolites secondaires, possédant des structures chimiques et des activités biologiques très variées (Thomson *et al.*, 2004). En effet, ils sont à l'origine d'environ 70% des molécules antibiotiques utilisées en médecine (Sujatha *et al.*, 2005).

Leur importance majeure s'exprime dans les domaines pharmaceutique, médical et vétérinaire, aussi une analyse réalisée sur un nombre de substances médicamenteuses, utilisées en chimiothérapie cancéreuse, a indiqué que plus de 60% des médicaments approuvés, dérivent de composés naturels et la plupart a été extraite à partir d'actinomycètes, tel que : L'Actinomycine D (Demain et Lancini, 2006), on note aussi l'arsenal enzymatique telles que des cellulases et des xylanases, utilisés dans le traitement des effluents (Oskay *et al.*, 2004).

Les antibiotiques ont aussi trouvé une application dans les élevages industriels d'animaux (Khachatourians, 1998). Ils sont utilisés non seulement pour combattre les maladies des animaux, mais aussi dans l'alimentation pour accroître les rendements zootechniques (Schwarz *et al.*, 2001).

## II.2. Taxonomie des Actinomycètes

La taxonomie des Actinomycètes est basée sur plusieurs critères : morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires. L'identification des genres est facilitée par les études morphologiques et chimiques, tandis que les critères physiologiques et moléculaires séparent les espèces (**Badji, 2006**).

### II.2.1. Systématique des Actinomycètes

Depuis plusieurs années, la taxonomie des Actinomycètes a connu une évolution importante, en fonction du développement des connaissances. Ce groupe de microorganismes procaryotes appartient à l'ordre des *Actinomycétales* créées par Buchanan en 1917 (**Bergy's, 1999**).

### II.2.2. Caractéristiques et critères de classification

L'identification des genres d'*Actinomycètes* est basée sur les critères morphologiques et chimiques. Les caractères morphologiques sont suffisants pour la détermination de certains genres tels que : *Streptosporangium*, *Planobispora* et *Micromonospora*...etc. (**Ouhdouch, 2003**).

#### II.2.2.1. Les critères morphologiques

##### ➤ Les critères macromorphologiques

Les caractères culturels contribuent parfois à différencier les genres d'Actinomycètes entre eux (**Boudjella, 2007**). Les caractères importants sont la présence et la couleur du mycélium aérien (MA) et/ou du substrat (MS), ainsi que la production de pigments diffusibles dans le milieu de culture (**Badji, 2006**).

##### ➤ Les critères micromorphologiques

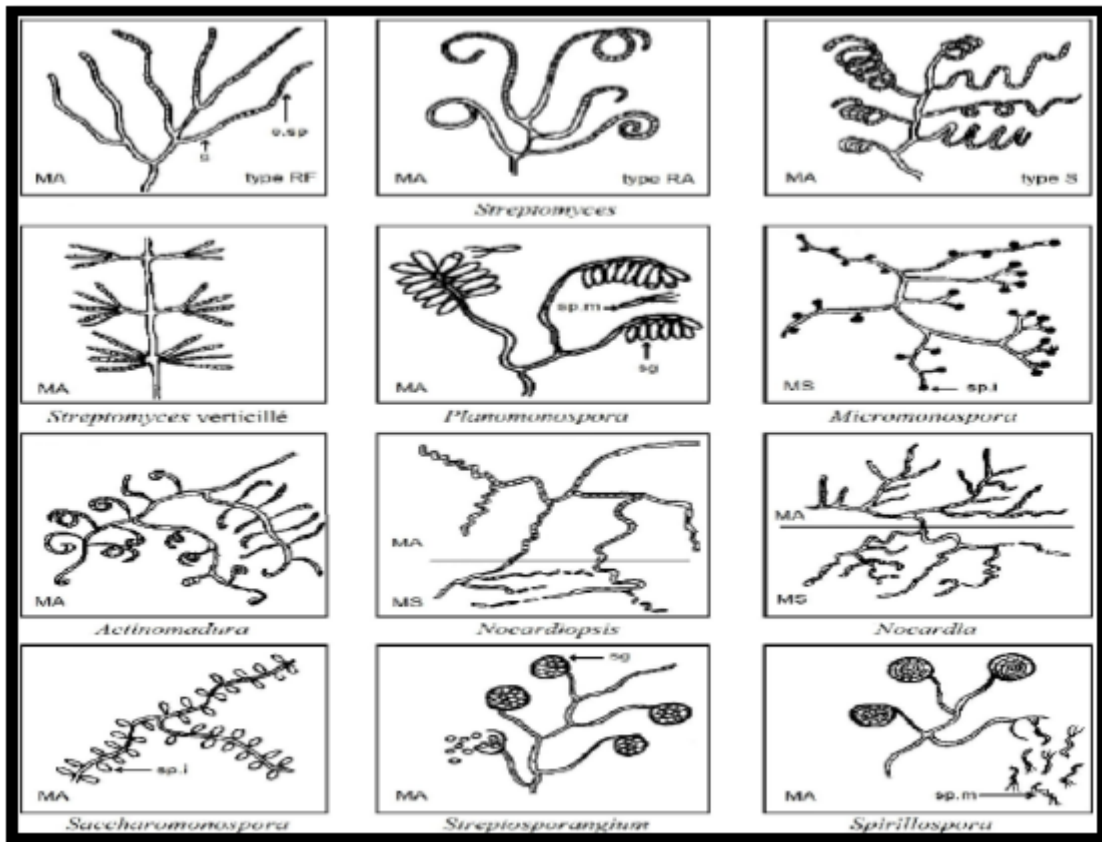
Les caractéristiques micro-morphologiques englobent : la production de spores, leurs formes, leurs mobilités, aspect de leurs surfaces, leur disposition sur les hyphes et leurs nombres (**Ouhdouch, 2003**).

Ils sont déterminés par l'observation directe au microscope optique (et parfois électronique), des cultures poussant sur les milieux gélosés. Les observations portent sur les mycéliums aériens et du substrat (**Tresner et al., 1991; Holt et al., 1994**).

Le MA peut être stérile, fragmenté ou sporulant. Les spores sont généralement non mobiles ou parfois mobiles, isolées ou regroupées par deux, par quatre ou en chaînes plus ou moins longues (**Badji, 2006**).

Les spores peuvent être sessiles ou portées par des sporophores courts ou longs, ou encore formées anarchiquement sur le MA. Quelques genres d'Actinobactéries possèdent des structures particulières, comme les sporanges, les sclérotés ou les synnemata (**Figure.02**). Le MS peut être

stérile ou non fragmenté ou persistant. Il peut produire ou non des spores (mobiles ou non) ou des sporanges (Badji, 2006).



**Figure.02 :** Micromorphologie des principaux genres d'Actinobactéries (Sabaou, 1988).

### II.2.2.2. Critères chimiques d'identifications

Les critères chimiques appliqués en chimio taxonomie, qui est l'étude des variations chimiques dans les organismes et l'utilisation de caractères chimiques, pour la classification et l'identification. Si pour certains genres, les caractères morphologiques sont suffisants pour leur reconnaissance, la grande majorité par contre (*Streptomyces*, *Actinomadura* et *Nocardia*), nécessite une étude chimique de leurs constituants cellulaires. La chimio taxonomie repose sur l'analyse de la composition cellulaire en acides aminés pariétaux, en glucides cellulaires, en phospholipides membranaires, en ménaquinones, en acides gras membranaires et en acides mycoliques pariétaux (Boudjella, 2007).

#### II.2.2.2.1. Les acides aminés pariétaux

Deux acides aminés sont taxonomiquement très importants chez les Actinobactéries mycéliennes : l'acide diaminopimélique, qui peut être sous formes isométriques L ou D (*méso*) et la glycine qui est variablement présente. Les espèces du genre *Streptomyces* sont caractérisées par la forme L-DAP comparativement aux autres Actinobactéries mycéliennes à chaînes de spores dont le DAP est de type D (Goodfellow et Simpson, 1997).

### II.2.2.2.2. Les sucres cellulaires et pariétaux

D'après Lechevalier et Lechevalier, 1970, les sucres sont présents sous forme de couple : arabinose–galactose, arabinose–xylose, rhamnose–galactose, et le madurose, ainsi que sur la base des acides aminés et la composition en sucres.

Ils sont présents dans les cellules entières. La combinaison du type pariétal d'acide aminé et du type glucidique, permet un classement en groupes chimiques d'Actinobactéries, appelés chimiotypes qui sont définis dans le (**Tableau. 04**) ci-après.

**Tableau. 04** : Chimiotypes rencontrés chez les *Actinobacteria* (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

Chimiotype	Caractéristiques	Exemples de genre
I C	LL DAP + glycine (pas de sucres taxonomiquement importants)	<i>Streptomyces</i> .
II D	DL DAP + glycine + arabinose + xylose	<i>Micromonospora, Actinoplanes</i> .
III B	DL DAP + madurose	<i>Actinomadura, Streptosporangium</i> .
III C	DL DAP (pas de sucres caractéristiques)	<i>Nocardopsis</i> .
III E	DL DAP + rhamnose + galactose	<i>Saccharothrix</i> .
IV A	DL DAP + arabinose + galactose	<i>Nocardia, Amycolatopsis</i> .
V	Ornithine + lysine	<i>Actinomyces</i> .
VI	Lysine	<i>Oerskovia</i> .
VII	Acide diamino-butérique et glycine (lysine variablement présente)	<i>Agromyces</i> .
VIII	Ornithine	<i>Cellulomonas</i> .

### II.2.2.2.3. Les lipides

Les lipides taxonomiquement importants peuvent être divisés en trois groupes : les phospholipides, les acides gras et les ménaquinones.

Les phospholipides sont des lipides polaires présents au niveau des membranes cellulaires. Leur analyse a permis de distinguer cinq profils phospholipidiques notés de PI à PV (**Lechevalier et al., 1977**) résumés dans le (**Tableau. 05**).

**Tableau. 05** : Types de phospholipides membranaires rencontrés chez les *Actinobacteria* (Lechevalier *et al.*, 1977).

Types de phospholipides	PE	PC	PG	PGI	Exemples
PI	-	-	-	V	<i>Actinomadura</i> .
PII	+	-	-	-	<i>Streptomyces</i> , <i>Pseudonocardia</i> .
PIII	-	+	-	V	<i>Nocardiopsis</i> , <i>Amycolatopsis</i> .
PIV	+	-	+	-	<i>Nocardia</i> , <i>Nonomuraea</i> .
PV	-	-	+	+	<i>Oerskovia</i> .

#### II.2.2.2.4. Les ménaquinones

Les quinones sont reconnues comme étant les plus importants marqueurs dans la chimiotaxonomie microbienne (Gao *et al.*, 2003). Les ménaquinones sont des composés lipidiques membranaires ; leur classification s'effectue en fonction du nombre d'unités isoprènes et du nombre de doubles liaisons (O'Donnell *et al.*, 1982).

### II.2.3. Critères d'identification des espèces

#### II.2.3.1. Critères physiologiques

Les caractères physiologiques discriminants permettent de différencier les espèces appartenant à un même genre. Ils font recours à des tests de dégradation de différents composés (glucides, lipides, protéines, polymères complexes...etc.), de résistance aux agents antimicrobiens et à divers agents physico-chimiques (pH, température, salinité...etc.), et à plusieurs tests enzymatiques (Lamari, 2006).

#### II.2.3.2. Les critères moléculaires

Les études moléculaires sont très importantes, pour retracer les parentés phylogénétiques des souches, et pour la détermination des espèces (Lamari, 2006). Ces critères ont permis de tracer toute la phylogénie des actinomycètes on cite :

- Hybridation ADN-ADN ;
- Séquençage de l'ADN ribosomique 16S ;
- Détermination du coefficient de Chargaff (G+C%).

### II.3. Isolement sélectif des Actinomycètes rares

Les Actinomycètes, qui n'appartiennent pas au genre *Streptomyces*, sont dits " rares".

Ils appartiennent, entre autres, aux genres *Microspora*, *Microtetraspora*, *Amycolatopsis*, *Actinomadura* ou *Saccarothrix*.

Les Actinomycètes rares ont été généralement considérés comme des souches d'Actinomycètes, dont la fréquence d'isolement par des méthodes conventionnelles, est beaucoup plus faible que celle des souches de *Streptomyces* (Sateesh *et al.*, 2011).

Cette présence relativement faible des Actinomycètes « rares », contrairement aux diverses espèces de *Streptomyces*, dérive du fait qu'ils sont difficiles à isoler dans l'environnement, et du fait qu'ils sont difficiles à cultiver par les méthodes classiques (Berdy, 2005).

Il est difficile d'isoler de nouveaux genres d'Actinomycètes rares avec les méthodes conventionnelles, pour ce faire il faut tenir compte de plusieurs facteurs durant la procédure d'isolement telle que, le choix de l'habitat écologique pour l'échantillonnage, les traitements physiques et chimiques ainsi que, l'utilisation de milieux d'isollements sélectifs (Monisha, 2011).

### II.3.1. Choix de l'écosystème pour l'échantillonnage

Le choix de nouvelles niches écologiques non explorées auparavant est un facteur essentiel dans la démarche d'isolement.

- Les fonds marins : à potentiel intéressant restent très largement inexplorés ;
- Les soles alcalines et acides : potentielle de production enzymatique et d'antibiotiques ;
- Les déserts et décharges industrielles ;
- Les glaciers (pôle nord et sud) : isolement d'actinomycètes psychrophiles (Zhang *et al.*, 2007).

### II.3.2. Traitement chimique

On cite plusieurs méthodes de prétraitement chimique du sol, pour faciliter l'isolement : Agent germicide : les spores de *Streptosporangium* et *Microbispora* résiste au phénol (Hong, *et al.*, 2009); et addition du carbonate de calcium.

Les antibiotiques et les antifongiques : sont ajoutés au milieu d'isolement ex : gentamicine, kanamycine et acide nalidixique...etc. (Zhang, 2011) ; par ailleurs la chimiotaxie qui consiste en traitement avec la xylose, le chlorure, le  $\gamma$ -collidine, le bromure et la vanilline, qui facilitent l'accumulation des spores des genres suivants : *Actinoplanes*, *Dactylo-sporangium* et *Catenuloplanes* (Hayakawa, 2008).

Le traitement au chloramine: en l'additionnant au milieu d'isolement (l'acide humique et la vitamine), la croissance d'Actinomycètes rare est favorisée (Hong *et al.*, 2009).

### II.3.3. Traitements physiques

Le traitement à la chaleur qui consiste à un traitement du sol à 100°C pendant 15 minutes, afin de sélectionner le genre *Actinomadura* (Suzuki *et al.*, 1994) ; la centrifugation sur gradient de sucrose est également usitée, qui permet l'isolement sélectif de *Nocardia sp.* (Yamamura *et*

*al.*, 2005). La centrifugation différentielle est également utilisé pour séparer les zoospores mobiles et éliminer les non mobiles ; en fin la radiation qui consiste en traitement des échantillons du sol aux UV (**Hayakawa, 2008**).

#### **II.4. Développement et croissance des Actinomycètes**

Généralement, le développement des Actinomycètes concerne la formation du mycélium (aérien et de substrat) et la formation des spores (endospore et exospore) (**Hong *et al.*, 2009**).

##### **II.4.1 Formation de mycélium du substrat et du mycélium aérien**

###### **II.4.1.1. Mycélium du substrat**

Chez les Actinomycètes, un mycélium de substrat se réfère aux hyphes de surface ; qui peuvent pénétrer à l'intérieur du milieu solide, dans lequel ils continueront à se développer (**Willey *et al.*, 2008**).

###### **II.4.1.2. Mycélium aérien**

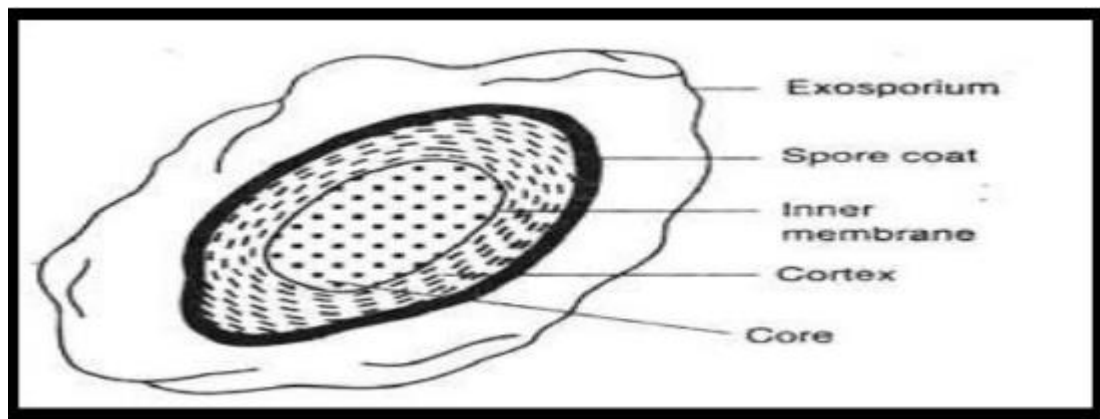
C'est un tapis d'hyphes formé par les Actinomycètes, qui se développe au-dessus du mycélium du substrat ; conférant ainsi un aspect duveteux aux colonies bactériennes (**Willey *et al.*, 2008**).

##### **II.4.2. Formation des spores**

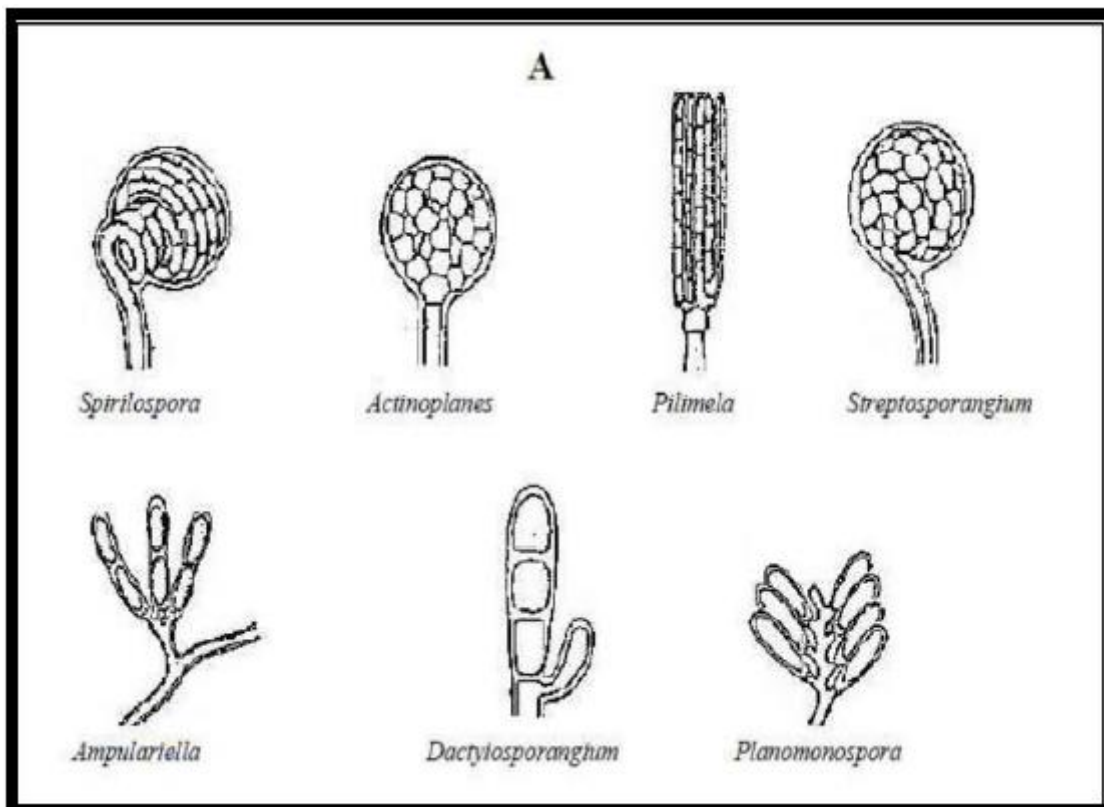
La plupart des Actinomycètes possèdent la capacité de sporuler, cependant, le mode de sporulation diffère et constitue un critère de classification (**Michael et John, 2007**), on trouve deux types de spores :

###### **II.4.2.1. Les endospores**

Les endospores sont produites par des Actinomycètes thermophiles, elles sont formées d'une réorganisation du cytoplasme, avec une formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe (**Figure. 03**). Ces spores produites par des Actinomycètes thermophiles sont semblables aux spores de *Bacillus*, avec une paroi externe épaisse, multicouche, très résistante, enveloppant la membrane cytoplasmique, le cortex, le manteau sporale et l'espace intra-cytoplasmique, qui contient les ribosomes et le matériel génétique. Ces spores contiennent de l'acide dipicolinique (**Figure. 04**). (**Leclerc *et al.*, 1977**).



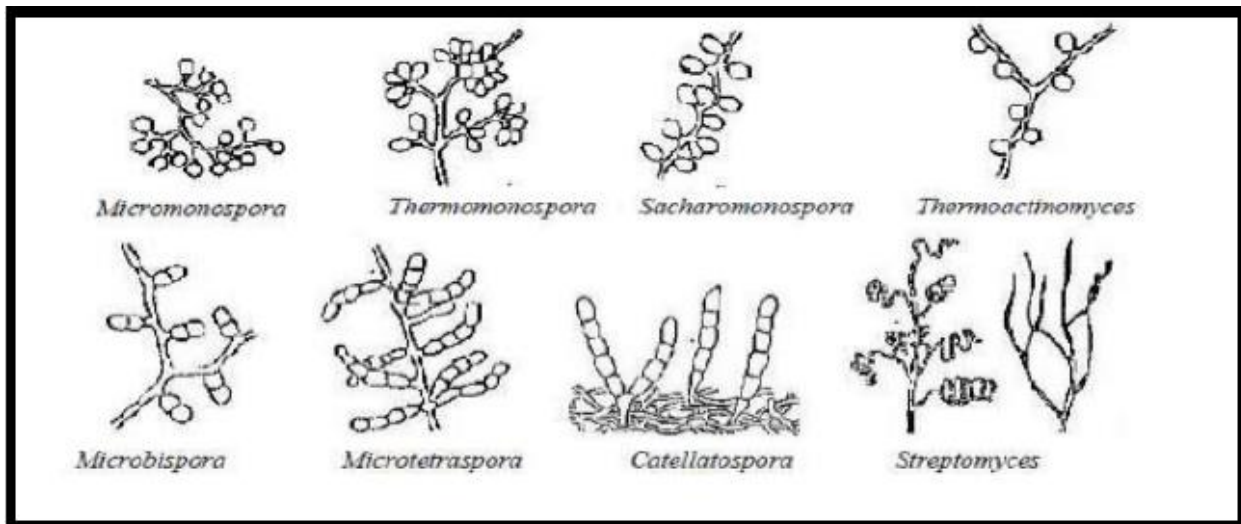
**Figure. 03 :** Structure d'une endospore Actinomycétale (Messaoudi, 2013).



**Figure. 04 :** Types des chaînes des endospores chez les Actinomycètes (Messaoudi, 2013).

#### II.4.2.2. Les exospores

Beaucoup d'Actinomycètes qui forment des hyphes ; produisent des exospores par septation et fragmentation des hyphes, ces spores sont dépourvues de structures spécialisées (**Figure. 05**), mais font néanmoins preuve de résistance, notamment vis-à-vis de la dessiccation et de certains produits chimiques (**Loucif, 2008**).



**Figure. 05 :** Types des chaînes des exospores chez différents genres d'Actinomycètes (Messaoudi, 2013).

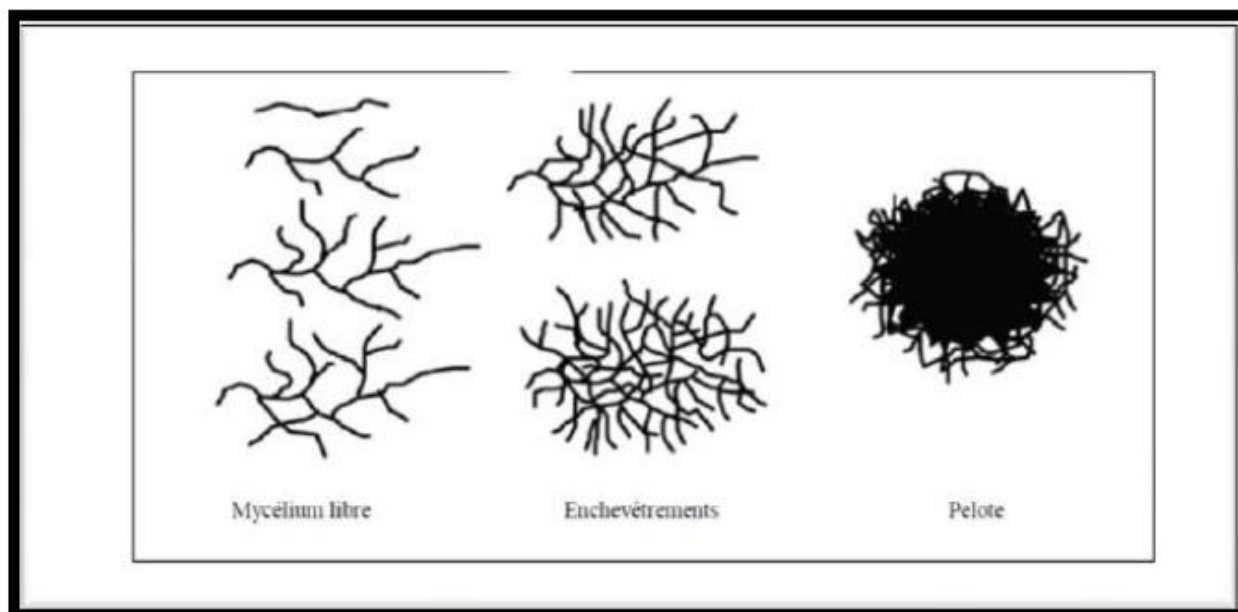
#### II.4.3. Croissance des actinomycètes sur milieu solide et liquide

Sur un substrat solide comme la gélose, le réseau ramifié d'hyphe formé par les Actinomycètes se développe à la fois à la surface de substrat et à l'intérieur de ce dernier pour former un mycélium végétatif (Prescott *et al.*, 2003).

La croissance de mycélium aérien est influencée par plusieurs facteurs, notamment : la composition de milieu de croissance, la température d'incubation et la présence de composés stimulant spécifiquement le mycélium aérien (Pine, 1970) Le mycélium de substrat est aérobic facultatif tandis que le mycélium aérien est aérobic stricte (Silvey, 1975).

Le mycélium aérien appelé aussi le mycélium secondaire, est formé d'hyphe dressés sur le mycélium de substrat. Ces hyphe aériens sont plus épais et beaucoup moins ramifiés que les hyphe de substrat, ils sont en général pigmentés et enfermés dans une enveloppe externe hydrophobe (Prescott *et al.*, 2003).

Le milieu liquide nécessite une aération du milieu par agitation et par injection d'air ou oxygène. Les *Streptomycètes* exposés à ces conditions, peuvent croître par élongation des filaments et présentés par la suite, trois types de morphologies soit : sous forme de pelotes ou bien sous forme mycélium libre, ou encore par enchevêtrement de mycélium (Figure.06). (Saffroy, 2006).



**Figure. 06 :** Morphologies rencontrées au cours de culture liquide (Amanullah *et al.*, 2000).

## II.5. Le métabolisme des Actinomycètes

La différenciation morphologique s'accompagne d'une différenciation métabolique. 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). Deux des propriétés les plus significatives des Actinomycètes sont leur capacité à se développer sur les substrats les plus divers, et leur aptitude à synthétiser de très nombreux métabolites bioactifs. En effet, la streptomycine fut le premier antibiotique ayant pour origine une souche de *Streptomyces* (Theilleux, 1993).

D'après Tarkka et Hampp (2008), les métabolites secondaires des *Streptomycètes* peuvent être séparés en quatre classes distinctes en fonction de leur activité biologique :

- Agents antagonistes, comportant des antibiotiques, des antifongiques, des anti protozoaires et même des antiviraux.
- Agents pharmacologiques tels que des antis tumoraux et des inhibiteurs d'enzymes.
- Agents agrobiologiques tels que des pesticides et des herbicides.
- Composés à activité régulatrice, tels que des facteurs de croissance.

Ces propriétés traduisent la richesse tout à fait remarquable du métabolisme cellulaire de ce groupe microbien (Theilleux, 1993). La diversité métabolique de la famille des *Actinomycetaceae* est due à leur génome de grande taille qui renferme des centaines de facteurs de transcription, contrôlant l'expression des gènes, leur permettant de répondre à des besoins spécifiques (Singh *et al.*, 2006).

### II.5.1. Le métabolisme primaire

Le métabolisme primaire des Actinomycètes est semblable à celui des autres organismes. Les métabolites primaires ou généraux essentiels forment la structure cellulaire, et permettent le fonctionnement du métabolisme général (**Theilleux, 1993**).

### II.5.2. Le métabolisme secondaire

Le métabolisme secondaire se différencie du métabolisme primaire, par le fait qu'il concerne des métabolites non directement impliqués dans la croissance et la vie de l'organisme (**Theilleux, 1993**). De manière générale, le métabolisme secondaire est considéré comme l'ensemble des voies de synthèse de composés, qui n'ont ensuite pas des fonctions apparentes dans le métabolisme cellulaire (**Colombié, 2005**).

Parmi les microorganismes producteurs de métabolites secondaires possédant une activité anticellulaire, 70% appartiennent au groupe des Actinomycètes et parmi eux, on trouve 95% de *Streptomyces*. Environ 21% de ces métabolites présentent une activité antifongique, se répartissant également entre substances de structure polyénique et non polyénique (**Bastide et al., 1996**).

Après les antibiotiques, les enzymes sont les produits industriels les plus importants des Actinomycètes (**Theilleux, 1993**). En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telles que les protéases, les chitinases (**Vonothini et al., 2008**), les amylases, les cellulases, les xylanases et les lipases (**Park et al., 2002**).

Les protéases d'Actinomycètes sous forme libre ou immobilisées sont employées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, en tannerie et comme additifs dans les détergents (ex : pronase de *S.griseus*) (**Theilleux, 1993**).

Par ailleurs, les Actinomycètes produisent de fortes quantités de chitinases et de  $\beta$ -1-3-glucanase causant des plasmolyses et des lyses des parois cellulaires des germes pathogènes (**Conn, 2005**).

## II.6. Production de biomolécules d'intérêt thérapeutique et biotechnologique

### II.6.1. Les antibiotiques

Le terme désigne tout composé chimique élaboré par un microorganisme (ou produit par synthèse), dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des microorganismes sensibles. On distingue les activités bactériostatiques, qui inhibent la croissance microbienne, et les activités bactéricides, qui tuent. Souvent un même antibiotique peut exercer l'un ou l'autre de ces effets, en fonction de sa concentration (**Prescott, 1995**).

Les antibiotiques sont des molécules issues du métabolisme secondaire qui ont été particulièrement étudiées du fait de leur importance en thérapie humaine et vétérinaire (Coates et Hu, 2007).

Sur 8100 molécules qui ont été recensées vers la fin de l'année 1999, 45,6% ont été produites par le genre *Streptomyces*, 16,0% par des Actinomycètes autres que *Streptomyces*, 16,9% par d'autres bactéries et 21,5% par des champignons. En plus du nombre important de ces molécules, un autre aspect impressionnant des antibiotiques est la diversité de leurs structures chimiques (Demain et Lancini, 2006).

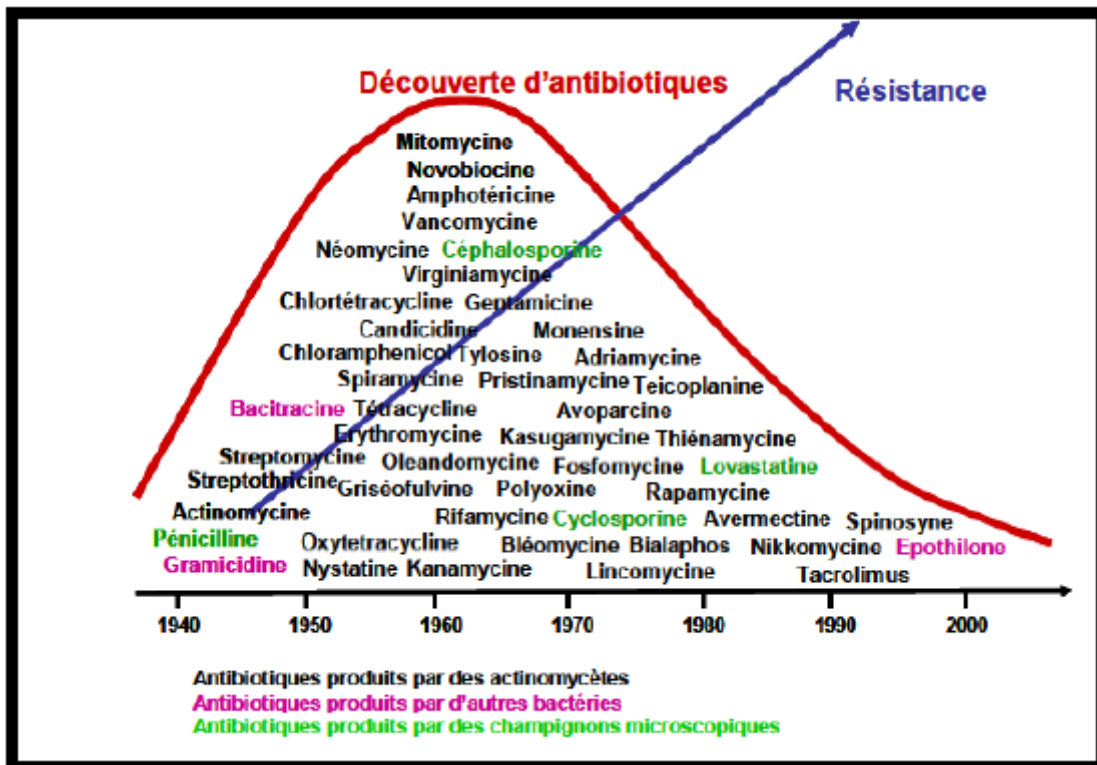


Figure.07 : Age d'or de la découverte des antibiotiques (Hopwood, 2007).

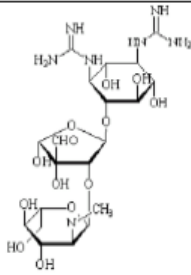
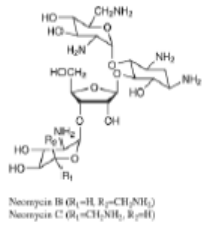
Les antibiotiques produits par *Streptomyces* montrent une grande diversité au niveau de leurs structures et de leurs cibles cellulaires, illustrée dans le (Tableau.06).

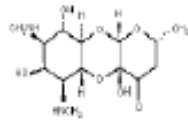
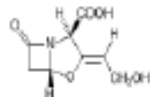
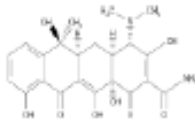
Ils couvrent les familles de composés majeures commercialisées aujourd'hui : les macrolides, les glycopeptides, les pénicillines, les aminoglycosides et les angucyclinones. Ils représentent aujourd'hui un marché considérable de vingt-huit milliards de dollars au niveau mondial (Thomson *et al.*, 2004).

Outre les antibactériens, l'activité de ces molécules peut s'exercer vis-à-vis des champignons. L'antifongique le plus exploité en thérapeutique est la nystatine, un tétraène extrait de culture de *Streptomyces noursei* (Ouhdouch, 2001).

Les antibiotiques issus des Actinomycètes sont utilisés en élevage comme adjuvants pour l'alimentation animale en stimulant la croissance et en améliorant le rendement alimentaire ou en protégeant les jeunes en début d'élevage. C'est le cas des bambermycines utilisées chez le porc et les volailles. Les antibiotiques sont aussi largement utilisés en médecine vétérinaire, comme L'ivermectine produite par *Streptomyces avermitilis*, qui est un anthelminthique (contre les nématodes chez les animaux) (Stapley et Woodruff, 1982).

Tableau. 06 : Structures et cibles cellulaires d'antibiotiques produits par des souches du genre *Streptomyces*. (Ouhdouch, 2001).

Nom	Bactérie productrice	Structure	Cible cellulaire et mécanisme d'action	Référence
Streptomycine	<i>Streptomyces griseus</i>		<p>Sous unité 30S du ribosome</p> <p>Inhibe la traduction des protéines (initiation)</p>	Jana et Deb (2006)
Néomycine	<i>Streptomyces fradiae</i>	 <p>Neomycin B (R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) Neomycin C (R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, R<sub>2</sub>=H)</p>	<p>Sous unité 30S du ribosome</p> <p>Inhibe la traduction des protéines (initiation)</p>	Jana et Deb (2006)

Spectinomycine	<i>Streptomyces spectabilis</i>		<p>Sous unité 30S du ribosome</p> <p>Inhibe la traduction des protéines (initiation)</p>	<p>Jana et Deb (2006)</p>
Acide clavulanique	<i>Streptomyces clavuligerus</i>		<p>Inhibiteur de beta-lactamase (associé à un traitement par des antibiotiques de type beta-lactame)</p>	<p>Reading et Cole (1977)</p>
Tétracycline	<i>Streptomyces aureofaciens</i>		<p>Sous unité 30S du ribosome</p> <p>Inhibe la traduction des protéines (inhibe la liaison des aminoacyl-ARNt sur</p>	<p>Tanaka et al. (1972)</p>

# MATÉRIEL ET MÉTHODES

### III.1. Isolement et screening des souches des *Actinomycètes*

#### III.1.1. Origine du prélèvement des échantillons de sols

Les échantillons de sols sahariens devraient être prélevés à partir de la région de **Mecheria** qui se situe à 350 km de Sidi Bel Abbes. Les prélèvements des échantillons devraient être effectués dans des conditions d'asepsie à l'aide d'une grande spatule stérile à 15 cm de profondeur après avoir écarté les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol. Les échantillons de sol devraient être transportés dans des flacons stériles au laboratoire à température ambiante (**Kitouni, 2007**).

#### III.1.2. Isolement et milieux de culture utilisés

##### III.1.2.1. Isolement de souches actinomycètes à partir d'échantillons de sols non traités

Les isolats devraient être obtenus à partir des échantillons de sol par la méthode des suspensions dilutions (**Badji et al., 2005 ; Boussaber et al., 2012**).

1g d'échantillon de sol non traités devrait être dilué dans 09 ml d'eau physiologique stérile (NaCl 9g/l) puis des dilutions décimales devraient être réalisées de ( $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ) et devraient être agitées au vortex. Un volume de 0,4ml de chaque dilution devrait être prélevé à l'aide d'une micropipette et devrait être étalé en surface des boîtes de Pétri contenant les milieux d'isollements. Les boîtes de Pétri devraient être incubées à 28°C ; des observations régulières et quotidiennes devraient être effectuées tout au long de la période d'incubation (**Badji, Riba et al., 2005**).

Les milieux Bennett, chitine-vitamine B, SCA et GLM devraient être utilisés pour l'isolement des Actinomycètes à partir de l'échantillon de Mecheria (**Jihani et al., 2012**).

#### III.1.3. Traitement des échantillons

0,1g du carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ), devrait être ajouté dans 1g de sol ; le mélange devrait être mis à incuber à 28°C pendant 7jours (**Cavalla et Eberlin, 1994 ; Boussaber et al., 2012**).

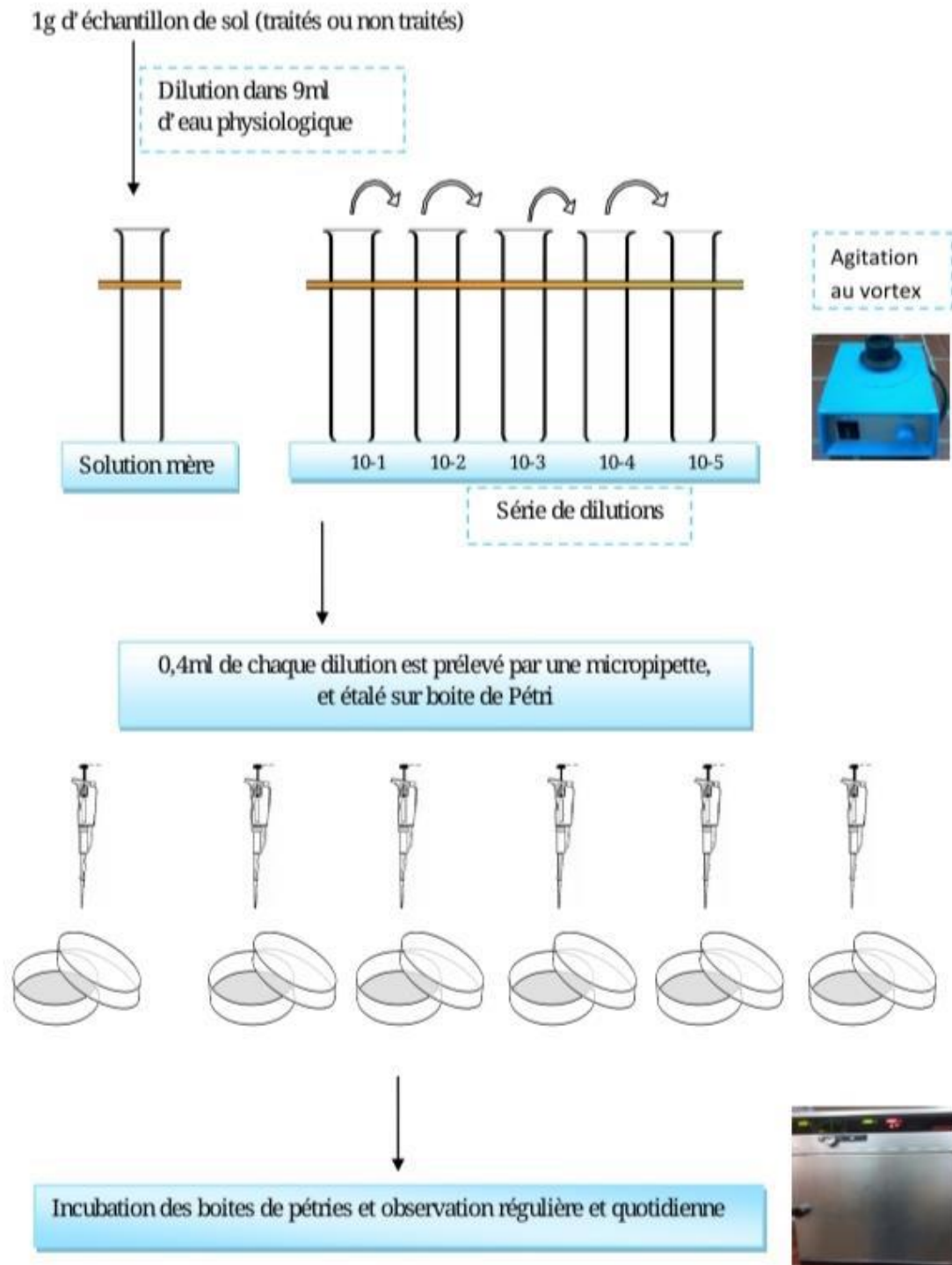
Après 7 jours d'incubation, 1g de chaque échantillon de sol traité au  $\text{CaCO}_3$ , devrait être dilué dans 09 ml d'eau physiologique stérile. Pour chaque dilution ( $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ) un volume de 0,4ml devrait être étalé en surface des boîtes de Pétri contenant les milieux d'isollements (**Loucif, 2011**).

**III.1.3.1. Les milieux de cultures utilisés**

L'isolement devrait être effectué en utilisant 10 milieux de culture différents :

- Bennett (Badji, Riba *et al.*, 2005).
- GLM (Boudemagh, 2007).
- ISP<sub>2</sub> (Cheriti *et al.*, 2012).
- Glucose-asparagine (Kitouni, 2007).
- NPH (Loucif, 2011).
- SCA (Küster et Williams, 1964).
- Chitine (Aouiche, Sabaou *et al.*, 2012).
- AGS (Jihani *et al.*, 2012).
- Pridham (Jihani *et al.*, 2012).
- YEGA (Badji, Riba *et al.*, 2005).

Les compositions des milieux sont données en **Annexe II**.



**Figure. 08 :** Les étapes à suivre pour l'isolement des Actinomycètes à partir d'échantillons de sol (Badji, Riba *et al.*, 2005).

### III.1.3.2. Purification et conservation des souches

Afin d'obtenir des souches pures, les différentes colonies devraient être repiquées et ensemencées par la méthode des stries sur milieu SCA.

Les isolats purifiés devraient être conservés dans des tubes inclinés contenant le milieu SCA à 4°C.

## III.2. Mise en évidence de l'activité antibiotique des souches d'*Actinomycètes*

### III.2.1. Mise en évidence de l'activité antibiotique sur milieu solide

#### III.2.1.1. Microorganismes cibles

Afin de mettre en évidence l'activité des souches d'*Actinomycètes*, les isolats devraient être purifiés et testés pour leur activité à l'antibiotique vis-à-vis des microorganismes cibles suivantes :

- **Bactérie à Gram négatif** : *Escherichia coli* ; ATCC 25922
- **Bactéries à Gram positifs** : *Staphylococcus aureus* ; ATCC 29213

*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)

#### III.2.1.2 Standardisation de l'inoculum

La méthode de standardisation des germes cibles, qui devraient être utilisés est celle des suspensions diluées ; accompagnée de la mesure de la densité optique de la suspension bactérienne, à une longueur d'onde propre aux germes cibles (DO= 0,48-0,49), qui devrait être déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu UV mini. 1240), à une longueur d'onde 625 nm. La charge de l'inoculum qui devrait être utilisée est de  $10^7$  UFC/ml (**Billerbeck and Matan, 2008**).

La mise en évidence de l'activité antibactérienne, devrait être réalisée par la méthode des cylindres d'Agar (**Patel et Brown, 1969 ; Boughchiche et al., 2005**).

#### III.2.1.3. Technique des cylindres d'agar

Les souches d'*Actinomycètes* devraient être ensemencées en stries serrées à la surface du milieu gélosé SCA, (afin de former un tapis homogène). Après incubation à 28°C durant une période donnée, pour chaque souche étudiée, des cylindres d'agar de 06 mm de diamètre devraient être prélevés à l'aide d'un emporte-pièce.

Les cylindres d'agar devraient être déposés à la surface du milieu Mueller Hinton, et devraient être ensemencés en suite, par écouvillonnage avec les bactéries cibles ( $10^7$  UFC/ml). Les boîtes de pétri portant les cylindres d'agar devraient être placées à 4°C pendant deux heures pour permettre la diffusion des substances bioactives élaborées par les souches contrôles, puis devraient être incubées à 37°C pendant 24 heures (**Gungi et al., 1983**).

L'activité inhibitrice devrait être traduite par l'apparition d'une zone d'inhibition, qui devraient être appréciée après 18h à 24h d'incubation.

Les souches présentant une bonne activité vis-à-vis des germes cibles, devraient être sélectionnées pour la suite du travail.

### III.3. Production d'antibiotiques sur milieu liquide

- **Pré culture**

L'inoculum portant des spores devrait être raclé à partir du mycélium obtenu sur boîte de pétri incubée pendant 10 jours.

Des pré cultures des souches choisies devraient être préparés dans des tubes à essai contenant 3 ml du milieu SCA stérile et devraient incuber pendant 48h, dans un bain marie à 28°C, et sous agitation permanente à 250 rpm.

- **Culture**

Les prés cultures devraient être préparé précédemment servent à ensemercer 100 ml du même milieu liquide SCA contenu dans des flacons de capacité de 500 ml. L'incubation devrait être faite à 28°C sous agitation permanente à (250 rpm), tout au long de la durée d'incubation.

#### III.3.1. Méthode de diffusion des puits

Cette étude devrait être réalisé uniquement pour les souches sélectionnées par le test précédent sur milieu solide (cylindre d'agar), eu égard à leur activités antagonistes vis à vis des germes cibles (Nouasri, 1996).

- **Technique des puits**

Après incubation, la présence d'antibiotiques devrait être détectée par la méthode de diffusion dans des puits. Un aliquote de 200  $\mu$ l de surnageant brut devraient être prélevé stérilement puis devraient être introduit dans les puits, sur milieu Mueller Hinton (d'une épaisseur 6mm), avec les germes cibles.

Les boîtes devraient être d'abord, mis à 4°C pendant 2h afin de permettre la diffusion des substances actives tout en arrêtant momentanément la croissance des germes cibles, les boîtes devraient être par la suite incubées pendant 24 h à 48h à la température de croissance du germe cibles.

Les diamètres des zones d'inhibition devraient être alors mesurés à l'aide d'un " pied à coulisse" (Tortorano *et al.*, 1979).

### III.3.2. Cinétique de croissance et de production d'antibiotique et suivi du pH

La cinétique de croissance et de production d'antibiotiques et le suivi de l'évolution du pH des souches sélectionnées devraient être réalisés sur milieu SCA liquide.

Pour chaque souche, un pré culture devrait être préparé dans des tubes à essai contenant 3 ml de milieu SCA liquide. Après 48h d'incubation à 28°C sous agitation permanente à 250 rpm, le pré culture devrait êtreensemencée dans 100 ml du même milieu liquide contenu dans des flacons de capacité de 500 ml.

#### III.3.2.1. Cinétique de croissance

Au 2<sup>ème</sup> jour d'incubation des cultures, 2ml de chaque culture liquide des souches sélectionnées devraient être prélevés quotidiennement, dans des eppendorfs. Le poids sec du mycélium (biomasse) devrait être évalué selon la méthode (**Pfefferle et al., 2000**).

Après centrifugation des échantillons à 7000rpm/20min le culot mycélien obtenu devrait être lavé trois fois à l'eau distillée puis devrait être sécher à 105°C ; après, le poids sec du mycélium devrait être déterminé en matière sèche par soustraction du poids de la tare de l'eppendorfs (**Reghioua et al., 2008**).

#### III.3.2.2. Cinétique de production d'antibiotique

Dès le 2<sup>ème</sup> jour d'incubation des cultures liquides, le suivi de la production d'antibiotique devrait être effectué quotidiennement en prélevant 2 ml de chaque culture dans des tubes eppendorfs. L'évolution de l'activité antimicrobienne devrait être détectée par la méthode de diffusion dans des puits (200  $\mu$ l de filtrat de culture par puits de 6mm de diamètre) contre les germes cibles utilisés (**Jihani et al., 2012**).

#### III.3.2. 3. Evolution du pH

L'évolution du pH devrait être aussi suivie quotidiennement au 2<sup>ème</sup> jour d'incubation des cultures liquides en prélevant 2ml de chaque culture dans des tubes eppendorfs. (Les résidus des surnagent de cultures devraient être utilisés pour déterminer l'activité antimicrobienne afin de mesurer le pH) (**Reghioua et al., 2008**).

### III.4 Extraction d'antibiotiques

Après une culture de quelques jours, la culture devrait être centrifugée à 8000rpm /20min, le surnagent de culture devrait être récupéré afin de subir une extraction.

#### III.4.1. Extraction à partir du filtrat de culture (Choix du solvant d'extraction)

L'extraction des antibiotiques à partir du filtrat de culture nécessite le choix d'un solvant non miscible à l'eau. Trois solvants de polarité croissante devraient être utilisés ; L'hexane, L'acétate, d'éthyle et le butanol (**Badji et al., 2005; Aouiche et al., 2012**).

Afin de déterminer le meilleur solvant d'extraction, le filtrat devrait être mélangé dans une ampoule à décanter avec un volume égale de solvant (v/v). Les phases organiques qui devraient être récupérées, devraient être concentrées à sec à l'aide d'un rotavapor puis devraient être reprises dans un volume minimum de méthanol 80% (2ml), puis ils devraient être testées par la méthode de diffusion des puits contre les germes cibles, le méthanol devrait être utilisé comme témoin négatif.

# RÉSULTATS ET DISCUSSION

#### IV. Résultats et Discussion

D'après, (**Dommergues et Mangenot, 1970 ; Takahashi et Omura, 2003**), Les Actinomycètes sont des microorganismes très ubiquitaires, que l'on rencontre sur tous les substrats naturels courants. Dans le sol, les actinomycètes représentent 10 à 20 % de la population microbienne totale. Ainsi, (**Hasley et Leclerc, 1993**) qui ont constaté que Cette grande diversité métabolique leur permet d'avoir une importance écologique majeure dans l'environnement.

En outre, (**Sabaou et al., 1998**), Les sols des oasis du Sahara Algérien, bien que soumis à climat aride, se sont révélés riche en Actinomycètes parfois réputés rares de par le monde. On les trouve on seulement dans les horizons de surface, mais aussi à plus de 2 mètres de profondeur et en quantité appréciable.

D'autre part, (**Gazengo et al., 1998, Reponen et al., 1998**), ont constaté que, les spores d'Actinomycètes thermophiles sont produites en grande quantité et sont facilement mises en suspension dans l'air et leur dissémination se fait facilement grâce au mouvement de l'air, c'est le cas des spores de l'espèce *Actinomyces invulnerabilis* qui ne se détruisent qu'à une température de 130 °C, le traitement à 120 °C inhibe seulement leur germination.

De plus, (**Boudemagh, 2006**), a montré que les spores des genres thermophiles tels que *Thermoactinomyces*, *Saccharomonospora*, ou thermotolérants tels que *Pseudonocardia*, *Microbispora*...etc., sont également résistantes à des températures élevées.

Par ailleurs, (**Sanasam et Ningthoujam, 2010**), ont constaté que, les Actinomycètes représentent une grande proportion de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété de molécules bioactives entre autres des antibiotiques et d'enzymes extracellulaires.

En ce qui concerne l'activité antifongique des Actinomycètes, (**Lakshmipathy et Krishnan, 2009**), ont découvert qu'elle ne se limite pas seulement aux champignons filamenteux mais s'étend aux levures et aux dermatophytes. À titre d'exemple, la souche *Streptomyces mutabilis* présente une activité anti-candidale envers *Candida albicans* et la souche *Streptomyces rochei* présente une activité anti dermatophytique vis-à-vis le dermatophyte *Trichophyton rubrum*.

D'autre part, (**Monisha et al., 2011**), le traitement chimique des sols Sahariens au  $\text{CaCO}_3$  peut améliorer ou favoriser l'isolement d'Actinomycètes rares. Ainsi que les résultats de (**El-nakeeb et Lachevalier, 1963 ; Kitouni, 2007**), ont montré que le traitement des échantillons avec le  $\text{CaCO}_3$  favorise la sporulation en augmentant le nombre des Actinomycètes par rapport aux témoins non traités.

Par ailleurs, (**Boussaber et al., 2012**), font apparaître que les milieux GLM et Bennet permettent un bon isolement d'Actinomycètes, par rapport au milieu Glucose-asparagine. Cela peut être dû à la richesse des deux premiers milieux en matières organiques.

D'autre part, (**Kitouni, 2007**), a montré que le milieu NPH est le milieu le moins favorable pour l'isolement des Actinomycètes, car il est pauvre en sucre simple assimilable ou éventuellement en acides aminés essentiels et ne comporte que l'extrait de malt et l'extrait de levure comme seule source de carbone et d'azote.

En outre, (**El-nakeeb et Lachevalier, 1963**), ont trouvé que l'utilisation de certaines sources de carbone (amidon, chitine, glycérol) et d'azote (caséine, arginine, asparagine) ainsi que le traitement chimique au carbonate de calcium  $\text{CaCO}_3$  rend les milieux moins favorables à la croissance des bactéries autres que les Actinomycètes et donc minimise les contaminants.

L'étude effectuée par (**Boudjella et al., 2006**), sur le genre *Streptosporangium* montre que le butanol est le meilleur solvant d'extraction des substances actives.

Par ailleurs, (**Zitouni et al., 2005**), ont montré aussi un taux d'extraction important avec le butanol sur le genre *Saccharothrix*.

D'autres part, (**Davies et Williams, 1970**), ont constaté que le choix du meilleur solvant d'extraction dépendra aussi du spectre d'action de l'antibiotique qu'on veut cibler, qu'il soit large ou étroit, c'est ainsi que le choix du solvant d'extraction dépend du solvant qui a permis une meilleure extraction et dont la zone d'inhibition est meilleure vis-à-vis du germe qu'on veut cibler.

Certains chercheurs (**Boudemagh et al., 2005**), ont trouvé que certaines souches d'Actinomycètes ont gardé leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis des bactéries à Gram positif sur milieu liquide et dont le diamètre des zones d'inhibitions était élevé, et atteignant son maximum aux alentours du 9<sup>ème</sup> et 13<sup>ème</sup> heures de culture. **Aouiche et al., (2012)**, Aussi fait le suivi de la production d'antibiotiques d'une souche de *Streptomyces* originaire de Sahara pendant 12 jours et elle a aussi gardé son activité en milieu liquide.

Par contre, (**Reghioua et al., 2008**), ont remarqué que les souches d'Actinomycètes étudiées avaient perdu leur potentiel antagoniste et inhibiteur vis-à-vis de la bactérie à Gram

négatif sur milieu liquide, cela peut être dû à la faible concentration de l'agent antimicrobien dans ce dernier.

En effet (**Bushell et al., 1996,1997**) ont expliqué ce phénomène par le fait que l'agitation du milieu de culture liquide entraîne de la fragmentation des filaments et ces petits fragments se trouvent incapables de produire des quantités importantes en antibiotiques.

De même, (**Jihani et al., 2012**) ont isolé 6 souches à partir d'une vieille maison de Maroc sont actives vis-à-vis des bactéries à Gram positif, et à Gram négatif, et dont le genre a été rapproché au *Streptomyces sp.* Aussi (**Ali Alharbi et al., 2012**), ont isolés des souches à partir du sol d'Arabie Saoudite actives vis-à-vis des bactéries à Gram positif, et à Gram négatif.

Ces résultats concordent avec ceux de (**Sateech et al., 2011**), qui ont isolés à partir Karwar sur le côté ouest de l'Inde, ou le nombre d'Actinomycètes isolés été de 54 souches et dont le nombre de souche active vis-à-vis des germes cibles été de 28 isolats.

Par contre les travaux de (**Badji et al., 2007**), sur la souche *Nonomuraea sp* ont montré qu'elle n'était active que sur les Gram positifs.

Pour conclure, (**Provost et al., 1997 ; Kim et al., 1999 ; Labeda et Kroppenstedt, 2000 ; Cook et al., 2003**), ont trouvé que, l'identification des espèces appartenant aux genres d'Actinomycètes, nécessite-en plus des caractères morphologiques et chimiques, des caractères physiologiques (température, pH optimaux et utilisation des sources carbonées et azotées...) et biochimiques (dégradation de certains substrats comme la gélatine, l'amidon, la caséine, les nitrates et les lipases...etc.).

Ces méthodes d'identification ont été abandonnées par plusieurs chercheurs pour les remplacer par les techniques moléculaires. Ces approches moléculaires sont souvent utilisées pour leurs rapidité et efficacité. Parmi les méthodologies employées, la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) est largement pratiquée. Le gène ADNr 16S est l'outil principalement utilisé pour l'identification moléculaire des bactéries.

# CONCLUSION

## Conclusion

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

La recherche de nouvelles substances antimicrobiennes dont le spectre d'activité serait plus large tout en étant moins agressif pour l'hôte semble toujours indispensable. Les Actinomycètes sont d'importants producteurs d'antibiotiques (75% par *Streptomyces*) et autres métabolites secondaires. Les deux tiers des quelque six mille antibiotiques isolés sont produits par les Actinomycètes.

L'objectif de ce travail a été le criblage de souches d'Actinomycètes à activité antibactérienne à partir du sol de la région de Mecheria.

Les résultats des tests morphologiques, physiologiques, biochimiques des bactéries qui devraient être étudiées devraient montrer que les Actinomycètes isolées du sol appartiennent au genre *Streptomyces*, l'identification devrait être effectuée essentiellement, en se basant sur des critères morphologiques et physiologiques sur des milieux spécifiques.

Ce travail préliminaire mérite d'être approfondi au niveau de l'identification moléculaire des différentes souches de *Streptomyces* isolées.

Les compétences acquises dans ce domaine peuvent être utilisées pour étudier la biodiversité des bactéries Actinomycétales et leurs métabolites secondaires à activité biologique.

De même il serait très intéressant de réaliser une étude structurale et une identification Complète des métabolites antimicrobiens produits par l'utilisation des techniques différentes.

Les perspectives de cette étude sont multiples :

- Optimisation de la production des antibiotiques en milieu liquide, recherche des meilleures sources de carbones et d'azote et éléments minéraux, aération pH, agitation.
- Purification complète des molécules produites en utilisant des techniques chromatographiques tels que l'HPLC.

- Détermination de leurs structures par l'utilisation de plusieurs techniques tels que la spectroscopie d'absorption en lumière UV-VIS et caractérisation avec la RMN afin de déterminer leurs structures chimiques.

Vu le besoin accru de nouvelles molécules bioactives lié à la forte incidence des infections bactériennes la recherche dans ce domaine paraît prometteuse.

**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

- Amanullah A., Justen P, Davies A, *et al.*, (2000). Agitation induced mycelia fragmentation of *Aspergillus oryzae* and *penicillium chrysogenum*. *Biochem. Eng. J.* 5(2) :109\_ 114 ambofaciens. Modélisation métabolique, simulation et capteur logiciel. Thèse de Doctorat.
- Aouiche A, Sabaou N, Meklat A, *et al.*, (2012). Activité antimicrobienne de *Streptomyces sp.* PAL111 d'origine saharienne et toxigènes résistants aux antibiotiques. *Journal de Mycologie Médicale.* 22 : 42-51.
- Badji B, Riba A, Mathieu F, Lebhiri A, Sabaou N. (2005). Activité antifongique d'une souche d'*Actinomadura* d'origine sahariens sur divers champignons pathogènes et toxigènes. *Journal de Mycologie Médicale.* 15, 211\_219.
- Badji B. (2006). Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'Actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura* et *Nonomurea*. Thèse de Doctorat. *Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou*, 226p.
- Bastide A, Andriantsoa M, Laget M & Duménil G. (1986). Isolement et sélection de souches d'Actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique mircen J. 2:453-466.
- Batelli L, Duquenne P, Grenuillet F, Simon X, (2013). Development and evaluation of a method for the quantification of airborne Thermo *Actinomyces vulgaris* by real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods* 92: 25-32.
- Boudjella H. (2007). Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par trois souches. Thèse de Doctorat. *Institut National Agronomique El-Harrach (Alger)*.177p.
- Boughachiche F, Reghioula S, Oulmi L, Zerizer H, Kitouni M. (2005). Isolement des souches d'Actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha d'Ain Mlila. *Sciences & Technologie.* 23 :5-10.
- Boussaber E, Kadmiri I, Hilali L. (2012). Isolement des souches productrices des substances antifongiques. *Science lib Edition Mersenne* .121203(4).
- Calvet R, (2003), Le sol propriétés et fonctions, T1. ED France agricole, Paris.456p
- Cavalla M, Eberlin T. (1994). Isolement des *Streptomyces* du sol. L'opéron. XIX 13-17.
- Cheraiti N, Kirane D, (2012). Isolement des souches d'Actinomycètes productrices de nouvelles molécules antifongiques. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn* .1(6) : 18-34.

- Choulet F. (2006). Evolution du génome des Streptomyces : transfert horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Thèse de Doctorat. *Université Henri Poincaré, Nancy 1*, p210.
- Coates A, Hu Y. (2007). Novel approaches to developing new antibiotics for bacterial Infections. *Brait. J. Pharmacol.* 152: 1147–1154.
- Colombié. V. (2005). Description de la production de spiramycine par *Streptomyces ambofaciens*. Modélisation métabolique, simulation et capteur logiciel. Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de *Toulouse*. p174.
- Conn. V.M. (2005). Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. *Flinders University*. P. 297.
- Davet. P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. Edition INDRA. *Paris*.
- Demain A, Lancini G. (2006). Bacterial Pharmaceutical Products in Procaryotes, 1:812–833.
- Dommergues Y, Mangenot F. (1970) écologie microbienne du sol. Masson et Cie, paris, pp9-72(796).
- Ensign J.C., Normand P., Burden J.P, Yallop C. A. (1993). Physiology of some Actinomycètes genera. *Research in microbiology* 144(8):657-660.
- Gao M, Yang M, Hu J, Shao B, Zhang H, et Li H. (2003). Identification of ubiquinones and menaquinones in activated sludge by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. of Chromato. A.* 1007 :31-37.
- Gobat M., Argano M., Mathey W., (2003). Le sol vivant, France, 568pages.
- Goodfellow M, Simpson K. E. (1987). Ecology of *streptomycètes*. *Frontiers Appl. Microbiol.* 2:97-125.
- Jihani S, Brodolin K, Iraqui M, Ibsouda S, Haggoud A, (2012). Isolation and molecular identification of antibiotics-producing Anctinomycètes from an old house in the medina of Fez, Morocco. *African Journal of Microbiology research.* 6 (47), 7370-7376.
- Khan J.A, Patel A.S, (2011). Extraction and purification of antibacterial metabolites from *Actinomycetes spp.* Isolated from soil sample. *International journal of pharmaceutical research and development.* Three (10): 63-71.
- Kilbertus G. (1980). Activité biologique du sol. Revue bois et forêt des tropique N°190, Laboratoire de botanique et microbiologie de Nancy I.

- Kitouni M, (2007). Isolement des bactéries *Actinomycétales* productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes, identification moléculaires des souches actives et caractérisation préliminaires des substances élaborées. *Thèse*.
- Lamari N L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'Actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de doctorat en biologie, option microbiologie, *Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou*, p.15
- Lechevalier M.P, De bièvre C, Lechevalier H.A. (1977). Chemotaxonomy of aerobic Actinomycetes: phospholipid composition. *Biochemical Systematics and Ecology*, 5:249–260.
- Lechevalier M.P, Lechevalier H.A. (1970). Composition of whole-cell hydrolysates as a criterion in the classification of aerobic Actinomycetes. *In: The Actinomycetales*. Prauser H. (Eds.). G. Fisher Verlag, Jena, p. 311–316.
- Leclerc H, Buttiaux R, Guillaune J, Wattre P. (1977). Microbiologie Appliquée. *Doin éditeurs 8-place de l'odéon 7500-Paris VI-P* : 68-69.
- Loucif K, (2011). Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'Actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Mémoire *Magister en microbiologie. Université Mentouri-Constantine*.
- Marilley L, Vogt G, Aragno M. (2007). Diversité bactérienne du sol et de la rhizosphère et effet d'une augmentation en CO<sub>2</sub> atmosphérique ; Laboratoire de microbiologie, Université de Neuchâtel, Rue Emile-Argand 11, Neuchâtel.
- Massaoudi, (2013). Contribution à la caractérisation des souches d'Actinomycètes Mémoire de magistère en microbiologie appliquée. Université Abou Bakr Belkaid-Telemcen.
- Michel Claude G, Christian W, Jean-claude R, Berthelin J, Jean-louis M. (2005). Sol et environnement. Dunod, Paris., pp 45-59.
- Nandjwad B, Chandrashehara S, Goudanavarp S. (2010) Production nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Production of antibiotics from soil isolate of *Actinomycetes* and evaluation of their antimicrobial activities.
- Nouasri A, (1996). Les genres *Microellobosporia*, *Saccharomonospora*, *Thermoactinomyces* et *Thermomonospora* (Actinomycétales) dans les sols sahariens, Taxonomie numérique, production, purification et caractérisation partielle des principaux antibiotiques. *Thèse de magister*. P.130.

- Noumeur, S. (2008). Biodégradation du 2,4-dichlorophénol par le macrobiote tellurique de la région de Hamla (Batna). Th doctorat : Biologie : Université Mentouri Constantine.
- O'Donnell A.G, Goodfellow A, Minnikin D E. (1982). Lipids in the classification of *Nocardioides*: Reclassification of *Arthrobacter simplex* (Jensen) Lochhead in the genus *Nocardioides* (Prauser) emend. O'Donnell et al., as *Nocardioides simplex* comb.nov.
- Ouhdouch Y, Barakate M, Finanse C. (2001). Actinomycetes of Moroccan habitats: Isolation and screening for antifungal activities. *Eur. J. Soil Biol.*37:69-74.
- Ouhdouch Y. (2003). Actinomycètes. Premier atelier national du réseau Nafrinet-Maroc. Institut Scientifique 23-23/10/2003. Semlalia. Marrakech. Arch. Microbial. 133. 323-329. P 63-81.
- Park J.O, El-Tarabily K.A, Ghisalberti, E.L. (2002). Pathogenesis of *Streptoverticillium albireticuli* on *Caenorhabditis elegans* and its antagonism to soil-borne fungal pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 35: 361–365.
- Patel J.J, Brown M.E, (1969). Interactions of *Azotobacter* with *Risosphere* and root surface micro flora. *Plant and soil*. 31 :273-281.
- Pedro G. (1996). La science du sol a l'aube du XXIème siècle. Rennes.17 :136-143.
- Pferfferle C, Theobald U, Gurtlet H, Fiedler H.P, (2000). Improved secondary metabolite production in the genus *Streptosporangium* by optimization of the fermentation conditions. *Journal of Biotechnology*, 80: 135-142.
- Pine .L. (1970). Classification and phylogenetic relationship of microaerophilic Actinomycetes. *Int. J. Bacteriol.* 20:445\_474
- Prescott L, Harley J.P, Klein D. (1995). Microbiologie tome II. *De Boeck, Bruxelles*. P.506–517.
- Prescott L.M, Harley J. P, Klein D. (2003). Microbiologie de Boeck & Larcier. France
- Reghiuoa S, Boughachiche F, Oulmi L, *et al.*, (2008). Séparation et caractérisation préliminaire d'antibiotiques produits par une souche représentative d'Actinomycètes isolé de sol aride de la région de Biskra. *Sciences & Technologie*. C-N°28. 59-64pp.
- Sabaou N. (1988). Contribution à l'étude des Actinomycètes des sols des palmeraies algériennes: systématique et écologie. Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles, option Microbiologie, *USTHB, Alger*. 192 p.
- Saffroy S (2006). Etude du métabolisme carboné chez *streptomyces pristinaespiralies*. Thèse de Doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaire. *Institut national Polytechnique de Lorraine France*. P.150

- Silvey J, Raoch A. (1975). The test and odor producing aquatic *Actinomycetes*. Crit. Rev. Environ control. 5: 233\_373.
- Singh. S.L; Baruah. I; and Bora. T.C. (2006). Actinomycetes of Lake Loktat Habitat: Isolation and screening for Antimicrobial Activities. Biotechnol, 5 (2) :217-221.
- Stapley E.O, Woodruff H.B. (1982). Avermectins, antiparasitic lactones produced by *Streptomyces avermitilis* isolate from a soil Japan. In: *Trends in antibiotic Research. Japan*: 154-170.
- Theilleux J. (1993). Les Actinomycètes in : Microbiologie Industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Lavoisier, Tech et Doc, V 612p
- Theodorakopoulos, N. (2013). Analyse de la biodiversité bactérienne d'un sol contaminé de la zone d'exclusion de Tchernobyl et caractérisation de l'interaction engagée par une souche de *Microbacterium* avec l'uranium. Thèse de Doctorat : Microbiologie : Université d'Aix-Marseille.
- Thomson C.J, Power E, Ruebsamen-Waigmann H. (2004). Antibacterial research and development in the 21(st) Century-an industry perspective of the challenges.Curr Open Microbiol, 7(5):445–50.
- Tresner H.D, Davies M.C, Backus E.J. (1961). Electron microscopy of *Streptomyces* spores morphology and its role in species differentiation. *Journal of Bacteriology*, 81 :70–80.
- Williams S, Locii R, Beswick A, *et al.*, (1993). Detection and identification of novel Actinomycètes. *Pres Microbial* 144:653-656.

# ANNEXES

# Annexe 01

## Composition des milieux de culture

### ➤ Milieu Oslen

- ❖ Caseinate de soduim .....2g
- ❖ Aspergine..... 0,1g
- ❖ Propionate de soduim..... 0,4g
- ❖ Phosphate dipotassique..... 0,5g
- ❖ Sulfate de Magnisuum .....0,1g
- ❖ Sulfate de fer..... 1g
- ❖ Agar 15g, Glycérol..... 5g.

### ➤ Bennett

- ❖ Peptone.....2g
- ❖ Glucose..... 10g
- ❖ Extrait de viande .....1g
- ❖ Extrait de levure .....1g
- ❖ Agar .....18g
- ❖ Eau distillé .....1000ml
- ❖ ph 7,2..... (B. Badji A. Riba et al. ; 2005).

### ➤ Chitine

- ❖ Chitine..... 2g
- ❖ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>..... 0,2g
- ❖ NaCl..... 0,3g
- ❖ CaCo<sub>3</sub> .....0,02 g
- ❖ FeSo<sub>4</sub>7H<sub>2</sub>O..... 10mg
- ❖ Agar.....18g
- ❖ Eau distillé .....1000ml
- ❖ ph 7,5 (Badji et al., 2005).

### ➤ AGS

- ❖ Arginine..... 1g
- ❖ Glycérol .....12,5 g
- ❖ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> .....1g
- ❖ NaCl.....1g
- ❖ 7H<sub>2</sub>O .....0,5g
- ❖ Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O..... 0,01g
- ❖ Cu(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>5H<sub>2</sub>O..... 0,001g

- ❖  $Zn(SO_4)_3 \cdot 7H_2O$ ..... 0,001g
- ❖  $MnSO_4, H_2O$ ..... 0,001g
- ❖ Agar..... 18g
- ❖ PH 7,2..... (Jihani et al. 2012).

➤ **YEAGA**

- ❖ Extrait de levure .....10g
- ❖ Glucose..... 10g
- ❖ Agar..... 18g
- ❖ Eau distillé q.s.q .....1000ml
- ❖ PH 6,8.....( Badji A. Riba et al. ; 2005) .

➤ **PDA (Potato Dextrose Agar) :**

Pour la préparation, laver et couper en petits morceaux 200 g de pomme de terre. Les mettre dans 700ml d'eau distillée et porter à ébullition, après filtrer et compléter à 1 litre:

- ❖ Saccharose .....10 g
- ❖ Agar .....15 g
- ❖ Eau distillée .....1000 ml

➤ **MEA (Malt Extract Agar) :**

- ❖ Extrait de malt..... 20 g
- ❖ Peptone..... 1 g
- ❖ Glucose..... 20 g
- ❖ Agar .....15 g
- ❖ Eau distillée .....1000 ml

➤ **Milieu ISP1 :**

- ❖ Tryptone .....5g
- ❖ Extrait de levure..... 3g
- ❖ Agar ..... 15g
- ❖ Eau distillée q.s.p .....1000ml.
- ❖ pH = 7,2

➤ **Milieu ISP2 :**

- ❖ Glucose .....4 g

- ❖ Extrait de levure.....4 g
- ❖ Extrait de malt.....10 g
- ❖ Eau distilléeq.s.p..... 1000 ml
- ❖ Agar..... 20 g
- ❖ pH 7,2.

➤ **Glucose asparagine**

- ❖ Glucose.....10g
- ❖ Asparagine..... 0.5g
- ❖ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>..... 0.5g
- ❖ Agar..... 15g
- ❖ Eau distillée.....1000 ml
- ❖ pH 7.2 autoclaver à 120 °C pendant 20 min.

➤ **GLM (Glucose extrait de malt et de levure)**

- ❖ Glucose.....10g
- ❖ Extrait de levure.....3g
- ❖ Extrait de malt..... 3g
- ❖ Peptone..... 5 g
- ❖ Eau distillée.....1000 ml
- ❖ pH 7.2 autoclaver à 120 °C pendant 20min.

## **Annexe 02**

### **Matériel qui devrait être utilisé**

- Autoclave
- Bain marie
- Balance
- Bec bunsen
- Centrifugeuse
- Etuve
- Four pasteur
- Loupe binoculaire
- Micro pipette
- Microscope optique
- Plaque agitatrice chauffante
- Rota vapeur
- Spatule
- Spectrophotomètre
- Vortex

## Annexe 03

- **Coloration de Gram**

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au *violet de cristal*; il est ensuite rincé rapidement à l'eau distillée, traité pendant une minute par une solution de *Lugol*, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%. Il s'agit de l'étape critique: la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 15 à 30 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau distillée. À ce stade les cellules Gram- seront incolores, les cellules Gram+ violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 10 à 30 secondes à la *fulvine* (ou *safranine*) pour colorer les cellules Gram- présentes. Après un bref rinçage à l'eau distillée, on sèche le frottis au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec

Bunsen et on l'examine à l'objectif (X 100) à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé

Tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge (Delarras, 2007).

## Annexe 04

Tableau de quelques exemples d'antibiotiques produits par les *Actinomycètes*

Actinomycètes producteurs	Antibiotiques	Références
<b>1/ Les agents antibactériens</b>		
<i>Micromonospora sp.</i>	Clostrymicine	Takahashi <i>et al.</i> , 2003
<i>Streptomyces griseus</i>	Candicidine	Jinenez <i>et al.</i> , 2009
<i>Streptomyces lydicus</i>	Streptolydigin	Liu <i>et al.</i> , 2007
<i>Streptomyces lindensis</i>	Rétamycine	Inoue <i>et al.</i> , 2007
<i>Marinispora sp.</i>	Marinomycine	Sturdiková et Sturdik, 2009
<i>Verrucosipora sp.</i>	Abyssomycine	Sturdiková et Sturdik, 2009