

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques  
Département de Biochimie-Microbiologie

## *Mémoire de fin d'études*

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **MASTER**

**Option:** Microbiologie appliquée

### *Thème*

**Activité antibactérienne des  
actinomycètes isolés à partir du sol (à  
Boghni)**

Réalisé par :

**BOUTERFA Dihia**

**IBESSAINE Nassima**

Membres de jury :

<b>Promoteur :</b>	Mr Bariz.K	Maître de conférences B	UMMTO
<b>Co-promoteur:</b>	Mme Mouzaoui.Z	Doctorante	UMMTO
<b>President:</b>	Mr Houali.K	Professeur	UMMTO
<b>Examineur:</b>	Mr Moualek.I	Maître de conférences A	UMMTO

Année universitaire : 2021/2022

## **Remerciements**

*Avant tous nous remercions ALLAH le tout puissant pour le courage, la volenté et la passion qu'il nous a accordée pour réaliser ce travail.*

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

*Merci à tous les membres de jury ; **Mr. HOUALI** et **Mr. MOUALEK** et aussi **Mme MOUZAOU** pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.*

*Nous remercions tous nos chers professeurs qu'on a pu rencontrer pendant notre parcours universitaire.*

*Merci à toutes les personnes qui de diverses façons et à différents moments nous apporté leur aide*



## ***Dédicaces***

*Je remercie dieu le tout puissant, qui nous a tracé le chemin de notre  
vie et de m'avoir donné la force, la patience et  
la volenté pour réaliser  
ce travail.*

*J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

### ***A mes chers parents***

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer  
le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous.*

*Vous m'avez comblée avec tendresse et affection tout au long de mon  
parcours.*

*Vous n'avez pas cessé de me soutenir et de m'encourager durant  
toutes les années de mes études, vous avez toujours été présents à mes  
côtés pour me soutenir quand il fallait.*

*Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin  
que je puisse vous combler à mon tour.*

### ***À mes agréables et aimables sœurs et frère***

*Dyhia, Faiza, Kahina, Massissilia, Maria et Rayane*

### ***À tous les membres de ma grande famille***

*Cousins, cousines, tantes et oncles*

### ***À celle avec qui j'ai partagé ce travail***

*Dihia*

### ***À mes amis(es)***

*« Nassima »*





## ***Dédicaces***

*Je remercie dieu le tout puissant, qui nous a tracé le chemin de notre  
vie et de m' avoir donné la force, la patience et  
la volenté pour réaliser  
ce travail.*

*J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

### ***A mes chers parents***

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer  
le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous.*

*Vous m'avez comblée avec tendresse et affection tout au long de mon  
parcours.*

*Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin  
que je puisse vous combler à mon tour.*

### ***À mes agréables et aimables sœurs et frère***

*Ghiles, Abd lghani, Agnés et Dalia.*

### ***À tous les membres de ma chaleureuse famille***

*Cousins, cousines, tantes et oncles et surtout ma cousine Roza*

### ***À celle avec qui j'ai partagé ce travail***

*Nassima*

### ***À ma meilleure amie qui ma soutenue***

*Romaissa*

*« Dihia »*



# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des schémas

Résumé

## Sommaire

**Introduction** ..... 2

### Chapitre I : les actinomycètes

I. Généralités ..... 5

1. Historiques ..... 5

2. Définition ..... 5

3. Caractères généraux des actinomycètes ..... 6

3.1. Caractères morphologiques ..... 6

3.1.1. Les mycéliums..... 8

3.1.2. Formation des spore ..... 8

3.2. Matériel génétique des actinobactéries ..... 9

II. Cycle de développement ..... 9

III. Physiologie du développement..... 11

IV. Taxonomie et classification ..... 12

1. Systématiques..... 12

2. Evolution de la classification ..... 13

3. Critères actuelles d'identification ..... 15

3.1. Critères morphologiques .....	15
3.2. Critères chimio-taxonomiques .....	16
3.3. Critères moléculaires .....	18
V. Ecologie et leur distribution .....	20
VI. Fonctions .....	22

## **Chapitre II : Activité antimicrobienne des actinomycètes**

I. Activité antibactérienne .....	25
1. Origine des antibiotiques .....	25
2. Les antibiotiques produits par les actinomycètes .....	26
II. Activité antifongique .....	28
1. Mécanisme d'action des antifongiques .....	28
2. Les antifongiques produits par les actinomycètes .....	28
2.1. L'amphotéricine B .....	28
2.2. Nystatine .....	30
2.3. Autres Exemples d'antifongiques produits par les actinomycètes .....	31
III. Activité antiviral des actinomycètes .....	31
1. Etude de l'activité antivirale de quelques actinomycètes .....	32
1.1. Antimycine A .....	32
1.2. Xiamycine D .....	32
1.3. Complestatines .....	32
1.4. La benzastatine C .....	33
1.5. Les analogues de nucléos(t)ide .....	33
1.6. Pepstatine .....	33

2. Composés bioactifs antiviraux isolés à partir des actinomycètes .....	34
IV. Activité antiparasitaire des actinomycètes .....	34
1. Principaux Composés antiparasitaires produits par les actinomycètes .....	35
1.1.Avermectine... .....	35
1.2.Valinomycine .....	36
1.3. Autres Composés antiparasitaires isolés à partir de <i>Streptomyces</i> .....	38

### **Chapitre III : Matériel et méthodes**

#### **Matériel**

I. Matériel du laboratoire .....	40
1. Appareillage et verreries .....	40
2. Milieux de cultures et produits chimiques .....	41
II. Souches bactérienne utilisées .....	41

#### **Méthodes**

I. Isolement.....	41
1. Echantillonnage .....	41
2. Traitement du sol au laboratoire.....	43
3. Méthodes d'isolement et séries de dilutions .....	43
II. Purification .....	45
III. Conservation .....	45
IV. Identification .....	45
1. Présentation de souches d'actinomycètes .....	45
2. Etudes morphologiques des souches .....	45
2.1. Examen macroscopique.....	46

2.2. Examen microscopique ..... 46

3. Mise en évidence de l'activité antibactérienne ..... 47

## **Résultats et discussion**

### **Conclusion**

### **Références**

### **Annexe**

## Liste des abréviations

**GC%** : Pourcentage de guanine-cytosine

**ADN** : Acide désoxyribo nucléique

**P/V** : Poid/Volume

**ARN 16 S** : Acide ribonucléique ribosomique 16 Sous-unité

**ARN** : Acide ribonucléique

**MA** : Mycélium aérien

**MS** : Mycélium de substrat

**DAP** : Acide diaminopimélique

**DAB** : Acide diaminobutyrique

**AmpB** : Amphotéricine B

**Erg** : Ergostérol

**PEDV** : Virus de la diarrhée épidémique porcine

**VIH-1** : Virus de l'immunodéficience humaine de type 1

**HSV-1** : Virus de l'herpès simplex de type 1

**HSV-2** : Virus de l'herpès simplex de type 2

**VSV** : Virus de la stomatite vésiculaire

**WSSV**: White spot syndrome virus

**MARV**: Marburg virus

**GABA** : Acide gamma aminobutyrique

**GluCl** : Chlorure déclenchés par le glutamate

## Liste des figures

N° de la figure	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	La coupe transversale d'une colonie d'actinobactéries qui se développant sur gélose.	<b>7</b>
<b>Figure 02</b>	Les classes morphologiques de <i>Streptomyces olindensis</i> cultivé en milieu liquide.	<b>8</b>
<b>Figure 03</b>	Cycle de développement de <i>Streptomyces</i> .	<b>11</b>
<b>Figure 04</b>	Différentes chaînes de spores chez les actinobactéries.	<b>16</b>
<b>Figure 05</b>	Classification phylogénétique des Actinobacteria, basée sur les séquences du gène codant d'ARNr 16S.	<b>20</b>
<b>Figure 06</b>	Origine des antibiotiques	<b>25</b>
<b>Figure 07</b>	Structure chimique de l'amphotéricine B.	<b>29</b>
<b>Figure 08</b>	Le modèle du canal amphotéricine B-ergostérol.	<b>29</b>
<b>Figure 09</b>	Structure chimique de la nystatine	<b>30</b>
<b>Figure 10</b>	Représentation schématique du mode d'action des antiviraux inhibant le cycle viral.	<b>32</b>
<b>Figure 11</b>	Mode d'action de l'ivermectine.	<b>36</b>
<b>Figure 12</b>	Structure chimique de valinomycine	<b>37</b>
<b>Figure 13</b>	Endroits de prélèvement à Boughni	<b>42</b>
<b>Figure14</b>	Lieux de Prélèvement des échantillons des trois sols.	<b>42</b>
<b>Figure 15</b>	Tamisage des sols.	<b>42</b>

## Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
<b>Tableau 01</b>	La liste des nouveaux noms proposés de classements taxonomiques plus élevés dans le phylum 'Actinobacteria'.	<b>14</b>
<b>Tableau 02</b>	Caractères macromorphologiques et micro morphologiques	<b>15</b>
<b>Tableau 03</b>	Clé de détermination des différents genres d'actinobactéries basée sur la composition chimique de la paroi en acides aminés	<b>17</b>
<b>Tableau 04</b>	Types des glucides caractéristiques présents chez des actinomycètes	<b>18</b>
<b>Tableau 05</b>	Quelques genres d'actinomycètes et leur CG%	<b>19</b>
<b>Tableau 06</b>	Répartition des actinobactéries dans la nature.	<b>22</b>
<b>Tableau 07</b>	Les antibiotiques produits par les actinomycètes	<b>27</b>
<b>Tableau 08</b>	Les antifongiques produits par les actinomycètes.	<b>31</b>
<b>Tableau 09</b>	Les antiviraux dérivés d'actinomycètes.	<b>34</b>
<b>Tableau 10</b>	Parasites ciblés en fonction des antiparasitaires.	<b>35</b>
<b>Tableau 11</b>	Composés antiparasitaires produit par les actinomycètes	<b>38</b>
<b>Tableau 12</b>	Tableau récapitulatif de l'identification morphologique.	<b>50</b>
<b>Tableau 13</b>	Caractères macroscopiques des actinomycètes isolés	<b>54</b>
<b>Tableau 14</b>	Les souches d'actinomycètes positives présentant une activité bactérienne.	<b>55</b>
<b>Tableau 15</b>	Diamètre des zones d'inhibition des actinomycètes vis-à-vis des bactéries tests	<b>56</b>

## Liste des schémas

<b>N° de schéma</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Schéma 01</b>	Schéma représentatif du cycle de vie de <i>Streptomyces</i> dans les conditions naturelle	<b>10</b>
<b>Schéma 02</b>	Schéma représentatif des dilutions décimales suivis d'un ensemencement en masse .	<b>44</b>
<b>Schéma 03</b>	Représentation graphique de souches tests contre lesquelles y'a une activité antibactérienne	<b>57</b>

## Résumé

Douze isolats d'actinomycètes ont été collectés à partir de trois échantillons de sol provenant de différentes altitudes à Boghni. Ces isolats ont été utilisés pour l'étude de leur phénotypique et aussi leur pouvoir antibactérien vis à vis des bactéries tests (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 25973, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25953, *Klebsiella pneumoniae* 700603) et aussi contre des bactéries multirésistantes aux antibiotiques BLSE (*K.pneumoniae* 1216, *K. pneumoniae* 3511, *K.pneumoniae* 3520).

A fin de déterminer les actinomycètes ayant la capacité d'inhiber la croissance de ces bactéries, la technique de stries croisés nous a permis de sélectionner deux souches ayant une activité antibactérienne dont l'isolat GM 38 a présenté une double activité en particulier vis à vis des souches indicatrices *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Klebsiella pneumoniae* (700603) à une zone d'inhibition de 14.28 % et 10% respectivement. Aussi une deuxième souche MN41 qui a montré une activité contre la souche *kp3520*, présente un important pourcentage d'inhibition qui atteint 29.4%.

Alors qu'aucune activité antibactérienne n'a été déterminée vis-à-vis de *Bacillus subtilis* ATCC 25973, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25953, *Klebsiella pneumoniae* 1216, *Klebsiella pneumoniae* 3511.

Les Actinomycètes occupent une place essentielle en raison de leurs nombreuses activités. leurs importance a été souligné dans divers domaines : pharmaceutique, agroalimentaire et industriel. La propriété la plus importante chez ces bactéries filamenteuses est leur potentiel de produire une large gamme d'antibiotiques, d'enzymes hydrolytiques et d'autres métabolites secondaires.

**Mots clés** : Actinomycètes, antibacteries ,multirésistances ,BLSE, enzymes.

## **Abstract**

Twelve actinomycete isolates were collected from three soil samples from different altitudes at Boghni. These isolates were used for the study of their phenotypic and also their antibacterial power vis-à-vis test bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 25973, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25953, *Klebsiella pneumoniae* 700603) and also against multidrug-resistant bacteria ESBL (*K.pneumoniae* 1216, *K. pneumoniae* 3511, *K.pneumoniae* 3520).

For the purpose of determining actinomycetes having the ability to inhibit the growth of these bacteria, The cross-striation technique allowed us to select two strains with antibacterial activity whose isolate GM 38 showed a double activity in particular vis-à-vis the indicator strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Klebsiella pneumoniae* (700603) An inhibition zone of 14.28% and 10% respectively. Also a second MN41 strain that showed activity against the kp3520 strain, has a large inhibition percentage that reaches 29.4%.

While no antibacterial activity has been determined against *Bacillus subtilis* ATCC 25973, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25953, *Klebsiella pneumoniae* 1216, *Klebsiella pneumoniae* 3511.

Actinomycetes occupy an essential place because of their numerous activities. Their importance has been highlighted in various fields: pharmaceutical, agri-food and industrial. The most important property in these filamentous bacteria is their potential to produce a wide range of antibiotics, hydrolytic enzymes and other secondary metabolites.

**Keywords:** Actinomycetes ,antibacterial ,multirésistances ,ESBL , enzymes.

# *Introduction*

# Introduction

---

Depuis des milliers d'années, les êtres humains utilisent des microorganismes (bactéries, levures et moisissures) pour fabriquer des produits comme la bière, le fromage, le pain etc.. Ces microorganismes présents dans notre environnement et dans certains aliments que nous consommons. Ils occupent une place importante dans notre vie et sont actuellement à l'origine de l'essor du domaine de la biotechnologie. Une attention particulière est à ce groupe bactérien qui sont les actinomycètes ou actinobacterias (**Smaoui, 2010**).

La résistance aux antimicrobiens est un problème de santé mondial, pour les êtres vivants. Les micro-organismes sont capables de mettre en œuvre des mécanismes biochimiques et des processus génétiques qui réduisent l'efficacité des antibiotiques (**Dunachie et al., 2020**). Cette résistance se développe en raison de l'influence des agents antimicrobiens sur les populations et les communautés bactériennes. Un échange similaire au niveau génétique se produit entre les micro-organismes résistants aux antibiotiques introduits dans l'environnement et la microflore bactérienne naturelle (**Lykov et al., 2021**).

Les infections causées par des bactéries multi-résistantes constituent un problème croissant en raison de l'émergence et de la propagation de microbes résistants aux médicaments et du manque de développement de nouveaux antimicrobiens (**Lykov et al., 2021**).

La multirésistance aux antibiotiques est codée par plusieurs gènes, dont beaucoup peuvent être transférés entre bactéries. Diverses études ont démontré la prolifération bactérienne et le transfert de gènes de résistance (**Lykov et al., 2020 ; Andam et al., 2011**).

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, Gram positive dont l'aspect morphologique est à l'origine de les classer parmi les champignons. En effet, ils possèdent un vrai mycélium, ramifié et septé, caractéristique des éléments fongiques. Cependant, leur organisation cellulaire est de type procaryotique. Ces microorganismes sont maintenant reconnus définitivement comme de vraies bactéries grâce à leur composition chimique de leur paroi cellulaire, en particulier en lipides, et la structure du peptidoglycane. Ce groupe est d'un taux avec un taux élevé de guanine et cytosine dans leur ADN génomique ( $G+C\% > 55\%$ ) (**Sullivan et Chapman, 2010; Gao et Gupta, 2012**).

Les actinobactéries ont un métabolisme secondaire bioactif très élevé, produisant ainsi une importante quantité d'antibiotiques d'origine naturelle. Dans la nature, ils jouent un grand rôle dans le recyclage des composés organiques. Ils sont attribués dans les applications biotechnologiques, suite à leur grande diversité métabolique et une source promotrice d'une large gamme d'enzymes, des immuno-modulateurs, des inhibiteurs d'enzymes et de vitamines (**Silva et al., 2013 ; Kumar et al., 2012**). Ils sont les plus efficaces dans le monde vivant. Plus de la moitié de 600 000 vaccins isolés produits à ce jour sont produits par ce groupe de bactéries (Streptomycine, candidine, actinomycine, , néomycine) (**Lazzarini et al., 2000 ; Sanglier et al., 1993**).

# Introduction

---

Notre étude se porte sur :

- L'isolement et l'identification morphologique des actinomycètes sur le plan macroscopique et microscopique.
- L'étude du pouvoir antagoniste des actinomycètes vis-à-vis des souches pathogènes et des bactéries multi résistantes aux antibiotiques bêta-lactamases à spectre élargi BLSE.

Notre objectif est d'apporter une contribution à l'étude du pouvoir antibactérien de certaines actinobactéries ayant la capacité à inhiber la croissance des microorganismes pathogènes.

*Chapitre I : Les  
actinomycètes*

## I. Généralités

### 1. Historiques :

La caractérisation, la découverte, la dénomination et l'utilisation des actinobactéries peuvent être divisées en quatre périodes. (**Waksman ,1959**) divise en quatre grandes périodes dans l'histoire des actinomycètes.

- ❖ La première (1874-1900), est celle de la découverte de leurs rôles dans la pathologie (**Cohn, 1872**) .Cohn découvre le premier actinomycète qu'il appela *Streptothrix foeresteri* ; (**Harz, 1877**) Harz isola l'agent responsable des actinomycoses du bétail et le nomma *Actinomyces bovis*.
- ❖ Seconde période (1900-1919) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des Actinomycètes du sol : avec les travaux d'OrlaYensen (1909) qui créa la famille des *Actinomycétacées* qui comprend un seul genre *Actinomyces*, par la suite, de nombreuses espèces telluriques furent isolées. Buchanan créa l'ordre des *Actinomycétales* (**Buchanan ,1917**).
- ❖ Troisième période (1919-1940) : au cours de laquelle une meilleure connaissance des germes a été acquise, grâce aux recherches de Orskov en (1923) qui créa le genre *Micromonospora* (**Sveshnikova, 1969**).Ce genre regroupe les actinomycètes qui ne produisent pas de mycélium aérien. les actinomycètes dont le mycélium de substrat se fragmente regroupe le genre *Paraactinomyces* (actuellement *Nocardia*).
- ❖ Quatrième période : commence en 1940, et correspond à l'époque des antibiotiques produits par les actinomycètes, avec la création du genre *Streptomyces* (en combinant les noms des genres *Streptothrix* et *Actinomyces*) (**Waksman et Henrici,1943**) qui regroupe les actinomycètes dont le mycélium aérien produit des chaînes de spores portées par des sporophores , En 1958 Pridham proposa un système de classification des *Streptomyces* basé sur la morphologie des chaînes de spores et la couleur du mycélium aérien (**Pridham et al .,1958**), introduit un critère important dans la différenciation des espèces : la production des pigments mélanoides.

### 2. Définition :

Lesactinobactéries est un ancien phylum de bactéries Gram-positives avec une teneur élevée en CG (**Manuel de Bergey, 1994**).Actinobacterials sont encore appelés actinomycète. Elles étaient auparavant considérées comme étant des bactéries capables de former des spores asexuées (conidiospores ou sporangiospores) et des hyphes ramifiés non fragmentés ou fragmentés.

Leur développement a résulté en colonies circulaires composées de filaments qui rayonnent par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance. Ceci explique leur dénomination «actinomycètes» du Grec « aktino, mycetes » ou « champignons à rayons » ou encore « champignons rayonnants »(**Lamari, 2006**). Certains représentants de ces microorganismes, surtout les aérobies, ont longtemps été rejetés de l'ensemble des bactéries et confondus avec les champignons du fait de leur morphologie fongoïdes (filaments ramifiés, organes de sporulation.....etc) (**kitouni,2007**).Ce problème est résolu groupe de

microorganismes est définitivement classé parmi les bactéries à un pourcentage de guanine cytosine (G+C%) supérieur à 55% (Saker, 2018).

En général, les Actinomycètes sont des hétérotrophes utilisant des molécules organiques préfabriquées, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimio-auto trophique utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (Azadiet al.,2020)

Ces bactéries se caractérisent par la production de métabolites secondaires actifs tels que les antimicrobiens, les enzymes et les antioxydants (Lecterch et al., 1983).

### 3. Caractères généraux des actinomycètes :

- Les actinomycètes sont des chimo-organotrophes utilisant une grande variété de sources d'énergie y compris les polymères complexes (Aouar, 2012)
- Le diamètre de l'Actinomycète est beaucoup plus petit (1 à 2  $\mu\text{m}$ ) que celui des branches des champignons, qui varie de 5 à 10  $\mu\text{m}$  (Theilleux, 1993).
- Les actinobactéries sont généralement saprophytes mais quelques-uns sont pathogènes pour les plantes telle que *Streptomyces scabies*(Bouaziz, 2018).
- Le diamètre de leur mycélium est a peut pré le un dixième de celui de la plupart des hyphes fongiques (généralement 0.7 à 0.8  $\mu\text{m}$ ).
- Les actinomycètes n'ont pas de membrane nucléaire, elles possèdent des organites flagellaires ressemblant à ceux des bactéries .La plupart sont sensibles aux lysozymes, et aux agents antibactériens (Harir, 2010).
- Caractérisés par une croissance lente et le temps de génération moyenne est environ 2 à 3 heures (Messoudi ,2013).
- La sensibilité au chlorure de sodium ainsi qu'à certains agents chimiques, l'utilisation de sources carbonées et azotées ainsi que la dégradation de certains polymères tels que l'amidon, la caséine et la gélatine et la production de mélanine (Zerizer, 2014)

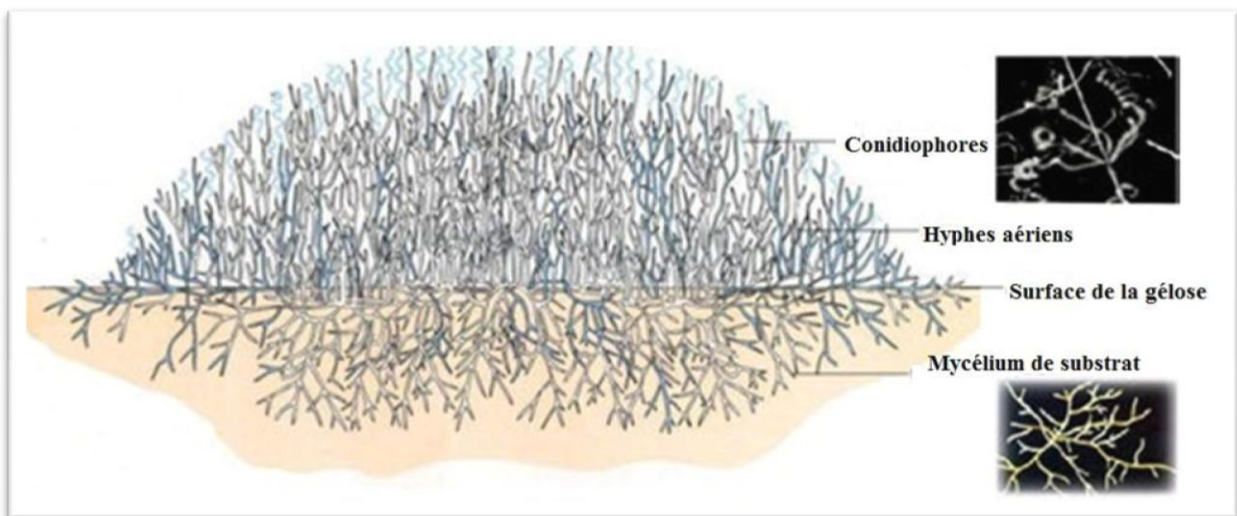
### 3.1.Caractères morphologiques :

Les actinobactéries classiques ont un mycélium radial bien développé. Selon la différence de morphologie et de fonction, le mycélium peut être divisé en mycélium de substrat et en mycélium aérien .voici (Figure 01) qui montre la morphologie commune des actinomycètes(Li et al., 2016).

Certaines actinobactéries peuvent former des structures complexes, telles que les spores, les chaînes de spores, les sporanges et les sporangiospores. Les modes de croissance et de fracture du mycélium de substrat, la position des spores, leur nombre, les structures de surface des spores, la forme des sporanges et le fait que les sporangiospores aient ou non des flagelles sont de caractéristiques morphologiques importantes de la classification des actinobactéries(Li et al., 2016).

 Texture :douce, dure et pâteuse.

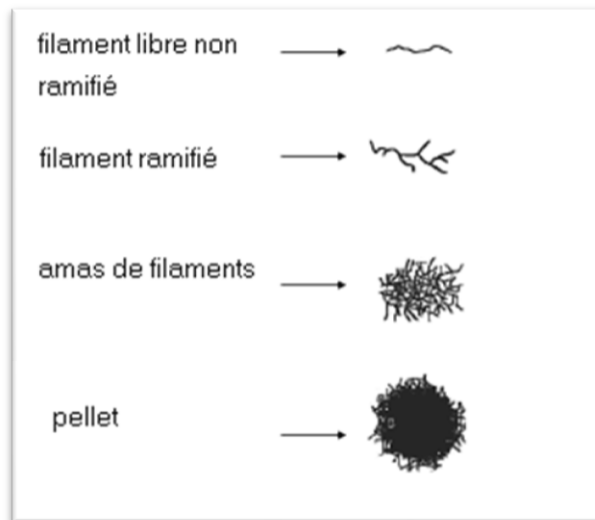
- ✚ Couleurs disponibles : blanc, jaune, orange, rose, rouge, violet, bleu, vert, le marron et le noir .
- ✚ Surfaces : lisses, rainurées, ridées, granuleuses ou squameuses.
- ✚ Aspect : compact ou mélange.
- ✚ Taille des colonies varie d'un millimètre à quelques centimètres de diamètre, selon l'espèce, l'âge et les conditions de culture. (**Devanshi et al .,2021**)
- ✚ Formes sont variée entre les différents genres des formes bâtonnets (*Mycobacterium*), cocci comme *Micrococcus*, et polymorphes (*Nocardia*) jusqu'aux filaments ramifiés qui se (**Erikson, 1949**).



**Figure 01:** La coupe transversale d'une colonie d'actinobactéries qui se développant sur gélose (**Prescott et al., 2018**)

Les colonies formées par les actinomycètes

- Sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :
  - des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu
  - pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
  - exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons
- En culture liquide «sans agitation », les hyphes formés après la germination des spores montent en surface pour croître en contact de l'air. Cependant, en milieu liquide « avec agitation », il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. Les *Streptomyces* forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'agrègent pour former des pellets (**Aouar, 2012**). La figure ci-dessous montre les différentes classes morphologiques de filaments en culture liquide



**Figure 02** : Les classes morphologiques de *Streptomyces olindensis* cultivé en milieu liquide (Pamboukian *et al.*, 2002).

### 3.1.1. Les mycéliums :

- Le mycélium du substrat ou mycélium primaire :

Sous la forme d'un ensemble de filaments multi nucléaires formés à partir du tube germinal (hyphes) issu d'une spore. Cet hyphes s'allonge par croissance apicale et se ramifie a maintes reprises. Son développement, sur la surface et à l'intérieur du milieu solide, donne naissance à des jeunes colonies, formées par des filaments attachés en matrice complexe (Miguel *et al.*, 2000). Le mycélium de substrat est aérobie facultatif

- Le mycélium aérien ou secondaire :

Généralement le mycélium aérien est plus épais et moins ramifié que le mycélium du substrat qui est hydrophobe. Sur le mycélium primaire se développe un mycélium aérien ou secondaire, composé d'hyphes, dressés sur le mycélium du substrat. Ils sont souvent pigmentés et sont enfermés dans une enveloppe externe hydrophobe. Par contre, le mycélium aérien est aérobie strict (Kitouni, 2007).

### 3.1.2. Formation des spores

- Les endospores

Elles sont produites par des actinobactéries thermophiles et sont semblables, morphologiquement et chimiquement, à celles des *Bacillaceae*. Elles contiennent une paroi externe épaisse, multicouche et résistante, qui enveloppe le cortex, la membrane cytoplasmique, le cytoplasme, les ribosomes et le nucléoïde. Elles contiennent aussi de l'acide

dipicolinique. Les actinobactéries du genre *Thermoactinomyces*, qui les produisent sur leurs hyphes, semblent être proches parents de ce groupe bactérien (**Kitouni, 2007**).

- **Les exospores**

Elles naissent de la formation de parois transversales à partir des hyphes existantes. Une subdivision supplémentaire est également réalisée selon la présence ou l'absence d'une enveloppe qui recouvre la paroi de l'hyphe sporogène. Ainsi, la formation d'exospores par fragmentation d'hyphes avec enveloppe est la plus fréquente et se retrouve notamment chez *Actinoplanes* et *Streptomyces*, deux à deux longitudinalement (*Microbispora*), en courtes chaînes (*Actinomadura*), ou en longues chaînettes (*Streptomyces*). Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, sinuées ou en spirales. De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores (*Streptoverticillium*) (**Kitouni, 2007**).

### 3.2. Matériel génétique des actinobactéries :

Le matériel génétique des actinobactéries est constitué d'ADN chromosomique ainsi que chez certaines souches par l'ADN plasmidique ou de l'ADN phagique. Un caractère majeur est la proportion élevée environ 70 % de guanine et cytosine (G+C) dans l'ADN de la plupart des actinobactéries (**Theilleux, 1993**).

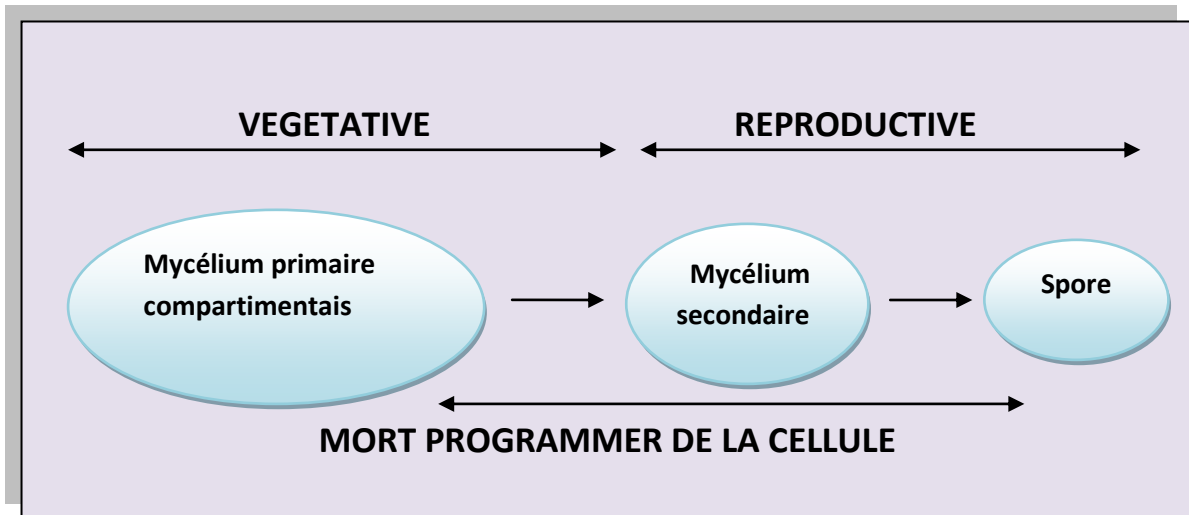
La taille de l'ADN des actinobactéries est de 3,7 Méga Daltons (**Larpent et al., 1989**).

## II. Cycle de développement

Une gamme de cycles de vie est observée chez les *actinobactéries* qui sont uniques parmi les procaryotes, semblables aux eucaryotes multicellulaires ; un cycle de vie qui résulte de trois processus physiologiques majeurs : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire, suivies de la mort (**Ait Barka et al., 2016**).

La caractéristique la plus distinctive des cycles de développement des *actinobactéries* est observée chez les *Streptomyces* qui se différencient par une croissance sous forme d'hyphes ramifiés qui forment alors un mycélium végétatif. Sur ce dernier se dressent des hyphes aériens portant des spores de dissémination et reproduction (**Boulali et Azzouz, 2018**).

Le cycle de vie le mieux étudié est celui de genre *Streptomyces* ; en raison de leur importance économique dans la production des métabolites secondaires, comme la figure ci-dessous le montre.



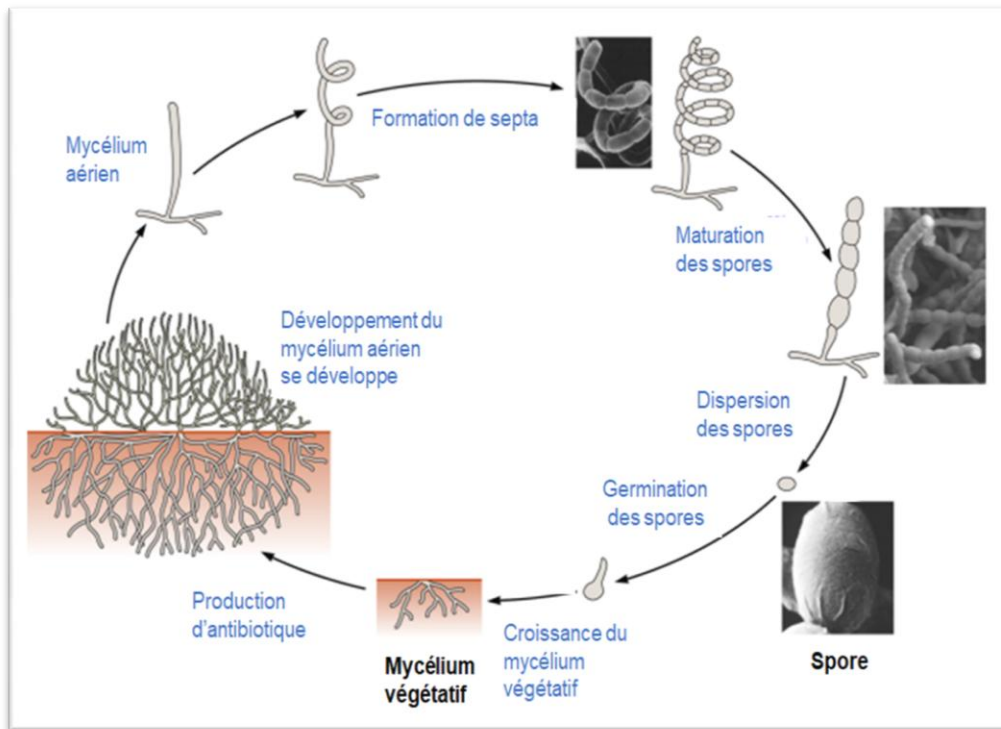
**Schéma 01** : Schéma représentatif du cycle de vie de *Streptomyces* dans les conditions naturelles (Manteca et Sanchez, 2009).

Sur un milieu solide, le cycle commence par la germination d'une spore qui donne lieu à un mycélium végétatif formé d'hyphes multi-nucléoïde, ramifiés et ancrés dans le milieu. Un mycélium aérien se développe sur ce mycélium végétatif, en utilisant ce dernier comme substrat. En effet, le mycélium végétatif s'autolyse et les produits de la lyse sont cannibalisés par le mycélium aérien (Miguélez *et al.*, 1999).

La croissance des hyphes est apicale (Flärdh, 2010) et s'accompagne de la formation de septa, conduisant à des unités uni-génomiques. Les cellules se différencient ensuite pour former des spores. Si les spores sont localisées dans des sporanges, on les appelle des sporangiospores.

Généralement ces spores ne sont pas résistantes à la chaleur, mais résistent bien à la dessiccation et ont de ce fait une importante valeur adaptative, les actinobactéries sont immobiles, excepté pour les spores de certains genres (*Actinoplan*, *Spirillospora*...etc.) (Saffroy, 2006).

La Figure ci-dessous montre le cycle de développement des actinobactéries



**Figure 03** : Cycle de développement de *Streptomyces* (Barka *et al.*, 2016).

### III. Physiologie du développement :

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

#### Le pH :

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

#### L'oxygène :

On peut classer les actinobactéries selon leurs types respiratoires en deux groupes :

- ❖ Les formes fermentatives anaérobies, représentées par le genre type *Actinomyces*, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs. (Aouar *et al.*, 2012).
- ❖ Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces*, sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol (Messaoudi, 2013).

### Température :

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

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

### Tolérance pour NaCl :

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

- ❖ Les halophiles : ont besoin de sel (NaCl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (P/V) pour les faiblement halophiles, jusque 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes (**Messaoudi, 2012**).
- ❖ Les halotolérants : acceptent des concentrations modérées en sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolère de 6 à 8 % de NaCl (P/V) ; les modérément tolérants (tolère de 18 à 20 % de NaCl (P/V) ; et les extrêmement tolérants (se développe de 0 % jusqu'à saturation NaCl) Cette tolérance n'est obligatoire pour leurs croissances (**Djaballah, 2010**).

### Activité de l'eau :

La germination des spores de la pluparts des *actinobactéries*, peut-être observée à des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0,67. l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est égal à 0,98 (**Messaoudi, 2012**).

## **IV. Taxonomie et classification :**

### **1. Systématiques :**

Selon la classification du "Taxonomic Outline of The Procaryotes, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", Deuxième édition 2004(**Garrity et al.,2004**) le Phylum Actinobacteria est constitué d'une seule classe dénommée également "*Actinobacteria*". La première découverte d'une espèce de cette catégorie de bactéries a été effectuée à Harz en 1877 par la description d'*Actinomyces bovis*.

Plus tard, Buchanan a nommé l'ordre *Actinomycetales* et l'année suivante, la famille *Actinomycetecaeae*.(**Stackebrandt et al.,1997**),ont proposé une nouvelle classe appelée Actinobacteria,suivie de la création du phylum portant le même nom. Dans cet ordre de restructuration, *Actinomycetales* se limitait au groupe original de Hartz qui est composé de taxons non-mycéliens ( exp :*Actinomyces*)(**Nouioui et al.,2018**)

## 2. Evolution de la classification :

Cependant, il n'était pas conseillé a utilisé le même nom pour le phylum et la classe. Récemment, une nouvelle classe nommée *Actinomycetia* a été créée, englobant tous les membres de l'ordre précédent *Actinomycetales*. La catégorie Actinobacteria comporte 16 ordres. L'ordre *Actinomycetales* est maintenant réservée aux membres de la famille *Actinomycetaceae*, et les autres qui faisaient auparavant partie de cette ordre sont maintenant désignées comme des ordres distinctes. Par conséquent, 43 des 53 familles du phylum Actinobacteria sont assignées à une seule classe, Actinobacteria, tandis que les cinq autres classes réunies contiennent seulement 10 familles (**Van Dissel et al., 2014**).

Ici, il faut faire attention car la famille des *Actinomyceteceae* est désormais couverte par l'ordre des *Actinomycetales*. (**Salam et al., 2020**). Ainsi, les familles comme les *Streptomyceteceae* qui appartenaient à cet ordre ne peuvent plus être localisées dans le cadre de cet ordre (**Waksman et Henrici, 1943**).

En conclusion il ya 425 genres du phylum « Actinobacteria » avec les dénominations validement publiées actuellement utilisées dans six classes, 46 ordres et 79 familles, dont 16 nouveaux ordres et 10 nouveaux familles (**Salam et al., 2020**).

De plus, en 2021, le nom du phylum Actinobacteria a de nouveau été révisé en Actinomycetota. En résumé, le phylum Actinomycetota est l'ancien phylum Actinobacteria. La classe proposée Actinomycetia est l'ancienne classe Actinobacteria. (**Oren et Garrity 2021**). Taxonomie mise à jour des Actinobacteria qui est basée sur des arbres d'ARNr 16S a récemment été rapportée.

Un autre point important est que les études d'oligonucléotides d'ARN ont montré que la possession d'hyphes ramifiés (p. ex., *thermoactinomyces*) ne devrait pas automatiquement placer une bactérie dans la classe Actinomycetia, ni l'incapacité d'un organisme à se ramifier filaments (exp : arthrobactère, cellulomonas et rothia) l'exclure nécessairement de ce taxon. En conséquence, genre *Thermoactinomes* avec peu de guanine et de cytosine. Le contenu et la capacité à former l'endospore ont été retirés du groupe actinomycète et placés dans la famille Bacillacées. (**Park et al., 1993**)

**Tableau 01:** la liste des nouveaux noms proposés de classements taxonomiques plus élevés dans le phylum 'Actinobacteria' (Salam *et al.*.,2020)

Classe	Ordre	Famille
Actinomycetia	• <i>Iamiales</i>	• <i>Arcanobacteriaceae</i>
	• <i>Actinocatenisporales</i>	• <i>Acidothermaceae</i>
	• <i>Antricoccales</i>	<b>(Ludwig,2012; Emend <i>et al.</i>,2011 ; Zhi <i>et al.</i>, 2009)</b>
	• <i>Aquipuribacterales</i>	
	• <i>Beutenbergiales</i>	• <i>Actinocatenisporaceae</i>
	• <i>Bogoriellales</i>	<b>(Nouioui <i>et al.</i>,2018)</b>
	• <i>Brevibacteriales</i>	• <i>Aquipuribacteraceae</i>
	• <i>Cellulomonadales</i>	• <i>Beutenbergiaceae</i>
	• <i>Demequinales</i>	<b>(Zhi <i>et al.</i>, 2009 ; emend <i>et al.</i>, 2011)</b>
	• <i>Dermabacterales</i>	
	• <i>Dermatophilales</i>	• <i>Actinotaleaceae</i>
	• <i>Jatrophihabitantales</i>	• <i>Oerskoviaceae</i>
	• <i>Microbacteriales</i>	• <i>Hoyosellaceae</i>
	• <i>Motilibacterales</i>	• <i>Tomitellaceae</i>
	• <i>Phytomonosporales</i>	• <i>Arsenicicoccaceae</i>
• <i>Ruaniales</i>	• <i>Phytomonosporaceae</i>	
		• <i>Allostreptomycetaceae</i>

### 3. Critères actuelles d'identification :

La systématique des actinobactéries est basée actuellement sur les critères morphologiques, chimiques, physiologiques. Certains genres sont facilement identifiables par leur micromorphologie particulière, comme les *Micromonospora*, *Actinoplanes*, *Dactylosporangium*, *Streptosporangium*, *Planomonospora*, *Planobispora*. En revanche, dans la plupart des autres cas, la détermination des chimiotypes est indispensable.

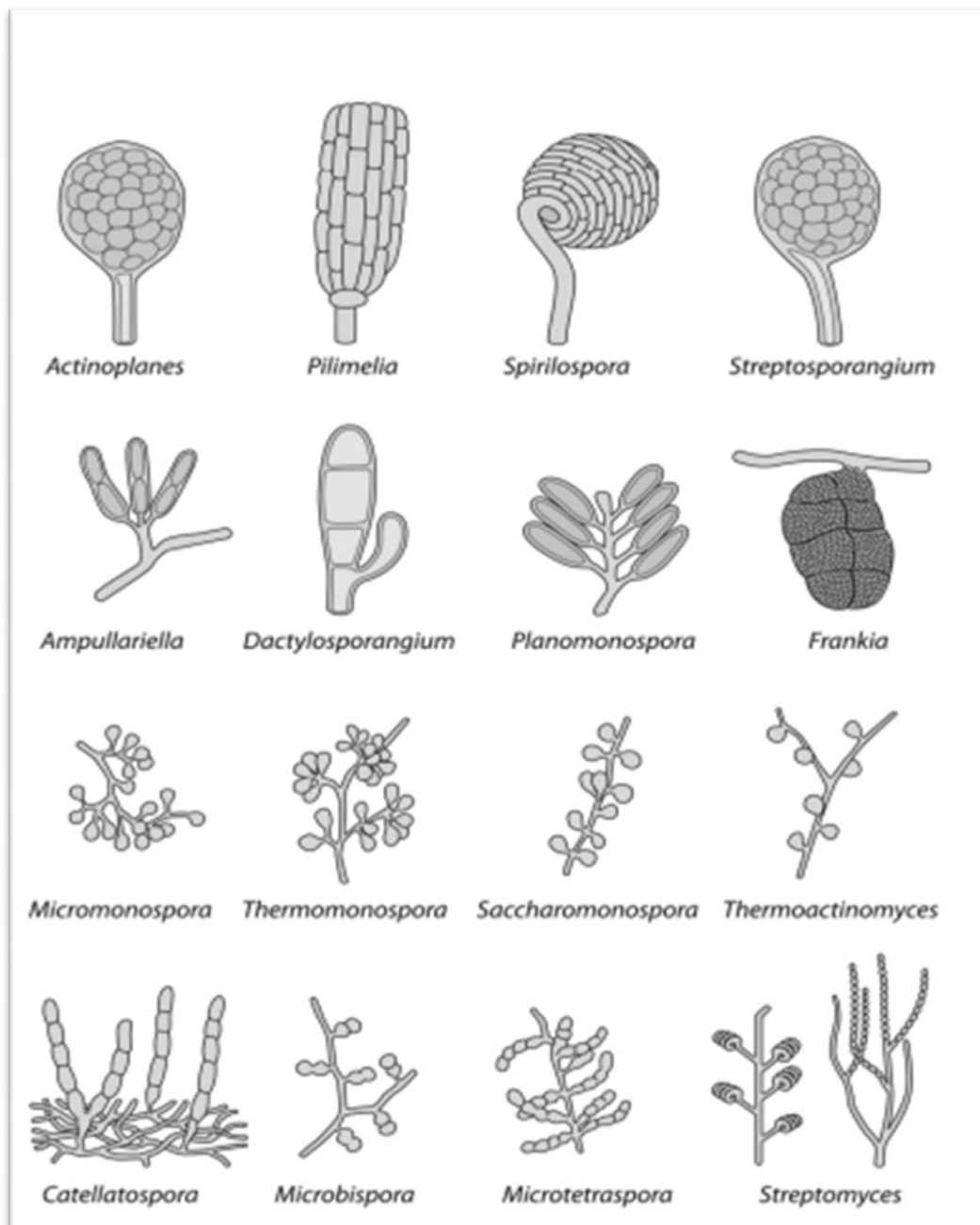
Citant à titre d'exemple, les genres *Nocardiopsis*, *Saccharothrix*, *Actinomadura*, *Nonomuraea*, *Saccharopolyspora*, *Nocardioides*, *Streptomyces*. (Sabaou *et al.*, 1980) Les caractères physiologiques et surtout génétiques sont indispensables pour une identification fiable et précise des espèces et sous-espèces.

#### 3.1. Critères morphologiques :

Les critères morphologiques font appel à des caractéristiques culturelles sur différents supports de culture tels que la forme des spores comme l'indique la (figure 04) et à des caractéristiques micro morphologiques. (Shirling et Gottlieb, 1966).

**Tableau 02:** Caractères macromorphologiques et micro morphologiques (Boudjella *et al.*, 2007).

Caractéristiques macromorphologiques	Caractéristiques micro morphologiques
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production ou non d'un mycélium aérien (MA) (ex : <i>Actinoplanes</i>, <i>Micromonospora</i> et <i>Rhodococcus</i>)</li> <li>- Détermination de la couleur du MA et du MS ainsi que des pigments diffusibles dans le milieu de culture</li> <li>- Présence d'un mycélium du substrat (MS).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fragmentation ou non du MS</li> <li>- Présence de sporanges (par ex : <i>Thermoactinomyces</i>) sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges ainsi que la longueur des sporangiophores.</li> <li>- Formation de spores sur le MA et /ou sur le MS, leur forme, leur taille et leur agencement isolées, par deux, par quatre ou en chaînes.</li> <li>- Mode de sporulation: spores portés par des sporophores ou MA.</li> <li>- Présence de spores mobiles (ex : <i>Planomonospora</i>, <i>Planobispora</i>, <i>Spirillospora</i>, <i>Actinoplanes</i>) ou non mobiles (ex: <i>Streptomyces</i>, <i>Streptosporangium</i>, <i>Micromonospora</i>.)</li> <li>- La surface des spores (lisse rugueuses, épineuses ou chevelues).</li> </ul>



**Figure 04:** Différentes chaînes de spores chez les actinobactéries ( *Barka et al., 2016* ).

### 3.2. Critères chimio-taxonomiques :

La composition de paroi cellulaire en acides aminés, en glucides et en lipides, constitue la principale caractéristique utilisée en chimiotaxonomie ( *Essaidet et al., 2015* )

- **Acides aminés**

Détermination de la forme isomérique de l'acide diaminopimélique (DAP) (forme LL ou DL) et présence ou non de glycine dans la paroi cellulaire. Les parois sont classées en huit groupes chimiques ou chimio types pariétaux en fonction de leur composition en DAP mais aussi en d'autres acides aminés ( *Holt et al., 1994* )

**Tableau 03** : Clé de détermination des différents genres d'actinobactéries basée sur la composition chimique de la paroi en acides aminés (Lechevalier et Lechevalier, 1981).

Types de parois	Types d'acides aminés	Genres
I	LL-DAP Glycine	<i>Streptomyces</i>
II	Méso ou hydroxy-DAP	<i>Micromonospora</i>
III	Méso-DAP	<i>Actinomadura</i>
IV	Méso-DAP,	<i>Nocardia</i>
V	Ornithine , lysine	<i>Actinomycesisraeli</i>
VI	Lysine	<i>Oerskovia</i>
VII	Glycine ,DAB	<i>Agromyces</i>
VIII	Ornithine	<i>Cellulomonas</i>

- **Lipides :**

L'un des caractères les plus importants de la composition membranaire sont les lipides. Grâce aux lipides il y a la possibilité de distinguer entre eux la plupart des genres ayant le même chimiotype. Ils sont divisés en phospholipides (Lechevalier *et al.*, 1977), les acides gras (Minnikin *et al.*, 1984; Kroppenstedt *et al.*, 1990), les ménaquinones (Minnikin *et al.*, 1984; Rodríguez Concepción et Boronat, 2013) et les acides mycoliques (Mordarska *et al.*, 1972).

- **Glucides**

Les glucides sont taxonomiquement importants et sont classés en 4 groupes représentés dans le **Tableau 04**

**Tableau 04:** Types des glucides caractéristiques présents chez des actinomycètes  
(Lechevalier et Lechevalier, 1970)

Types de parois	Type de glucides	Genres
I	Pas de sucres caractéristiques	<i>Streptomyces</i>
II	Glycine, arabinose, xylose	<i>Actinoplanes, Micromonospora</i>
III	Arabinose , xylose Galactose, rhamnose	<i>Streptosporangium, Actinomadura</i> <i>Saccharothrix, Actinosynnema</i> <i>Thermomonospora, Nocardiosis</i>
IV	Arabinose, galactose	<i>Nocardia, Amycolatopsis, Pseudonocardia</i>
V	Pas de sucres caractéristiques	<i>Actinomyces</i>
VI	Pas de sucres caractéristiques	<i>Oerskovia, Promicromonospora</i>
VII	Pas de sucres caractéristiques	<i>Agromyces, Clavibacter</i>
VIII	Pas de sucres caractéristiques	<i>Aureobacterium, Curtobacterium</i>

### 3.3.Critères moléculaires

Les actinomycètes appartiennent à groupe Gram positif de haut coefficient de Chargaff (% GC) compris entre 60 et 75 %. voir tableau ci-dessous

**Tableau 05 :** Quelques genres d'actinomycètes et leur CG% (**Larpen et Sanglier, 1989**).

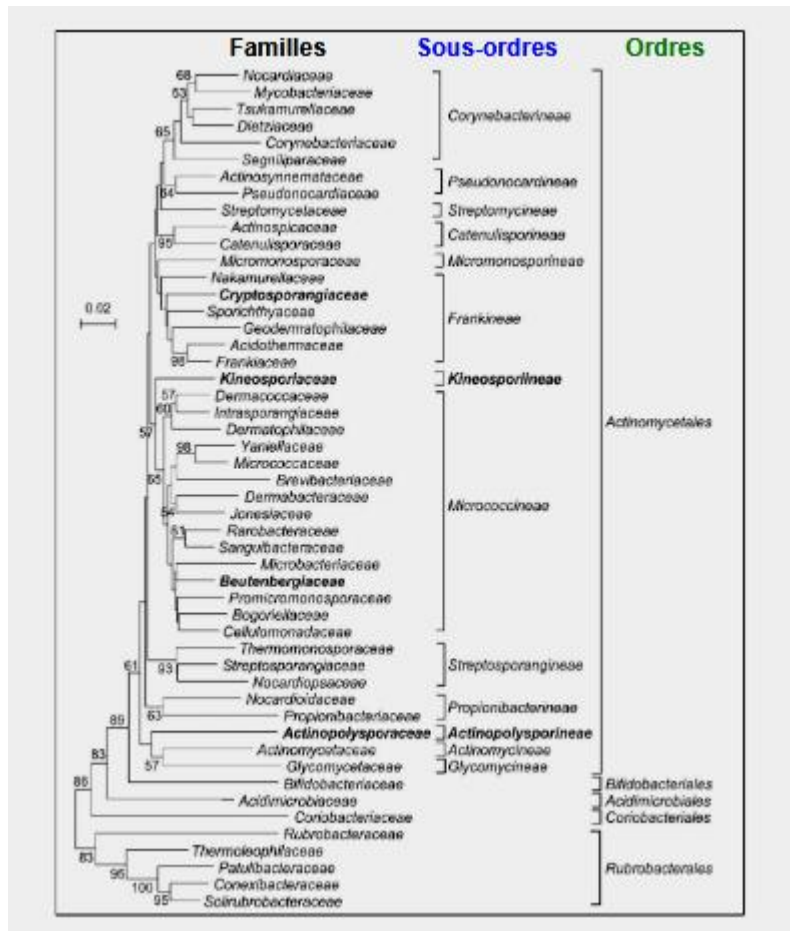
Genre	CG%
<i>Micromonospora</i>	71.4-72
<i>Streptomyces</i>	69-76
<i>Actinomycètes</i>	63-73
<i>Actinoplanes</i>	70.6-76
<i>Nocardia</i>	67-69.4
<i>Mycobactéries</i>	64-70

La technique la plus fiable pour l'identification des actinomycètes est le séquençage des gènes de l'ARNr 16S (**Weisburg et al.,1991 , Cook et Meyres, 2003**).C'était la première technique utilisé pour la taxonomie des actinomycètes.

Ces critères ont permis de tracer toute la phylogénie des actinomycètes (**Lamari, 2006**). on cite:

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

La classification phylogénétique des actinobactéries est montrée dans la Figure 06.



**Figure 05 :** Classification phylogénétique des *Actinobacteria*, basée sur les séquences du gène codant d'ARNr 16S (Zhi, 2009).

**V. Ecologie et leur distribution :**

Les actinomycètes sont répandues dans divers habitats et adaptés à de nombreux milieux écologiques. C'est pourquoi il est important d'évaluer leur distribution afin de comprendre leur rôle écologique. (Goodfellow et Williams 1983).

Dans le sol, les actinomycètes sont des micro- organismes particulièrement populaire qu'on peut les trouver presque partout où il y a du courant dans la nature (Nedji et Loucif-Ayad,2014). sont responsables de 80 % de la population microbienne totale, en outre, dans les sols du Sahara, les actinomycètes représentent entre 15 et 60% de la microflore tellurique (Dommergues et Mangenot, 1970) .

Une étude menée par 134 morphologiquement séparé actinobactérien cultivable, provenant de dix échantillons de sol désertique différents, ces isolats avaient un degré variable d'activité antibactérienne par rapport aux agents bactériens pathogènes(Nithya et al.,2015).

De plus une autre étude, un total de 56 isolats ont été recueillis à partir des échantillons. Selon les analyses phénotypiques, 41 isolats ont été identifiés comme actinomycètes, dont 8 étaient actifs contre les agents pathogènes pharmaco résistants ; cependant le désert de Lut est l'un des déserts les plus chauds au monde et aussi l'habitat de divers taxons de bactéries en particulier les actinomycètes (**Fatahi-Bafghi et al.,2019**)

Plusieurs rapports montrant la distribution des actinobactéries dans divers endroits ; tels que le sol sablonneux, le sol alcalin noir, le sol limoneux sablonneux, le sol de désert alcalin et le sol de désert subtropical. Dans ces sols variés, *Streptomyces sp.* était dominant suivis par d'autres genres, tels que *Nocardia*, *Nocardiopsis* et *Actinomycetes*(**Cundell et Piechoski, 2016**). C'est aussi essentiellement distribués dans les sédiments des fonds fluviaux ou lacustres que ceux-ci sont présents. Bien qu'ils soient absents dans les eaux d'exploitation très acides (pH<1) et les sources chaudes d'origine volcanique (**Lee et Hwang,2002**)

Un autre environnement qui nous intéresse, l'air. Ce dernier est un moyen de transport des spores des actinobactéries thermophiles qui sont des contaminants importants de notre environnement et facilement mises en suspension dans l'air (**Mazodier, 1974**)

Les actinobactéries peuvent être hébergées dans les différents compartiments du milieu marin : le fond de l'océan,et les zones intertidales(**Fenical et Jensen, 2006; Goodfellow et Williams, 1983**),les animaux et les plantes(**Liu et al., 2019 ;Zhang et al., 2008**), l'eau de mer (**Ramesh et Mathivanan, 2009**).Le tableau ci-dessous présente quelques habitats de certains actinobactéries .

**Tableau 06 :** Répartition des actinobactéries dans la nature (**Grigorova et Norris,1990**)

Genres	Habitats
<i>Actinoplanes</i>	L'eau douce, la litière végétale, sol
<i>Actinomadure</i>	Sol
<i>Frankia</i>	Les nodules racinaires des non-légumineuses
<i>Micromonospora</i>	Sol eau, sédiments, les sols humides
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Nacrodia/amarae</i>	Sol, eau, boues
<i>Rhodococcuscoprophilus</i>	Les déjections animales, litières, l'eau, sol
<i>Saccharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Saccharopolysporarectivirgula</i>	Moisi du foin
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière végétale
<i>Thermoactinomyces</i>	Matière en décomposition et fermentation

## VI. Fonctions :

les actinomycètes jouent un rôle important non seulement pour leurs caractéristiques favorisant la croissance des plantes, mais aussi pour la sécrétion d'une large gamme de produits antimicrobiens et d'enzymes qui jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'écologie et de la fertilité du sol (**Adriana et al .,2019**).

Au-delà de leur rôle dans la décomposition de la matière organique, les actinomycètes jouent un rôle très important dans le domaine pharmaceutique et notamment agroalimentaire. La propriété la plus importante de ces bactéries filamenteuses réside dans leur capacité à produire un large éventail d'enzymes hydrolytiques (nucléases, lipases, ... ext). (**Adriana et al .,2019**).

On peut citer leurs fonctions comme ceci ci :

- Source de produits naturels et d'antibiotiques. ex. streptomycine
- Produire de la géosmine, le composé qui donne au sol et à l'eau une odeur terreuse caractéristique.

- Capable de dégrader les complexes de molécules organiques comme phosphore. Les activités microbiennes au niveau du sol augmentent la vitesse de synthèse et de minéralisation de la matière organique permettant ainsi une bonne alimentation des plantes. (**Jarak et al., 2006**).
- Capable de fixation biologique de l'azote avec des espèces de Frankia non associées aux légumineuses. De nombreuses espèces actinorhiziennes sont capables de tolérer des stress environnementaux tels que les métaux lourds, une salinité élevée, la sécheresse, le froid et un pH extrême ( **N. Rascio et al .,2008**).

*Chapitre II : Activité  
antimicrobienne des  
actinomycètes*

### Activité antimicrobienne des actinomycètes :

Comparés aux micro-organismes terrestres, les actinomycètes sont une ressource abondante pour découvrir un grand nombre de composés principaux présentent diverses activités biologiques comme antibiotiques ; qui jouent un rôle important dans la découverte de médicaments microbiens (**Yang et al., 2019**).

La plupart des antimicrobiens connus aujourd'hui ont été isolés à l'origine des actinomycètes, en particulier du genre *Streptomyces* (**Mast et Stegmann, 2019**).

En 2002, le premier génome de *Streptomyces* séquence a été publié. Il s'agissait de la séquence du génome de l'actinomycète modèle *Streptomyces coelicolor*. L'extraction de cette séquence a révélé que *S. coelicolor* abrite 22 groupes de gènes de métabolites secondaires (**Mast et Stegmann, 2019**).

Aujourd'hui, près de 80 ans après que Selman Waksman a introduit le genre *Streptomyces* et, l'actinomycine étant le premier antibiotique qui a été isolé d'un actinomycète, ces bactéries représentent toujours un coffre au trésor pour l'identification de nouveaux antibiotiques (**Mast et Stegmann, 2019**).

En effet la découverte de nouveaux antimicrobiens est la cible privilégiée de la lutte contre la résistance aux antimicrobiens (**Biswas et al., 2021**).

Les produits de fermentation de *Streptomyces* sont une riche source de composés qui peuvent être appliqués comme nouveaux médicaments (**Solecka et al., 2012**).

Les actinomycètes sont connues par leur capacité à synthétiser un grand nombre de métabolites secondaires ayant des structures chimiques et des activités biologiques très variées constituant des propriétés antibactériennes, antitumorales, antifongiques, antivirales, antiparasitaires et autres (**Risandiansyah et Yahya, 2022 ; Fatimah et al., 2022**).

L'amélioration de l'activité antimicrobienne peut être obtenue par la purification partielle, la lyophilisation, entre autres techniques (**Muiru et al., 2008**).

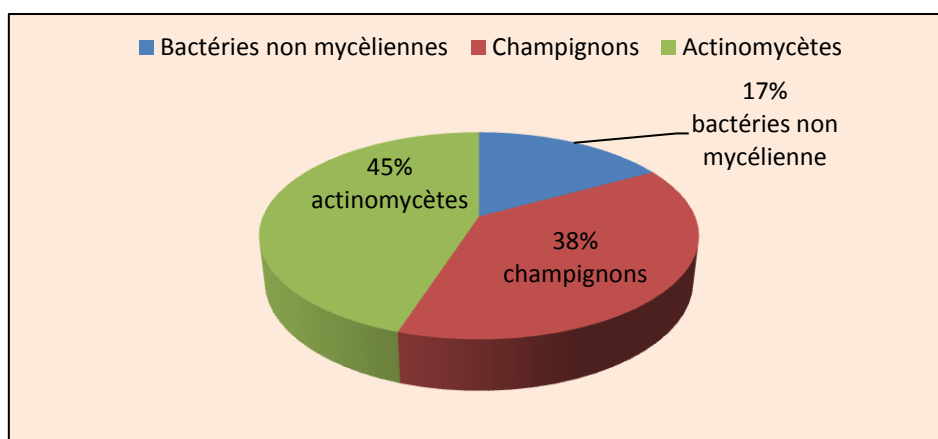
#### I Activité antibactérienne

Les actinomycètes sont bien connus pour la production d'antibiotiques capables d'inhiber ou limiter la croissance d'autres bactéries. C'est l'activité antibactérienne (**Muiru et al., 2008 ; Meurant, 2012**).

##### 1. Origine des antibiotiques :

Les substances produites par les actinomycètes, en particulier du genre *Streptomyces* comprennent toutes les classes de médicaments importantes utilisées dans les cliniques aujourd'hui, telles que les  $\beta$ -lactamines, tétracyclines, macrolides, aminoglycosides ou glycopeptides (**Mast et Stegmann, 2019**).

De plus, les antibiotiques peuvent être produits par divers micro-organismes dont 17% sont synthétisés par les bactéries non mycéliennes, 38% par les champignons et environ 45% par les actinomycètes parmi les actinomycètes filamenteux, environ 75% des métabolites sont produits par des espèces du genre *Streptomyces* (**Solecka et al., 2012**).



**Figure 06** : origine des antibiotiques (Solecka *et al.*, 2012)

## 2. Les antibiotiques produits par les actinomycètes

En 1940, le premier antibiotique, l'actinomycine, a été isolé de *Streptomyces* antibiotiques (Kresge *et al.*, 2004 ; Mast *et al.*, 2020). Après cela, de nombreux antibiotiques ont été découverts à partir de différentes espèces d'actinobactéries cités dans le tableau suivant (Barka *et al.*, 2016 ; Risdian *et al.*, 2019)

**Tableau 07:** les antibiotiques produits par les actinomycètes (**Risdian et al., 2022**).

Les actinomycètes	L'antibiotique produit	Famille de l'antibiotique	Mécanisme d'action
<i>Streptomyces griseus</i> (Waksman et al., 1946)	Streptomycine	Aminosides	Ils inhibent la synthèse protéique des bactéries en bloquant la sous-unité du ribosome 30S ( <b>de Lima Procópio et al., 2012</b> ).
<i>Micromonospora purpurea</i> ( <b>Weinstein et al., 1963</b> )	Gentamicine	Aminosides	
<i>Streptomyces erythraeus</i> ( <b>McGuire et al., 1952 ; Sanchez et al., 1984</b> )	L'érythromycine	Macrolide	Ciblant la sous-unité ribosomale 50S entraînant une inhibition de la synthèse protéique de bactéries ( <b>Jelić et Antolović, 2016</b> ).
<i>Amycolatopsis orientalis</i>	Vancomycine	Glycopeptidiques	Inhibent la biosynthèse de la paroi cellulaire bactérienne en se liant à sa structure peptidoglycane ( <b>Zhang et al., 2018; Nielsen et al., 1982</b> ).
<i>Nocardia lurida</i>	Ristocétine	Glycopeptidiques	

## II Activité antifongique

La lutte biologique utilisant des microbes fonctionnels est considérée comme une méthode économique et écologique pour gérer les phytopathogènes fongiques

(**Abbas et al., 2020**). Ce sont de grands colonisateurs de racines, où ils protègent les plantes contre les phytopathogènes et favorisent la croissance (**Gonzalez-Franco et Robles-Hernández, 2022**).

La grande majorité des antifongiques naturels est d'origine microbienne et près de la moitié est synthétisée par les actinomycètes, en particulier par les *Streptomyces* (**Zou et al., 2021**). Notamment le produit à base de *Streptomyces griseoviridis* a été utilisé pour contrôler les champignons phytopathogènes *Botrytis* et *Fusarium* (**Errakhi et al., 2008 ; Naili et al., 2021**).

Ces antibiotiques antifongiques constituent un groupe très petit mais significatif groupe de médicaments et rôle important dans le contrôle des maladies mycosiques (**Bharti et al., 2010**).

Étant donné le nombre limité de molécules utilisées dans le traitement fongicide et l'émergence d'une résistance aux médicaments multiples, l'industrie pharmaceutique et les chercheurs ont fait appel à la recherche de nouveaux antifongiques plus efficaces et moins agressifs pour l'organisme (**Badji et al., 2005**).

### 1. mécanisme d'action des antifongiques:

Les actinomycètes ont la capacité d'inhiber la croissance d'un large éventail de phytopathogènes bactériens et fongiques (**Djebaili et al., 2020**) et de protéger les plantes par la production d'enzymes hydrolytiques extracellulaires (**Singh et Gaur, 2016 ; Singh et al., 2018**), qui peuvent dégrader la paroi cellulaire fongique (**Aamir et al., 2020 ; Wei et al., 2020**).

Ces enzymes comprennent des chitinases qui agissent sur le composant chitine et des 1-3-glucanases, qui agissent sur la paroi cellulaire des champignons (**Hungund et al., 2021**).

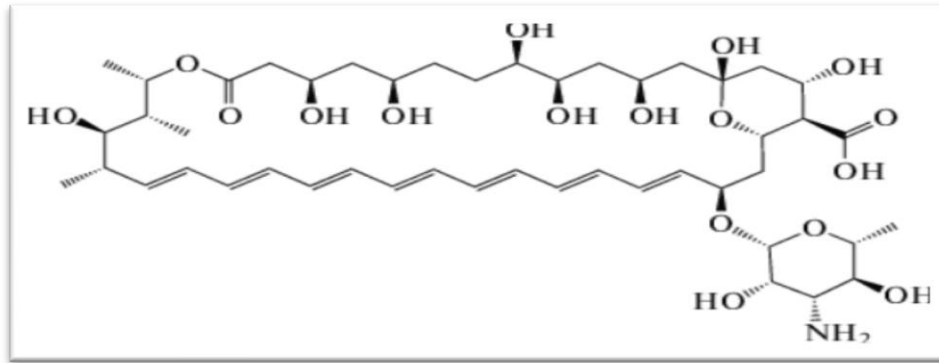
La chitinase et la  $\beta$ -1,3-glucanase sont des enzymes hydrolytiques majeures dans la lyse des parois cellulaires fongiques, par exemple, les parois cellulaires de *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia minor* et *Sclerotium rolfii* (**Keikha et al., 2015**).

### 2. les antifongiques produits par les actinomycètes :

#### 2.1.L'amphotéricine B

- **Structure chimique :**

L'amphotéricine B est un composé antifongique produit par *Streptomyces nodosus*. Il se caractérise par cycle macrolide contenant un sucre aminé, la mycosamine avec une chaîne hydrophile contient plusieurs groupes hydroxyle, et une partie hydrophobe contient 7 doubles liaisons conjuguées (**Baghirova et al., 2022**) comme c'est présenté dans la figure suivante :



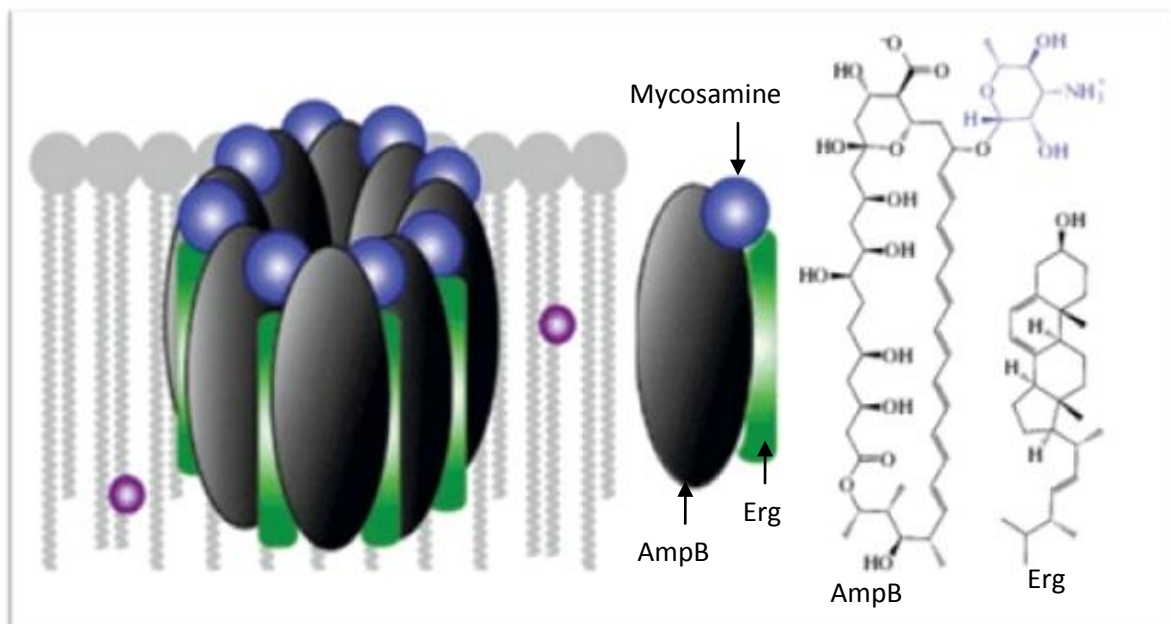
**Figure 07 :** Structure chimique de l'amphotéricine B (Baghirova *et al.*, 2022).

- **Mécanisme d'action de l'amphotéricine B :**

Cette antibiotique est utilisé depuis plus de 60 ans pour traiter les infections fongiques systémiques et reste l'un des antibiotiques les plus importants sur le plan clinique. L'AmB pénètre la barrière hémato-encéphalique et sert donc de traitement standard pour la plupart des infections fongiques du système nerveux central (Umegawa *et al.*, 2022).

Ce type de molécule peut perturber les membranes fongiques en raison de sa grande affinité pour l'ergostérol qui est le principal stérol présent dans les membranes cellulaires fongiques (Baghirova *et al.*, 2022).s'auto-assemble en une structure oligomérique dans les membranes contenant de l'ergostérol (Erg) (Umegawa *et al.*, 2022).

Leur caractère amphotère leur permet de s'associer à la bicouche lipidique de la membrane fongique, en formant des pores qui provoquent une déstabilisation de la paroi et une lyse cellulaire (Sinkó *et al.* , 2022).



**Figure 08:** Le modèle du canal amphotéricine B-ergostérol (Baghirova *et al.*, 2022)

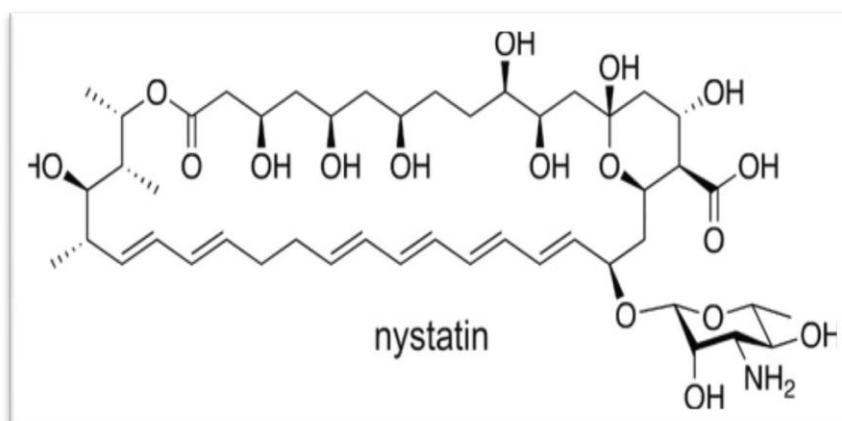
## 2.2.Nystatine

- **Structure chimique :**

La nystatine est un antibiotique antifongique de la famille des polyènes, extrait de culture de *Streptomyces noursei*. Active *in vitro* sur une large variété antifongique (Özdağ Zincir *et al.*, 2022 ; Kumar et Jha, 2017 ; Alsharif *et al.*, 2020). Mais des problèmes de solubilisation et une toxicité assez importante après administration parentérale ont limité son utilisation pour le traitement systémique.

Il s'agit d'un macrolide tétraène structurellement similaire à l'AmpB (La Clair, 2021). Son principal mécanisme d'action est identique à celui de l'AmpB (Kumar et Jha, 2017).

Bien que son spectre d'activité *in vitro* soit similaire à celui de l'amphotéricine B, cet antifongique est surtout utilisé pour le traitement des candidoses gastro-intestinales (par voie orale) et mucocutanées (par voie topique). Il est utilisé pour les candidoses chez les petits animaux et les oiseaux et pour les otites causées par *Microsporium canis* (Alsharif *et al.*, 2020).



**Figure 09:** Structure chimique de la nystatine. (La Clair, 2021).

- **Procédé de production de la nystatine :**

La nystatine peut être obtenue par le procédé général suivant : l'organisme *Streptomyces noursei* est cultivé sur un milieu nutritif liquide stérile contenant une source de carbone et d'azote assimilables, et la nystatine formée est récupérée à partir du mycélium.

Une autre méthode est destinée à séparer d'abord le mycélium du liquide de culture. Le mycélium séparé est extrait avec un solvant organique pour la nystatine, en particulier un alcool aliphatique inférieur et la solution de nystatine ainsi obtenue est traitée pour purifier et concentrer davantage la nystatine qu'elle contient. Le mycélium peut également être extrait dans le liquide de culture, auquel cas le solvant organique de la nystatine utilisé doit être essentiellement insoluble dans l'eau (La Clair, 2021).

### 3. Autres Exemples d'antifongiques produits par les actinomycètes

**Tableau 08 :** Les antifongiques produits par les actinomycètes (Rajivgandhi *et al.*, 2022).

Les métabolites antifongiques	Microorganisme producteur	Références
Validamycine	<i>Streptomyces malaysiensis</i>	(Rajivgandhi <i>et al.</i> , 2022)
Lomofugine	<i>Streptomyces lomodesis</i>	(Rajivgandhi <i>et al.</i> , 2022)
Antimycine	<i>Streptomyces lucius</i>	(Rajivgandhi <i>et al.</i> , 2022)
transvalensine	<i>Nocardia transvalensis</i>	(Hoshino <i>et al.</i> 2004)
macrotermycine	<i>Amycolatopsis sp</i>	(Beemelmans <i>et al.</i> 2017; Risdian <i>et al.</i> , 2022)
transvalencin A	<i>Nocardia transvalensis</i>	(Hoshino <i>et al.</i> , 2004)
<i>Rustmicine</i>	<i>Micromonospora narashinoensis</i>	(Talukdar <i>et al.</i> , 2016)

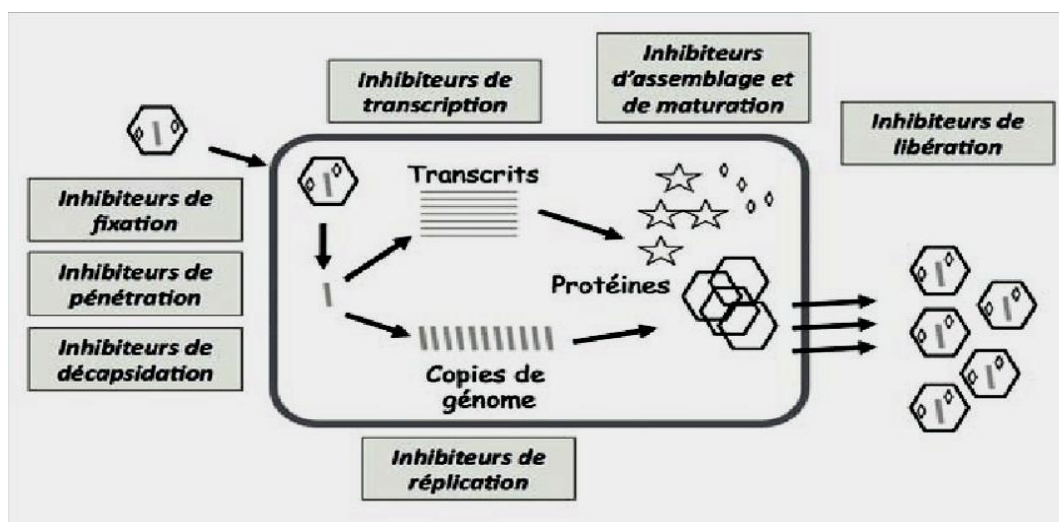
### III Activité antiviral des actinomycètes :

Plusieurs études ont rapporté que les actinomycètes sont capables de produire une variété de composés antiviraux agissant contre les agents pathogènes viraux de l'homme, des animaux supérieurs, des animaux aquatiques et des plantes (Rajkumar *et al.*, 2018).

Par ailleurs, les médicaments antiviraux disponibles dans le commerce, lorsqu'ils sont utilisés dans le traitement des infections virales, ne donnent pas toujours de bons résultats. Il s'agit d'un problème urgent qui doit être résolu car plusieurs virus, notamment la grippe et les paramyxovirus, acquièrent une multi résistance aux médicaments (Ahsan et Ishaq, 2022).

Une solution potentielle à ce problème émergent est de créer de nouveaux médicaments antiviraux à partir de composés de produits naturels disponibles (Berezin *et al.*, 2019).

Contrairement à la plupart des antibiotiques, les médicaments antiviraux ne détruisent pas l'agent pathogène qu'ils ciblent, mais inhibent son développement. Son mode d'action est initié par la fixation et la pénétration d'une particule virale, il s'achève par la libération de très nombreuses particules virales qui vont aller infecter d'autres cellules. Les antiviraux qui inhibent les étapes de ce cycle sont présentés dans la figure suivante (Agut *et al.*, 2016) :



**Figure 10** : Représentation schématique du mode d'action des antiviraux inhibant le cycle viral (Agut *et al.*, 2016)

## 1. Etude de l'activité antivirale de quelques actinomycètes :

### 1.1. Antimycine A :

Antimycine A produite par une souche d'actinomycètes marins, *Streptomyces kaviengensis* a montré une activité antivirale significative contre le virus de l'encéphalite équine occidentale. L'analyse de son mécanisme d'action a révélé une perturbation du transport d'électrons mitochondrial et de la biosynthèse de la pyrimidine.

De plus, l'antimycine A, précédemment connue, a montré une valeur de une activité à large spectre envers un large éventail de virus à ARN, y compris les membres des familles *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Bunyaviridae*, *Picornaviridae* et *Paramyxoviridae* (Raveh *et al.*, 2013).

### 1.2. Xiamycine D :

De nouveaux composés ont été identifiés comme des indolosesquiterpénoïdes portant des car-bazoles. Parmi eux, la xiamycine D a montré l'effet le plus fort sur le virus de la diarrhée épidémique porcine (PEDV). (Jakubiec-krzesniak *et al.*, 2018)

### 1.3. Complestatines :

*Streptomyces lavendulae* a produit des complestatines qui sont connues comme des peptides qui agissent par interaction avec les molécules de surface cellulaire des cellules cibles et inhibent l'adsorption du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) sur les cellules (Selim *et al.*, 2021).

#### 1.4. La benzastatine C :

La benzastatine C, un alcaloïde 3-chloro-tétrahydroquinolone provenant de *Streptomyces nitrosporeus*, a montré une activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1), le virus de l'herpès simplex de type 2 (HSV-2) et le virus de la stomatite vésiculaire (VSV), respectivement (**Rajkumar et al., 2018**).

En parallèle, la benzastatine D, le dérivé déchloré correspondant, n'a présenté aucune activité antivirale. Ces résultats indiquent que l'activité antivirale de la benzastatine C est due en partie à la partie chlorée de sa structure moléculaire (**Muhammad et al., 2022**).

#### 1.5. Les analogues de nucléos(t)ide :

Les analogues de nucléos(t)ide sont une classe majeure de médicaments antiviraux approuvés qui exercent des effets thérapeutiques par incorporation dans l'ADN et l'ARN viral pour inhiber la réplication du virus.

Le professeur Umezawa et ses collègues ont identifié des analogues de nucléosides provenant d'actinobactéries, tels que la formycine (**Hori et al., 1964 ; Takeuchi et al., 1966**), la coformycine (**Sawa et al., 1967**), et l'oxanosine (**Saito et al., 1999**) dont certains présentent une activité antivirale, utilisée pour le traitement des infections par le virus de l'herpès simplex (**Takizawa et Yamasaki, 2018**).

#### 1.6. Pepstatine

Un inhibiteur de protéase aspartique isolé de plusieurs espèces de *Streptomyces* a contribué de manière significative au développement d'une classe clé de médicaments anti-VIH dans la thérapie antirétrovirale hautement active (**Takizawa et Yamasaki, 2018**).

D'autres tests antiviraux des produits naturels synthétiques ont révélé que la xiamycine A présente une puissante activité inhibitrice contre le HSV-1 (**Meng et al., 2015**).

## 2. Composés bioactifs antiviraux isolés à partir des actinomycètes :

**Tableau 09:** les antiviraux dérivés d'actinomycètes (Raihan *et al.*, 2021).

Microorganisme	Composé antiviral	Groupe	Virus ciblé	Références
<i>Streptomyces fradiae</i>	Acridanone	Alcaloïde	WSSV White spot syndrome virus	(Manimaran <i>et al.</i> , 2018)
<i>Streptomyces puniceus</i>	Clazamycine	Alcaloïde	HSV herpes simplex virus	(Dolak et DeBoer, 1980; Lewis <i>et al.</i> , 2021)
<i>Streptomyces roseus</i>	Leupeptin	Peptide	Marburg virus (MARV)	(Gnirss <i>et al.</i> , 2012)
<i>Actinomycetes</i>	Antipain, Elastatinal	Peptide	Polio virus	(Molla <i>et al.</i> , 1993; Belov <i>et al.</i> , 2004)
<i>Streptomyces koyangensis</i>	Neoabyssomicine D	Polycétone	HSV	(Huang <i>et al.</i> , 2018)

## IV Activité antiparasitaire des actinomycètes :

Les organismes qui vivent sur ou dans un organisme hôte et obtiennent des nutriments de l'hôte ou aux dépens de celui-ci sont parfois appelés parasites. Les antiparasitaires sont des médicaments utilisés pour traiter les maladies parasitaires courantes telles que la leishmaniose, le paludisme et la trypanosomiase.

Cependant, il existe un grand nombre de publications consacrées à la découverte de composés antiparasitaires naturels qui sont actuellement disponibles (Ismail *et al.*, 2020).

En fonction du type de parasite à détruire, les antiparasitaires sont présentés dans le tableau suivant (Coulibaly, 2022).

**Tableau 10** : Parasites ciblés en fonction des antiparasitaires (Coulibaly, 2022).

Antihelminthiques	Antiprotozoaires
Actifs sur : <ul style="list-style-type: none"> <li>– Les cestodes (ténias)</li> <li>– Les trématodes (douves)</li> <li>– Les nématodes (ascaris, oxyure)</li> </ul>	Actifs sur : <ul style="list-style-type: none"> <li>– Plasmodium (paludisme)</li> <li>trypanosoma (trypanosomiase africaine ou maladie du sommeil et trypanosomiase américaine ou maladie de Chagas)</li> <li>– Leishmania (leishmaniose)</li> <li>– Toxoplasma (toxoplasmose)</li> <li>– Giardia (Giardiase)</li> <li>– Amibe (L'amibiase)</li> <li>– Trichomonas (trichomonase)</li> </ul>

## 1. principaux Composés antiparasitaires produits par les actinomycètes :

### 1.1. Avermectine :

La diversité chimique et structurelle des produits naturels a toujours révolutionné le domaine biologique avec la découverte de nouvelles molécules. Par exemple, la découverte des avermectines, en 1976 au Japon ont complètement révolutionné les approches visant à contrôler les parasites. Ces avermectines sont produites par fermentation de *Streptomyces avermitilis*, originaire du sol. Elles sont actives contre les arthropodes parasites des animaux domestiques (Johnson-Arbor, 2022). Ce sont les antiparasitaires les plus utilisés dans le domaine vétérinaire (Burg et al., 1979).

Cependant, avant l'utilisation clinique, l'évaluation de leur sécurité chez les animaux est un facteur critique majeur qui doit être pris en compte. Parmi la famille des avermectines, l'ivermectine est actuellement le seul médicament dont l'utilisation est autorisée chez l'homme (Salman et al., 2022).

- **Structure chimique des avermectines :**

Les avermectines sont un groupe de 16 composés chimiques distincts qui appartiennent à la catégorie des lactones macrocycliques.

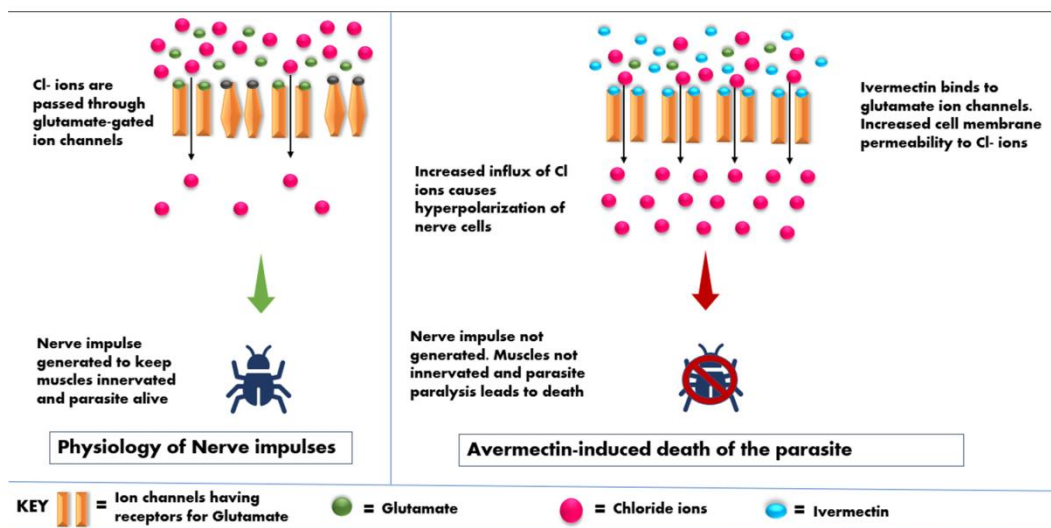
Le squelette macrocyclique est le principal composant des avermectines, auquel sont attachés un hexahydrobenzofurane et un agent spirocétal. En position C-13 les avermectines possèdent un groupe bisoléandrosyloxy comme principal point d'identification.

Il existe huit composants différents divisés en deux groupes principaux A et B (A1a, A2a, A1b, A2b, B1a, B2a, B1b, et B2b) qui sont produits par la bactérie *Streptomyces avermitilis*. La différence entre les composants A et B est Un groupe méthoxyle ou hydroxyle en position C-5 respectivement (Dutra et al., 2022).

- **Mode d'action des avermectines :**

Les avermectines, considérées comme des neurotoxines potentielles, ciblent les récepteurs de l'acide gamma aminobutyrique (GABA) et les canaux ioniques chlorure déclenchés par le glutamate (GluCl) qui sont liés à la neurotransmission chez les parasites. Le GABA, un neurotransmetteur, provoque l'ouverture des canaux d'ions chlorure des parasites, entraînant l'afflux d'ions chlorure.

Les avermectines agissent comme des agonistes des canaux chlorure et provoquent des changements dans la perméabilité de ces canaux, entraînant la perturbation de la neurotransmission. Cette disturbance induit une hyperpolarisation de la membrane neuronale, une paralysie et finalement la mort du parasite. Ce mode d'action d'action est brièvement résumé dans la figure ci-dessous (Salman *et al.*, 2022).



**Figure 11:** Mode d'action de l'ivermectine (Salman *et al.*, 2022)

## 1.2. Valinomycine :

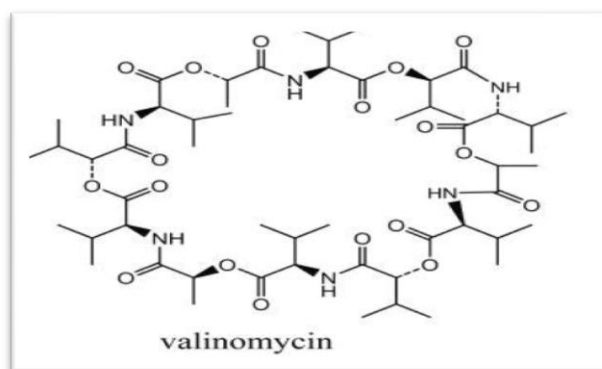
La valinomycine, est un composé antiparasitaire isolé de *Streptomyces spp.* C'est un depsipeptide cyclique isolé de nombreux actinomycètes du sol tels que *Streptomyces fulvissimus*, *Streptomyces roseochromogenes* et *Streptomyces griseus var.* (Makarasen *et al.*, 2018).

La valinomycine a présenté des activités inhibitrices significatives contre les parasites *Leishmania major* et *Trypanosoma brucei brucei* (Pimentel-Elardo *et al.*, 2010 ; Solecka *et al.*, 2012).

- **Structure chimique :**

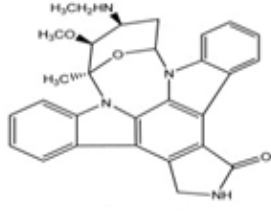

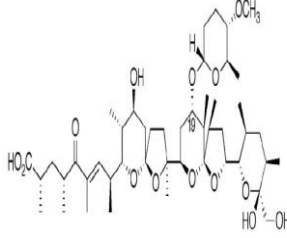
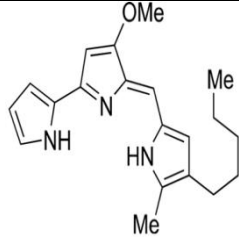
La valinomycine est composée de groupes polaires orientés vers la cavité centrale, alors que le reste de la molécule est relativement non polaire, se comportant ainsi comme un ionophore qui module le transport d'ions tels que le potassium à travers les membranes biologiques (Makarasen *et al.*, 2018).

Des études antérieures ont montré d'autres activités biologiques de la valinomycine dans des tests insecticides, nématocides et antifongiques (Pimentel-Elardo *et al.*, 2010).



**Figure 12:** Structure chimique de valinomycine (Pimentel-Elardo *et al.*, 2010).

2. Autres Composés antiparasitaires isolés à partir de *Streptomyces* :**Tableau 11:** Composés antiparasitaires produit par les actinomycètes (**Subathra Devi et al., 2022 ; Pimentel-Elardo.,2010**)

L'espèce	Composé antiparasitaire	Catégorie des antiparasites	Parasite cible	Structure chimique
<i>Streptomyces sp.</i>	Staurosporine	Alcaloïde indolocarbazole	<i>Leishmania major</i> et <i>Trypanosoma brucei brucei</i> . <b>(Pimentel-Elardo,2010)</b>	
<i>Streptomyces sp.</i>	Buténolide	Lactone $\alpha,\beta$ -insaturée	<i>Trypanosoma sp.</i> <b>(Pimentel-Elardo,2010)</b>	
<i>Streptomyces nanchangensis</i>	Nanchangmycine	Polyéther	Parasites coccidiens du poulet et paludisme résistantes aux médicaments. <b>(Liu et al., 2008 ; Solecka et al., 2012)</b>	
<i>Streptomyces coelicolor</i>	Prodiginine <b>(Barka et al., 2016)</b>	Tripyrroliques linéaires et cycliques de couleur rouge <b>(Habash et al., 2020; Papireddy et al., 2011)</b>	<i>Plasmodium falciparum</i> <b>(Habash et al., 2020 ; Papireddy et al., 2011 ; Subathra Devi et al., 2022)</b>	 <b>(Hu et al., 2016)</b>

# *Matériel et méthodes*

L'objectif principal de cette étude était d'isoler et de purifier les actinomycètes provenant d'échantillons du sol et présentant une activité antimicrobienne contre des souches Gram+ et Gram- pathogènes et d'autres non pathogènes.

Ce travail a été examiné dans le cadre d'expériences menées dans le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université MOULOUD MAMMERI à Tizi-Ouzou.

### Matériel

#### I Matériel du laboratoire :

##### 1. Appareillage et verreries

Voir annexe

##### 2. milieux de cultures et produits chimiques

Type de produit	Le produit	Utilisation
<b>Milieux de culture</b>	- Chitine agar vitamine B	-Isolement des actinomycètes
	-ISP2	-Culture des souches d'actinomycètes
	- Gélose nutritive	-Repiquage des souches bactériennes
<b>Réactifs</b>	- Lugol - Fuschine - Violet de gentiane - Alcool 90% - Huile de vaseline	-Coloration de GRAM
<b>Solvants</b>	-Eau distillé	-Préparation des milieux
	-Eau physiologique	-Préparation des suspensions bactérienne
<b>Acides et bases</b>	- Chlorure de sodium(NaCl)	-Préparation de l'eau physiologique
	- Hydroxyde de sodium à 2N(NaOH) -Chlorure d'hydrogène (HCL)	-Ajustement de PH

Voir annexe pour la composition des milieux.

## II souches bactériennes utilisées :

Huits souches bactériennes ont été récupéré au laboratoire à l'hôpital CHU NADIR MOHEMMED à Tizi-Ouzou en 2013/2014, entretenues et conservées dans le laboratoire pédagogique de microbiologie à l'université MOULOUD MAMMERI à Tizi-Ouzou.

Souches bactérienne	Souches bactériennes	Code des souches	Gram
<b>Bactéries pathogènes</b>	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Gram négatif
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	Gram négatif
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Gram positif
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 25973	Gram positif
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 25953	Gram négatif
<b>Bactéries multirésistantes aux ATB BLSE</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1216	Gram négatif
		3511	
		3520	

## Méthodes

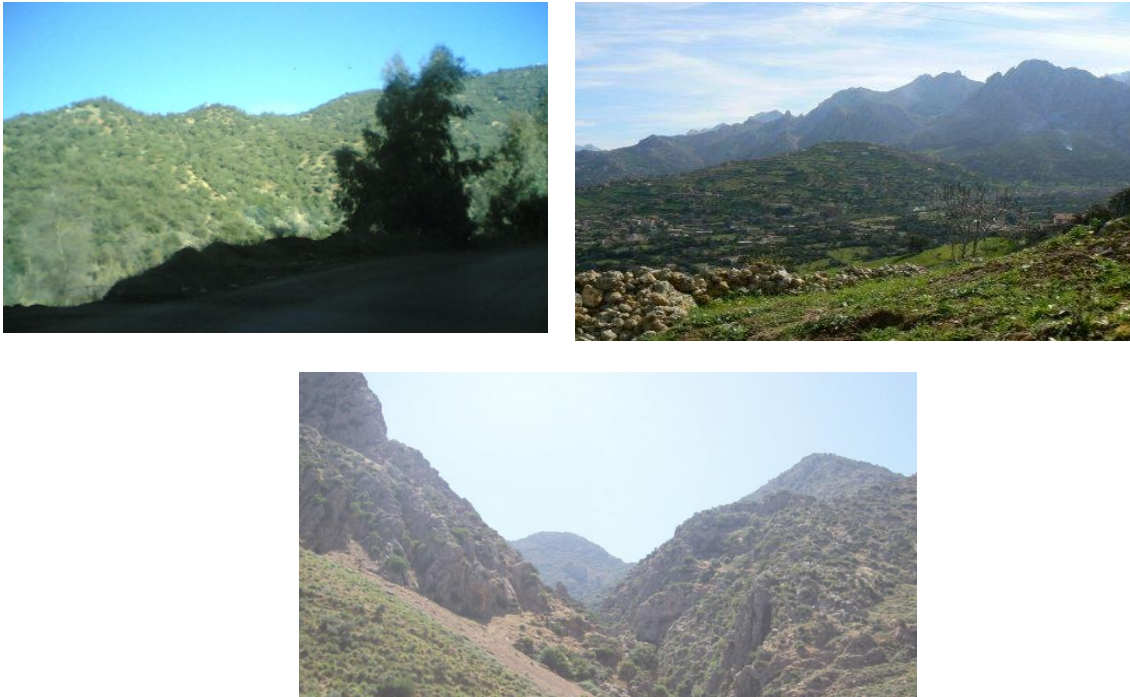
### I Isolement

#### 1. Echantillonnage :

Le prélèvement Des échantillons a été réalisée à partir de trois endroits divers de sol forestier de Boghni, commune de la wilaya de Tizi-Ouzou, en Algérie situé à environ 38 km au sud ouest de Tizi-Ouzou ,à 15 km à l'ouest d'Ouadhia à 13 km à l'est de Draà El Mizan . Située à une altitude de 249 m (coordonnées géographiques : 36°Nord Longitude : 3°Est .A des altitudes différentes ; minimum :187m ; maximum :2144m ;moyenne : 715m)

Les prélèvements ont été effectué dans les points suivants :

- Le premier sol nommé (MN) a été prélevé à Ath Mendas à une altitude de 524m .
- Le deuxième sol nommé (GM) a été prélevé à Thala Guilef à une altitude de 1500m.
- Le troisième sol nommé (GR) a été prélevé à Ath Zaamoum à une altitude de 700 m.



**Figure 13:** Endroits de prélèvement à Boughni

Après avoir raclé les premiers centimètres du sol, Chaque échantillon a été prélevé à une profondeur de 10 cm de la couche superficielle du sol. Une quantité d'environ 100 g de terre est déposée à l'aide d'une spatule stérile dans des sacs polyéthylène stériles, hermétiquement fermés et transportés immédiatement au laboratoire. C'est la méthode de Pochon en 1964 (**Pochon,1964 ; Boughachiche et al.,2005 ; Chaudhary et al.,2013**).



**Figure 14 :**Lieux de prélèvement des échantillons des trois sols.

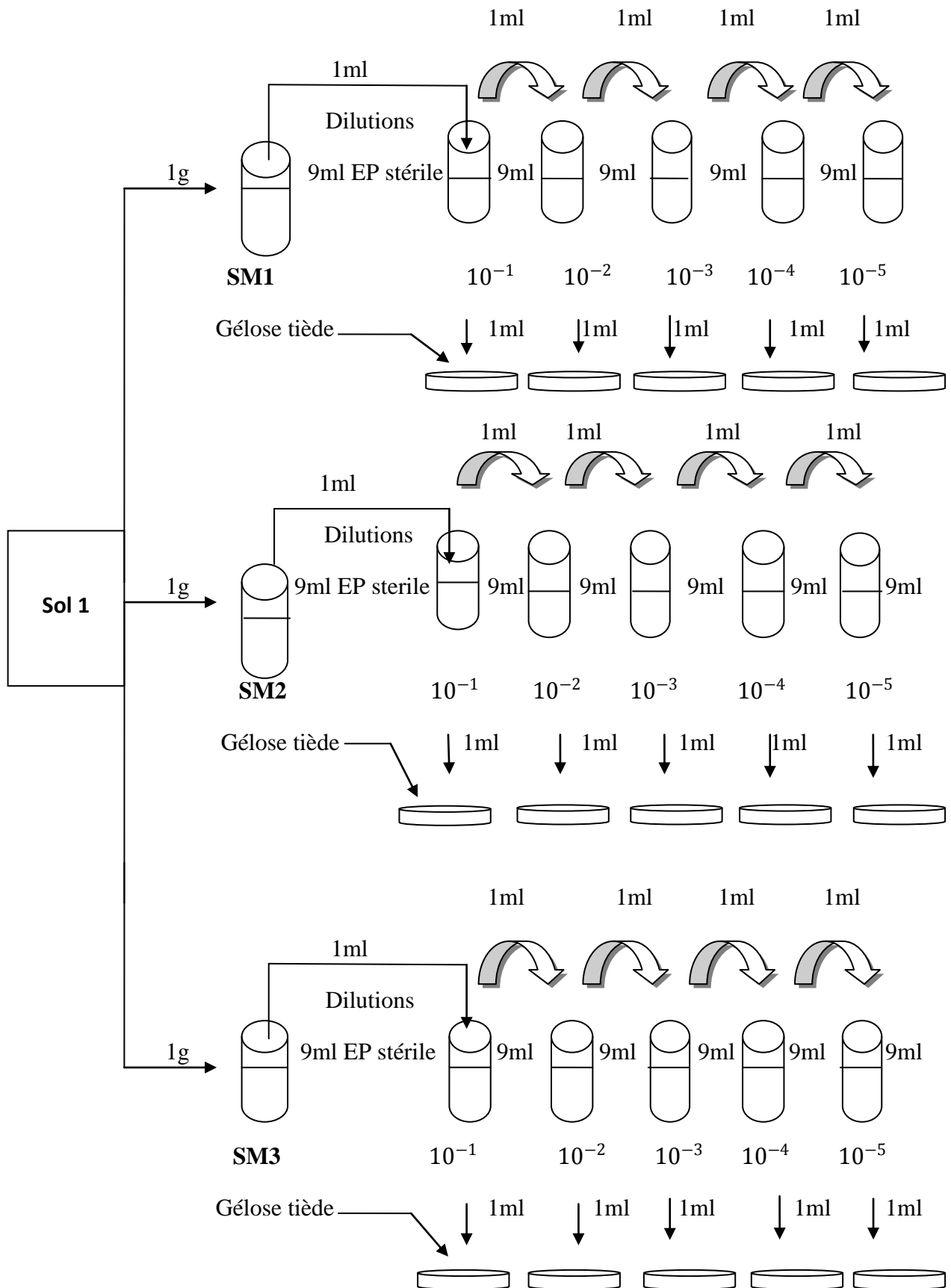
### 2. Traitement du sol au laboratoire :

Avec un mortier écraser bien les échantillons et tamisé afin d'éliminer les gros débris (pierres, racines etc....) et obtenir un prélèvement homogène. Ce dernier sera chauffé au four pasteur à 100°C pendant 10 minutes afin d'éliminer les formes végétatives.

### 3. Méthodes d'isolement et séries de dilutions :

L'isolement des microorganismes du sol consiste à réaliser, à partir d'un échantillon, des suspensions dilution du sol. Pour être plus susceptible d'avoir des actinomycètes, trois copies pour chaque sol sont réalisés.

- Pour la préparation des suspensions mères ,peser 1 g de sol
- Mélanger 1 g de sol pesé à 9 ml d'eau physiologique stérile.
- Avec une micropipette, prélever 1 ml de la suspension mère et verser dans 9 ml d'eau physiologique stérile (la dilution  $10^{-1}$  est ainsi réalisée) ensuite agiter .
- Continuer cette manipulation avec cinq séries de dilutions décimales.
- Les tubes sont agités au vortex pendant 15minutes.
- Pour un ensemencement en masse .A l'aide d'une micropipette, prélever 1 ml de chaque tube, déposée dans une boîte de pétrie et verser la gélose tiède (**chitine agar vitamineB** )
- Après la solidification du milieu, les boîtes sont retournées et mises à incuber à 28°C Pendant une semaine.
- Donc on aura 15 boîtes de pétries pour chaque échantillon du sol. Comme l'indique le schéma suivant :



**Schéma 02:** Schéma représentatif des dilutions décimales suivis d'un ensemencement en masse .

- Un ensemencement en surface sur milieux **chitine agar vitamine B** préparé au laboratoire et stérilisé à 120 °C Pendant 15 minutes, Puis additionné de trois antifongiques (voir annexe ).
- Incubation à 28°C pendant 21 jours, avec observation des boites après 7 jours ,14 jours et 21 jours .

### II Purification :

Pour la mise en évidence des actinomycètes, les colonies qui ont l'aspect macroscopiques et microscopique caractéristiques des actinomycètes, sont ensemencées par la méthode de stries centrale sur milieu IPS2 préalablement préparé au laboratoire, et après stérilisation, est additionné de vitamine et antifongiques .(voir l'annexe)

Procéder à une deuxième ou troisième purification s'il est nécessaire .Réaliser la coloration de gram et observation au microscope.

### III Conservation :

Les souches d'actinomycètes pures obtenus ont été conservées par ensemencement sur des tubes de gélose incliné del'ISP2, puis incubé pendant 7 jours à 28°C. Les tubes sont ensuite maintenusà4°C.

### IV Identification :

#### 1. Présentation de souches d'actinomycètes :

Les caractéristiques morphologiques et culturales des souches d'actinomycètes sont étudiées par l'ensemencement de ces dernières dans milieux de culture : (ISP2), (**Shirling et Gottlieb, 1966**). Après l'isolement et la purification de 16 souches bactériennes provenant de trois sols différents on a pu retenir que 12 souches qui sont des actinomycètes .Ces derniers sont :

MN120-MN38-MN113-MN33-MN41-GM16-GM31-GM38-GM25-GR28-GR46-GR48.

#### 2. Etudes morphologiques des souches :

##### ❖ Préparation de l'inoculum de souches d'actinomycètes :

A partir de souches d'actinomycètes préalablement isolées :

- Avec une micropipette à embout bleu, pipeter 500µl d'eau physiologique stérile dans un eppendorf en citant le nom de la souche.
- A l'aide d'un cure-dent stérile gratter quelques colonies, déposer dans l'eppendorf puis vortexer.
- Avec un écouvillon, on fait un ensemencement de la souche d'actinomycètes sur son milieu approprié en ligne droite à la surface de la gélose (ISP2).
- Incuber à la température appropriée (28°C) pendant 7 jours.

### 2.1.Examen macroscopique:

Une première caractérisation morphologique est l'observation de l'aspect macroscopique des colonies, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. D'après les auteurs, les éléments d'identification macroscopiques sont :

- Couleur de la colonie :orange, marron, blanche, grise, jaune... etc
- La forme des colonies : rondes, irrégulières, circulaire, filamenteuse, rhizoïdes...etc.
- La taille des colonies par la mesure du diamètre : punctiformes, petites, moyennes, grosses...etc
- L'élévation : convexe, concave, plate, bombées...etc
- L'opacité : opaque, translucide ou transparente
- La surface : lisse, rugueuse, dentelée,...etc.
- La consistance :sèche, crémeuse...etc
- Contour :réguliers, ondulé,filamenteux,bouclé...et
- Sporulation :absence, presence.

### 2.2.Examen microscopique:

#### ❖ Préparation des frottis :

- On dépose une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame en verre, puis à l'aide d'une anse à boucle bien flambée, on prélève une colonie de la souche à étudier et étaler à la surface de la lame.
- Sécher la lame a la chaleur de la flamme du bec bunsen.
- Fixer le frottis en passant la lame 3 fois dans la flamme du bec bunsen et laisser refroidir.

#### ❖ Coloration de Gram :

La coloration de Gram a été effectuée selon la méthode classique décrite par un bactériologiste **Danois Hans Christian Gram en 1884 (Lachal et Bouchkima,2020)**

- Recouvrir la lame de violet de Gentiane et laisser 1 minute
- Ajouter le lugol (2×45 secondes) suivi d'un rinçage à l'eau
- Décoloration avec l'alcool 90% pendant 10 secondes puis rinçage à l'eau
- Recoloration à la fuschine pendant 1 minute
- Rinçage à l'eau
- Sécher la lame avec du papier absorbant
- Observation à l'immersion au grossissement ×1000 en pleine lumière en mettant une goutte de l'huile de vaseline sur la lame.

### 3. Mise en évidence de l'activité antibactérienne :

La mise en évidence de l'activité antibactérienne a été réalisée par la technique de stries croisées sur milieux solide. Cette activité a été testée vis-à-vis ces bactéries tests suivantes : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* et *Klebsiella pneumoniae*.

#### • Préparation des souches tests :

Pour chaque bactérie test, un inoculum est réalisé à partir d'une culture de 18h jusqu'à 24h à 37°C sur gélose nutritive en stries serrées.

La suspension bactérienne est préparée comme ceci :

- Sur un portoir, on prépare quatre tubes à vis stériles contenant 10ml d'eau physiologique stérile.
- Avec un écouvillon on prélève quelques colonies de la souche et introduire dans le tube à vis.
- Agiter au vortex.
- Mesurer la DO entre : 0.08 à 0.1 et à 625 nm ,à une longueur d'onde de 625 nm.

En second lieu on procède à l'ensemencement en perpendiculaire (90°) la souche indicatrice par cette technique ci-dessous :

#### • Technique de stries croisées :

Cette méthode consiste à ensemencer les isolats d'actinomycètes en un seul trait à la surface du milieu solide ISP2. Les boîtes sont incubées pendant 7 jours à 28°C. Ensuite, chaque bactérie cible (bactéries tests), sera ensemencée par une strie perpendiculaire à celle des actinomycètes. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures. (Aouiche *et al.*, 2012).

Après l'incubation, un résultat positif ; c'est à dire présence d'une activité antibactérienne, qui se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition. Les diamètres d'inhibition sont mesurés à l'aide d'une règle gradué

#### Lecture :

Pas d'activité

Faible activité < 25% inhibition

Activité modéré :25-50 % inhibition

Forte activité > 50 % inhibition

*Résultats et  
discussion*

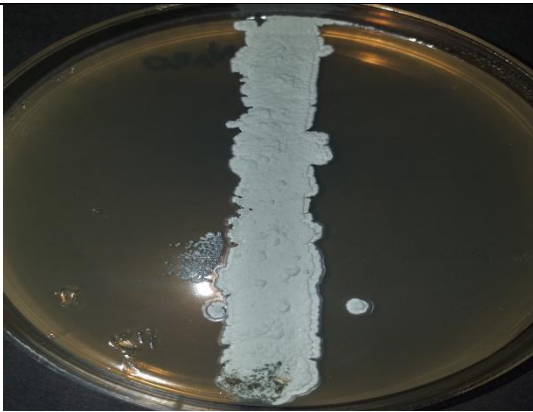
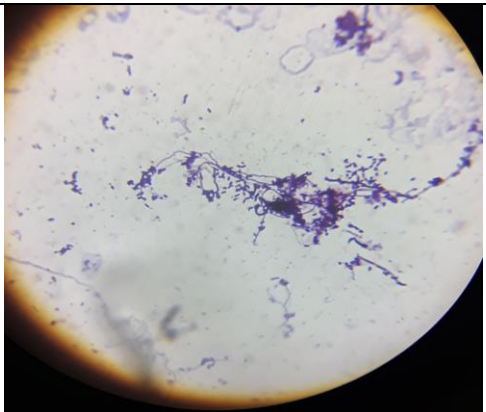

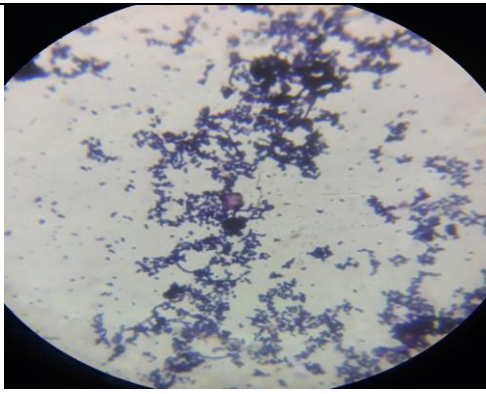
### I. Résultats :


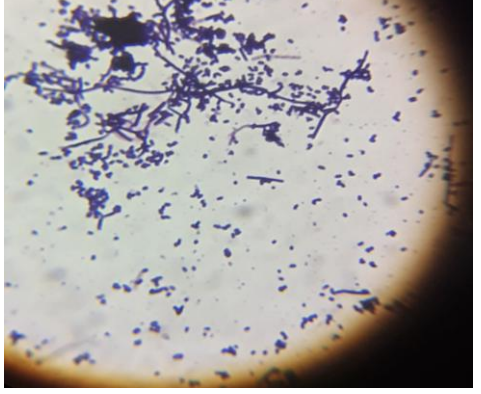
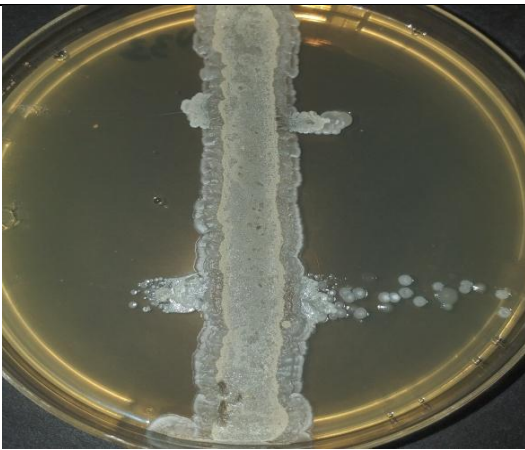
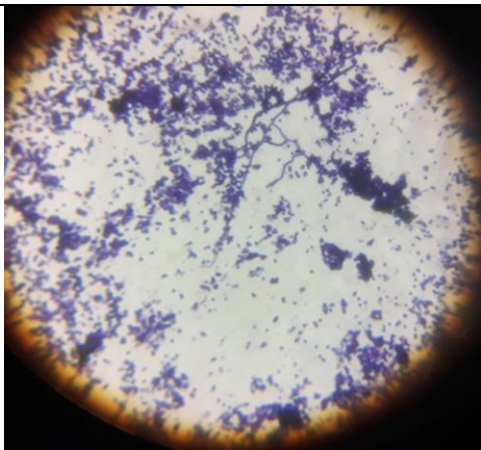
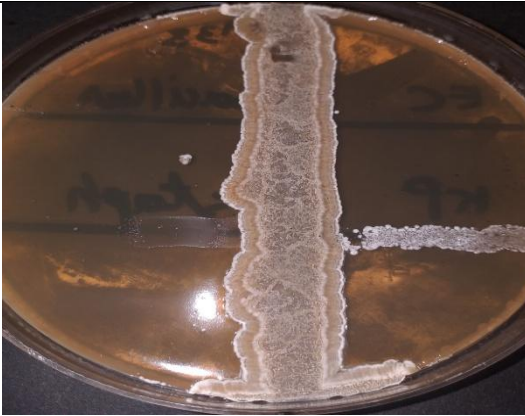

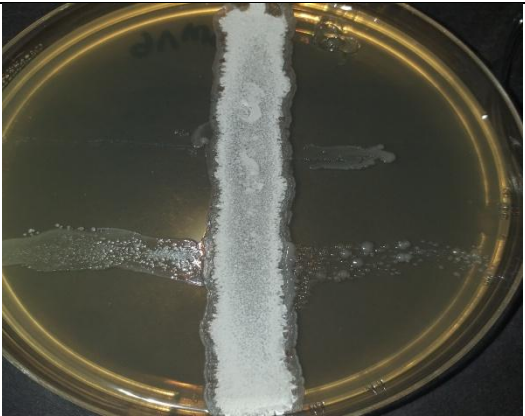
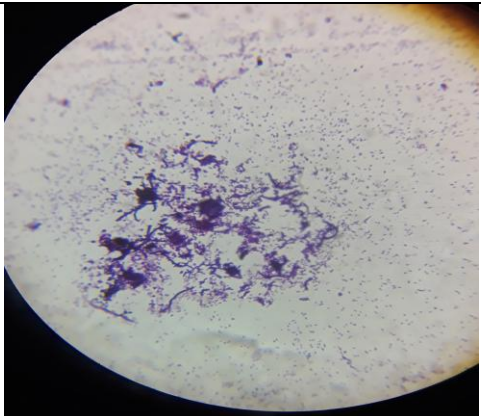
Dans ce qui suit, seront abordés les résultats et les discussions des deux parties de ce travail, relatifs à l'identification morphologiques des souches d'actinomycètes et la mise en évidence de leur activité antibactérienne vis à vis des souches cibles.


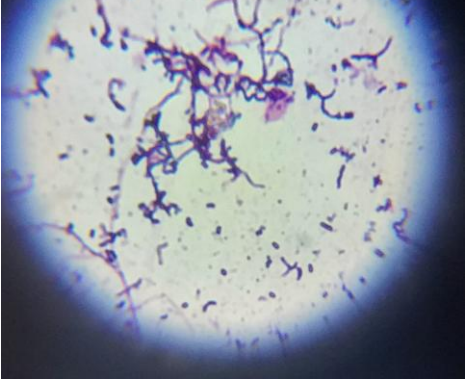
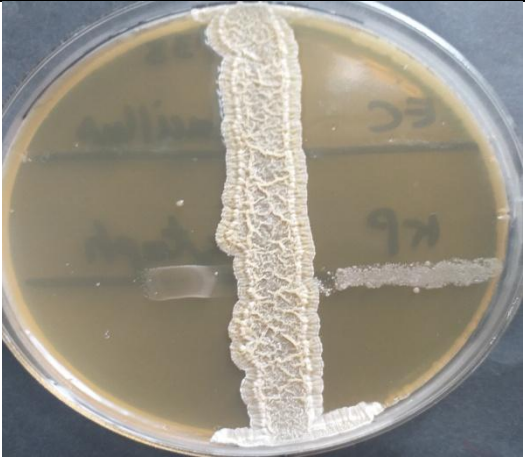
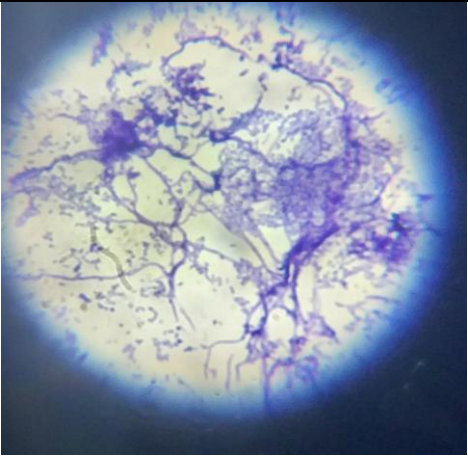



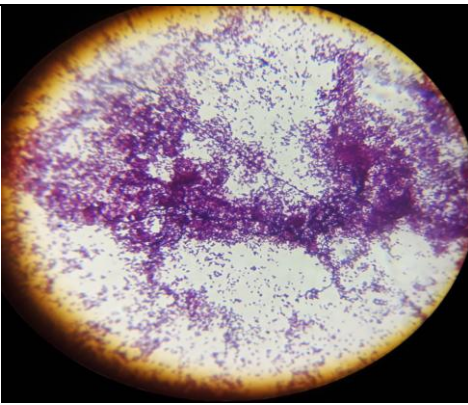
✚ Examen macroscopiques et microscopiques :

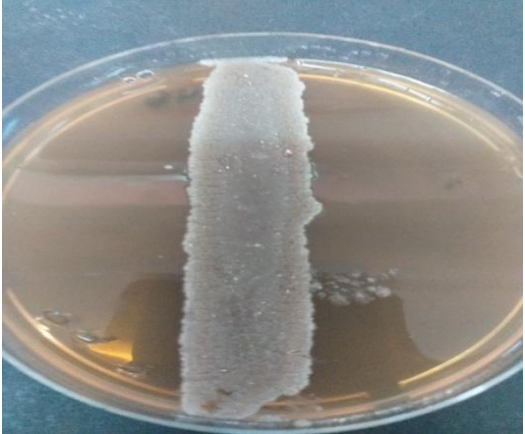
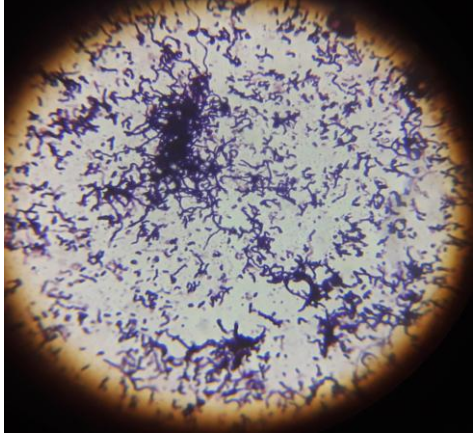

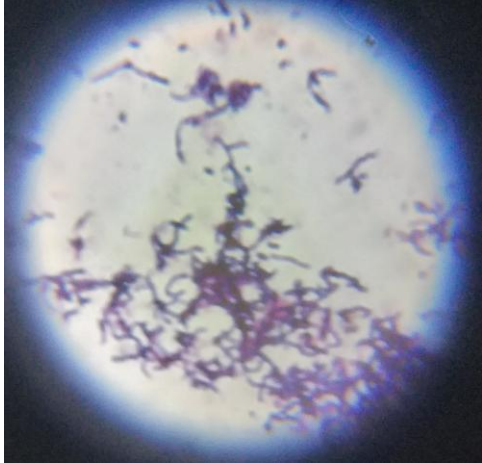
Toutes les souches sélectionnées ont des aspects différents résumés dans ce tableau ci-dessous :

**Tableau 12:** Tableau récapitulatif de l'identification morphologique (photos prises par camera de téléphone Samsung )

Souche	Observation macroscopiques	Observation microscopiques
MN120		
MN113		

<p><b>MN38</b></p>		
<p><b>MN33</b></p>		
<p><b>MN41</b></p>		
<p><b>GM16</b></p>		

<p><b>GM31</b></p>		
<p><b>GM38</b></p>		
<p><b>GM25</b></p>		
<p><b>GR28</b></p>		

<p><b>GR46</b></p>		
<p><b>GR48</b></p>		

➤ Caractéristiques des souches isolées :

**Tableau 13** : Caractères macroscopiques des actinomycètes isolées

	<b>MA</b>	<b>MS</b>	<b>Surface</b>	<b>Forme</b>	<b>Contour</b>	<b>Spore</b>	<b>l'élévation</b>
<b>MN120</b>	blanche	jaune	rugueuse	rondes	ondulé	++	concave
<b>MN38</b>	grise	marron chocolat	rugueuse	rondes	réguliers	+++	concave
<b>MN113</b>	gris	Marron orangé	rugueuse	ronde	réguliers	+++	plate
<b>MN33</b>	Jaune transparent	jaune	lisse, dentelé	filamenteux	ondulé	++	bombé
<b>MN41</b>	gris	jaune	dentelé	irréguliers	bouclé	-	convexe
<b>GM16</b>	gris	jaune	rugueuse dentelé lisse	ronde	filamenteux	-	concave
<b>GM38</b>	Marron transparent jaunâtre	jaune	rugueuse	filamenteux	Bouclé	++	bombé
<b>GM25</b>	blanche	jaune	dentelé	ronde	réguliers	-	plate
<b>GR28</b>	Marron transparent	Marron chocolat	lisse	circulaire	bouclé	+	bombé
<b>GR46</b>	Marron transparent	Marron foncé	dentelé	filamenteux	réguliers	+++	plate
<b>GR48</b>	Marron chocolat	Marron chocolat	dentelé	filamenteux	réguliers	+	plate

Lecture :

- : Absence de spore



+ : Peu

++ : Abondant

+++ : Très abondant

### ✚ L'activité antibactérienne :

**Tableau 14** : Les souches d'actinomycètes positives présentant une activité bactérienne.

La souche	La boîte
MN 41	 <p>Zone d'inhibition KP 3520</p>
GM38	 <p>Zone d'inhibition <i>S.aureus</i></p> <p>Zone d'inhibition KP 700603</p>

### II. Discussion :

Sur l'ensemble des 12 isolats d'actinomycètes testés, 2 souches présentent au moins une activité antibactérienne vis-à-vis des souches tests utilisées ; soit à un taux de 53,68%.

Parmi les isolats d'actinomycètes ayant une activité antibactérienne on a deux souches :

- GM38 a présentée une double activité c'est à dire vis-à-vis des deux souches tests : *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* 700603. Par contre aucune activité n'a été déterminée vis-à-vis de *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*.
- MN41 a présentée un potentiel antibactérien vis-à-vis la souche *Klebsiella pneumoniae* 3520. En parallèle aucune activité n'a été déterminée vis-à-vis des souches pathogènes *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* et aussi les deux souches multirésistantes *KP* 1216 et *KP* 3511.

Donc on peut dire que la souche GM38 a un pouvoir antibactérien plus actif que MN41.

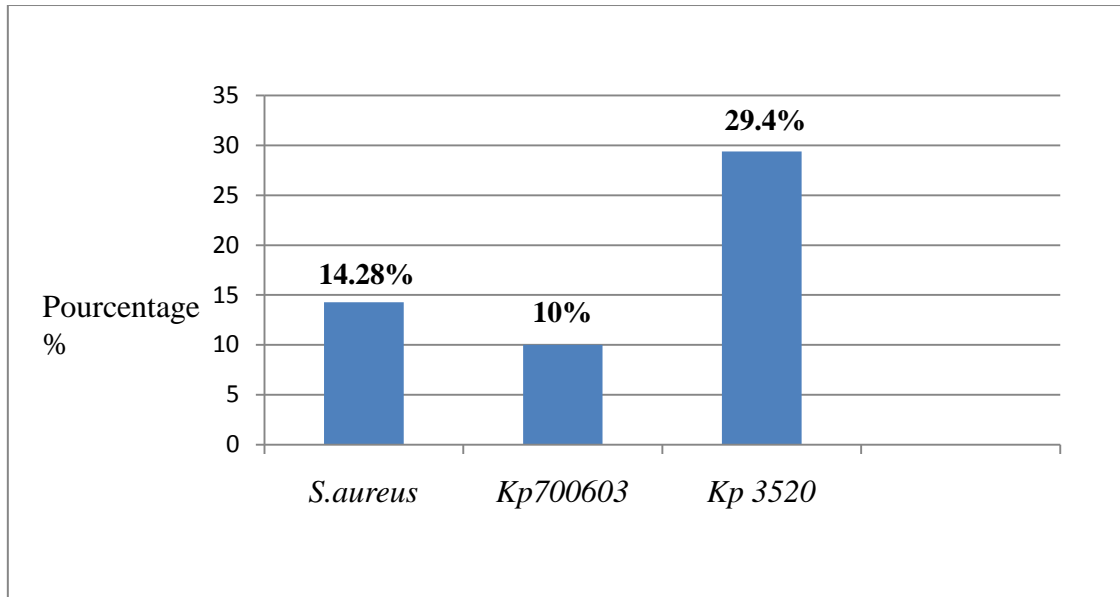
Les diamètres de zone d'inhibition sont indiqués dans le tableau suivant :

**Tableau 15:** Diamètres des zones d'inhibition des actinomycètes vis à vis des bactéries tests :

	Souches tests	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	
		MN41	GM38
<b>Bactéries Gram positives</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	4mm
	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-
<b>Bactéries Gram négatives</b>	<i>Escherichia coli</i>	-	-
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	3mm
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Non testé
<b>Bactéries multirésistantes</b>	<i>Kp</i> 1216	-	Non testé
	<i>Kp</i> 3511	-	Non testé
	<i>Kp</i> 3520	10mm	Non testé

Les pourcentages d'inhibition sont portés sous forme d'une représentation graphique suivante :

- *S.aureus* à 14.28 %
- *K. pneumoniae*(700603) à 10 %
- *K pneumoniae* 3520 à 29.4 %



**Schéma 03** : Représentation graphique du pourcentage d'inhibition des souches tests contre lesquelles y'a une activité antibactérienne.

✚ On a consacré cette dernière partie à une étude comparative de quelques travaux pratiques qui ont explorés les pouvoirs antibactériens des actinobactéries.

• Dans le but de la recherche des composés bioactifs produits par les actinobactéries **Janardhan et al,(2014)**, ont soumis à un isolement d'un actinomycète à partir du sol mangrove prélevé dans la région de Nellore, dans l'Andhra Pradesh, en Inde. Les résultats du dépistage de deux souches morphologiquement différentes GN1 et GN2 ont montré une bonne activité antimicrobienne contre différentes bactéries pathogènes comme *E. coli* (ATCC 9837), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 9856), et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027).

La mesure des zones d'inhibitions ont montré que la souche GN2 a présente les zones d'inhibition les plus importantes comme suit :

- *Escherichia. coli* 15mm
- *Staphylococcus aureus* 12mm
- *Bacillus subtilis* 10mm
- *Pseudomonas aeruginosa* 10mm

• Selon les travaux de **Dholakiya et al,( 2017)**. 11 souches d'actinobactéries isolées du Golfe de Khambhat, Alang, Bhavnagar, Gujarat. Après isolement, purification et criblage des isolats d'actinomycètes, pour l'activité antibactérienne par la méthode des stries croisées en utilisant Mueller Hinton.

Cette activité a été réalisé contre huit bactéries pathogènes différentes dont les résultats ont montré une activité antibactérienne contre ces bactéries test ; à Gram-négatif :

- *Escherichia coli* NCIM 2065            15 mm
- *Klebsiella pneumoniae*            24 mm
- *Pseudomonas sp.* NCIM 220        17 mm

Aussi contre deux bactéries à Gram positif :

- *Bacillus subtilis* NCIM 2920        22 mm
- *Staphylococcus aureus* MTCC 96    16 mm

• **Aouar (2012)** a isolé six souches à partir de la rhizosphère, elle a testé leur pouvoir antagoniste in vitro contre certaines bactéries.

Les travaux de **Aouar (2012)**, montrent que il' ya une activité antibactérienne contre ces bactéries avec des zones d'inhibition comme suit :

- *Escherichia coli*                        27 mm
- *Staphylococcus aureus*                22 mm
- *Bacillus subtilis*                        40 mm

• Cependant, les souches testées par **Benamira et Abriche (2018)** n'ont pas exhibé une activité contre *E. coli*. Ils ont rapporté qu'une souche codée par J exerce une activité antimicrobienne contre :

- *Bacillus subtilis*                        14 mm
- *Staphylococcus aureus*                15 mm

Nos résultats sont similaires aux études précédentes , qui ont montré que les actinomycètes isolés avaient une activité contre les bactéries Gram-positives et Gram-négative ; ils sont également rapporté un pouvoir antibactérien plus élevées contre *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*. Contrairement a nos résultats ,aucun effet identifié contre : *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* .

✚ Cette activité antibactérien pourrait s'expliquer par la présence des molécules bioactifs inhibants la croissance des souches , par la lyse de leurs parois .

On a constaté que 83.34 % des souches avaient perdu leur potentiel d'inhibition. Selon ( **Robinson et al .,2001**) il y a une explications à cela ;la culture sur des milieux solides peut conduire à la production de différents métabolites actifs.

En effet, d'après **Robinson et ces collaborateurs** les actinobactéries produisent des antibiotiques puissants contre les bactéries à Gram positif (**Robinson *et al.*, 2001**); les bactéries Gram négatif étant souvent moins sensibles aux antibiotiques produits par les actinomycètes que les Gram positif à cause de la présence d'une membrane externe qui rend leur paroi beaucoup moins perméable.

---

## Conclusion

De nouvelles molécules antibactériennes sont nécessaires pour lutter contre les bactéries. Les actinomycètes constituent une source importante de ces molécules bioactives. La présente étude porte sur l'étude morphologique des actinomycètes et l'activité antibactérienne de ces dernières. Le milieu chitine agar vitamineB additionné d'antibiotiques a permis une bonne récupération des actinomycètes provenant du sol. Ce dernier a été suivi par la recherche de souches présentant une activité antibactérienne vis-à-vis de souches tests par la méthode de stries croisées.

Les résultats de notre étude ont montré la production de métabolites antibactériens par deux souches d'actinomycètes (MN41 et GM38) ; ces métabolites inhibent la croissance des bactéries pathogènes testés (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) ainsi qu'une souche multirésistante aux ATB BLSE (*Klebsiella pneumoniae* 3520), Avec des zones d'inhibition allant de 3 à 10 mm de diamètre. Cette inhibition pourrait être attribuée à la différence de sensibilité entre l'épaisseur des parois des bactéries gram+ et gram- influençant ainsi l'effet antibactérien des métabolites produits.

Cette étude ouvre la voie pour plusieurs recherches sur plusieurs domaines tels qu'en biotechnologie et pharmaceutique et pour la production de métabolites intéressantes.



- **Aamir, M., Rai, K. K., Zehra, M. K., Samal, S., Yadav, M., and Upadhyay, R. S. (2020).** “Endophytic actinomycetes in bioactive compounds production and plant defense system,” in *Microbial Endophytes*, eds A. Kumar, and V. K. Singh, (Sawston: Woodhead Publishing), 189–229.
- **Abbas, E., Osman, A., and Sitohy, M. (2020).** Biochemical control of *Alternaria tenuissima* infecting post-harvest fig fruit by chickpea vicilin. *Journal. Science. Food Agriculture*. 100, 2889–2897. doi: 10.1002/jsfa.10314
- **Adriana C. Flores-Gallegos , Erika Nava-Reyna ,2019**dans [Enzymes in Food Biotechnology](#) , 2019
- **Agut, Henri & Burrel, Sonia & Bonnafous, Pascale & Boutolleau, David. (2016).** Où en est la recherche sur les antiviraux ?. *La Revue du praticien*. 66. 1007-1014.
- **AHER, J. (2022).** Natural Products From ACTINOMYCETES: Diversity, Ecology and Drug. SPRINGER.
- **Ahsan, T., & Ishaq, H. (2022).** Research Progress and Status of Plant Antiviral Compounds: A Review. *Journal Clin Res Bioeth*, 13, 403.
- **Alqahtani, S. S., Moni, S. S., Sultan, M. H., Bakkari, M. A., Madkhali, O. A., Alshahrani, S., ... & Sayed-Ahmed, M. Z. (2022).** Potential bioactive secondary metabolites of Actinomycetes sp. isolated from rocky soils of the heritage village Rijal Alma, Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(5), 103793.
- **Alsharif, S. M., Salem, S. S., Abdel-Rahman, M. A., Fouda, A., Eid, A. M., Hassan, S. E. D., ... & Mohamed, A. A. (2020).** Multifunctional properties of spherical silver nanoparticles fabricated by different microbial taxa. *Heliyon*, 6(5), e03943.
- **Andam, C. P., Fournier, G. P., & Gogarten, J. P. (2011).** Multilevel populations and the evolution of antibiotic resistance through horizontal gene transfer. *FEMS microbiology reviews*, 35(5), 756-767.
- **Andayani, D. G. S., Sukandar, U., Sukandar, E. Y., & Adnyana, I. K. (2015).** Antibacterial, antifungal and anticancer activity of five strains of soil microorganisms isolated from tangkubanperahu mountain by fermentation. *Hayati Journal of Biosciences*, 22(4), 186-190.
- **Aouar, L, (2012).** Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse doctorat. Université Mentouri-Constantine. P:9-11.
- **Aouar, L., Lerat, S., Ouffroukh, A., Boulahrouf, A., & Beaulieu, C. (2012).** Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 34(2), 165-176.
- **Aouiche, A., Sabaou, N., Meklat, A., Zitouni, A., Mathieu, F., & Lebrihi, A. (2012).** Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp. PAL111 d’origine saharienne

contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. *Journal de mycologie médicale*, 22(1), 42-51.

- **Azadi, D., Motallebirad, T., Ghaffari, K., Shokri, D., & Rezaei, F. (2020).** Species diversity, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of opportunistic Actinomycetes isolated from Immuno compromised and healthy patients of Markazi Province of Iran. *Infection and Drug Resistance*, 13, 1.

## B

- **Badji, B., Riba, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2005).** Activité antifongique d'une souche d'Actinomadura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxigènes. *Journal de Mycologie Médicale*, 15(4), 211-219.
- **Baghirova, A. A., & Kasumov, K. M. (2022).** Antifungal Macrocyclic Antibiotic Amphotericin B—Its Present and Future. Multidisciplinary Perspective for the Use in the Medical Practice. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 16(1), 1-12.
- **Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., ... & van Wezel, G. P. (2016).** Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43.
- **Baunach, M., Ding, L., Bruhn, T., Bringmann, G. & Hertweck, C. Regiodivergent. (2013).** N–C and N–N aryl coupling reactions of indoloterpenes and cycloether formation mediated by a single bacterial flavoenzyme. *Angew. Chemistry. International. Edition*. 52, 9040–9043
- **Belov G. A., Lidsky P. V., Mikitas O. V., Egger D., Lukyanov K. A., Bienz K., et al. (2004).** Bidirectional Increase in Permeability of Nuclear Envelope upon Poliovirus Infection and Accompanying Alterations of Nuclear Pores. *Journal. Virology*. 78 (18), 10166–10177. 10.1128/JVI.78.18.10166-10177.
- **Benamira M. and Abriche A. (2018).** Etude de l'activité antibactérienne d'une collection d'actinomycètes Thermophiles et étude prospective de l'antibiose de certains aliments commercialisés en Algérie. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine
- **Berezin, V., Abdukhakimova, D., Trenzhenikova, L., Bogoyavlenskiy, A., Turmagambetova, A., Issanov, A., & Azizan, A. (2019).** Antiviral activities of extremophilic actinomycetes extracts from Kazakhstan's unique ecosystems against influenza viruses and paramyxoviruses. *Virology journal*, 16(1), 1-16
- **Bharti, A., Kumar, V., Gusain, O., & Bisht, G. S. (2010).** Antifungal activity of actinomycetes isolated from Garhwal region. *Journal of Science. engineering. & Technologie. Mgt. Vol*, 2(2).
- **Biswas, K., Bhattarcharya, D., Saha, M., Mukherjee, J., & Karmakar, S. (2021).** Evaluation of antimicrobial activity of the extract of *Streptomyces euryhalinus* isolated from the Indian Sundarbans. *Archives of microbiology*, 204(1), 34. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02698-5>

- **Bouaziz S. (2018).** Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 4-13.
- **Boudjella, H., Bouti, K., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., &Sabaou, N. (2007).** Isolation and partial characterization of pigment-like antibiotics produced by a new strain of Streptosporangium isolated from an Algerian soil. *Journal of applied microbiology*, 103(1), 228-236.
- **Boudjella, H., Bouti, K., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., &Sabaou, N. (2007).** Isolation and partial characterization of pigment-like antibiotics produced by a new strain of Streptosporangium isolated from an Algerian soil. *Journal of applied microbiology*, 103(1), 228-236.
- **Boughachiche, F., Reghiousa, S., Oulmi, L., Zerizer, H., Kitouni, M., Boudemagh, A., &Boulahrouf, A. (2005).** Isolement d'actinomycétales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha de AinMlila. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 5-10.
- **Boukahili, A. B., Chachoua, H., &Hamames, M. (2020).** Caractéristiques des actinomycètes et de certains de leurs métabolites bioactifs (antibiotiques et enzymes).
- **Buchanan, R. E. (1917).** Studies in the nomenclature and classification of the bacteria II. The primary subdivisions of the schizomycetes. *Journal of Bacteriology*, 2(2), 155-164.
- **Burg, R. W., Miller, B. M., Baker, E. E., Birnbaum, J., Currie, S. A., Hartman, R., ... & Ōmura, S. (1979).** Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 15(3), 361-367.



- **Chaudhary, H. S., Yadav, J., Shrivastava, A. R., Singh, S., Singh, A. K., &Gopalan, N. (2013).** Antibacterial activity of actinomycetes isolated from different soil samples of Sheopur (A city of central India). *Journal of advancedpharmaceuticaltechnology&research*, 4(2), 118-123. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.111528>
- **Cohn, F. 1872.** Untersuchungen über Bakterien. *Beitr. Biol.Pfl.* Heft 2 1:127-224.
- **Cook, A. E., & Meyers, P. R. (2003).** Rapid identification of filamentous actinomycetes to the genus level using genus-specific 16S rRNA gene restriction fragment patterns. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53(6), 1907-1915.
- **Coulibaly, A. (2022).** Étude descriptive des prescriptions médicamenteuses du service de Dermatologie de l'hôpital de dermatologie de Bamako de Septembre 2019 au février 2020 (Doctoral dissertation, USTTB).

- **Cundell, D. R., & Piechoski, M. P. (2016).** Potentially novel Actinobacteria derived antibiotics from unique microenvironments. *Antimicrobials Synthetic and Natural Com-pounds*. 83-98.

## D

- **de Lima Procópio, R. E., da Silva, I. R., Martins, M. K., de Azevedo, J. L., & de Araújo, J. M. (2012).** Antibiotics produced by *Streptomyces*. *The Brazilian Journal of infectious diseases*, 16(5), 466-471. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.014>
- **Dholakiya R. N., Kumar R., Mishra A., Mody K. H., & Jha B. (2017).** Antibacterial and antioxidant activities of novel actinobacteria strain isolated from Gulf of Khambhat, Gujarat. *Front. Microbiol.* 8. 2420.
- **Ding, D., Chen, G., Wang, B., Wang, Q., Liu, D., Peng, M., & Shi, P. (2013).** Culturable actinomycetes from desert ecosystem in northeast of Qinghai-Tibet Plateau. *Annals of Microbiology*, 63(1), 259-266.
- **Djaballah C., (2010)-**Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha de Ain M'Lila. Mémoire de l'obtention du Diplôme de Magister en Microbiologie. Université Mentouri Costantine : 102p.
- **Djebaili, R., Pellegrini, M., Smati, M., Del Gallo, M., & Kitouni, M. (2020).** Actinomycete strains isolated from saline soils: Plant-growth-promoting traits and inoculation effects on *Solanum lycopersicum*. *Sustainability*, 12(11), 4617.
- **Dolak L. A., DeBoer C. (1980).** Clazamycin B Is Antibiotic 354. *J. Antibiotics*. 33 (1), 83–84. 10.7164/antibiotics.33.83
- **Dommergues, Y., & Mangenot, F. (1970).** *Ecologie microbienne du sol* (No. 631.461 DOM). Paris: Masson.
- **Dunachie, S. J., Day, N. P., & Dolecek, C. (2020).** The challenges of estimating the human global burden of disease of antimicrobial resistant bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, 57, 95-101.
- **Dutra, F. V. A., Teixeira, L. S., Pires, B. C., Florez, D. H. Â., Teixeira, R. A., & Borges, K. B. (2022).** Development and validation of analytical methods by HPLC for quality control of avermectins and milbemycins in bulk samples. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58.
- **Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H., & Stackebrandt, E. (2006).** *The Prokaryotes, A handbook on the Biology of Bacteria, Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass*. Springer, New York.

### E

- **E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H. P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2015).** Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews* : MMBR, 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>
- **Elias, F., Muddada, S., Muleta, D., & Tefera, B. (2022).** Antimicrobial Potential of *Streptomyces* spp. Isolated from the Rift Valley Regions of Ethiopia. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2022
- **Erikson, D ; (1949);** Themorphology, cytology and taxonomy of the actinomycetes.
- **Errakhi, R., Dauphin, A., Meimoun, P., Lehner, A., Reboutier, D., Vatsa, P., ... & Bouteau, F. (2008).** An early Ca<sup>2+</sup> influx is a prerequisite to thaxtomin A-induced cell death in *Arabidopsis thaliana* cells. *Journal of Experimental Botany*, 59(15), 4259-4270.
- **Esther Ortenberg , Benjamin Telsch , 2003** dans [Manuel de microbiologie de l'eau et des eaux usées](#) , 2003
- **Fatahi-Bafghi, M., Rasouli-nasab, M., Yasliani-Fard, S., Habibnia, S., Gharehbaghi, F., Eshraghi, S. S., ... & Heidarieh, P. (2019).** Diversity and antimicrobial activity of actinomycetes isolated from Lut Desert: the extremely arid climatic zones of Iran. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 25(3), 1201-1207.
- **Fatimah, F., Suroiyah, F., Solikha, N., Rahayuningtyas, N. D., Surtiningsih, T., Nurhariyati, T., ... & Thontowi, A. (2022).** Antimicrobial activity of actinomycetes isolated from mangrove soil in Tuban, East Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(6).
- **Feeney, M. A., Newitt, J. T., Addington, E., Algora-Gallardo, L., Allan, C., Balis, L., ... & Hutchings, M. I. (2022).** ActinoBase: tools and protocols for researchers working on *Streptomyces* and other filamentous actinobacteria. *Microbial genomics*, 8(7), 000824.

### F

- **Fenical, W., & Jensen, P. R. (2006).** Developing a new resource for drug discovery: marine actinomycete bacteria. *Nature chemical biology*, 2(12), 666-673.

### G

- **Garrity, G. M., Bell, J. A., & Lilburn, T. G. (2004).** Taxonomic outline of the prokaryotes. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. New York.

- **Ghazouani, S., Béjaoui, Z., Spiers, G., Beckett, P., Gtari, M., & Nkongolo, K. (2020).** Effects of rhizobio augmentation with N-Fixing Actinobacteria Frankia on metal mobility in Casuarina glauca-soil system irrigated with industrial wastewater: High level of metal exclusion of C. glauca. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231(8), 1-17.
- **Gnirss K., Kühl A., Karsten C., Glowacka I., Bertram S., Kaup F., et al. (2012).** Cathepsins B and L Activate Ebola but Not Marburg Virus Glycoproteins for Efficient Entry into Cell Lines and Macrophages Independent of TMPRSS2 Expression. *Virology* 424, 3–10. 10.1016/j.virol.2011.11.031
- **Gonzalez-Franco, A. C., & Robles-Hernández, L. (2022).** Antagonist activities and phylogenetic relationships of actinomycetes isolated from an Artemisia habitat. *Revista Argentina de Microbiología*.
- **Goodfellow M (2012)** Phylum XXVI. *Actinobacteriaphyl. novel.*In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition, Volume 5, The Actinobacteria, Part A.* (Goodfellow M, et al., eds). pp. 33–34. Springer, New York, NY.
- **Goodfellow, M., & Jones, A. L. (2015).** Corynebacteriales ord. novel. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-14.
- **Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983).** Ecology of actinomycetes. *Annual review of microbiology*, 37(1), 189-216.

## H

- **Habash, S. S., Brass, H. U., Klein, A. S., Klebl, D. P., Weber, T. M., Classen, T., ... & Schleker, A. S. S. (2020).** Novel prodiginine derivatives demonstrate bioactivities on plants, nematodes, and fungi. *Frontiers in plant science*, 11, 579807. <https://doi.org/10.1016/bs.armc.2020.03.001>.
- **Hana, B., & Roufaida, M. (2021).** Etude des approches génomiques dans l'estimation du pouvoir métabolique des actinomycètes (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
- **Harir M. (2010).** Effets antagonistes entre les souches d'actinomycètes et *Verticillium dahliae* kleb agent de la verticilliose de l'olivier. Mémoire de Magister En biotechnologie. Université d'Oran
- **Harz, C. O. 1877.** *Actinomyces bovis*, ein neuer Schimmel in den Geweben des Rindes. *Jahresber. K. Cent. Thierärztl. Schule München* (1877–1878) 125–140
- **Hori, M., Itō, E., Takita, T., Koyama, G., Takeuchi, T., & Umezawa, H. (1964).** A new antibiotic, formycin. *The Journal of Antibiotics, Series A*, 17(3), 96-99.,
- **Hoshino, Y., Mukai, A., Yazawa, K., Uno, J., Ishikawa, J., Ando, A., ... & Mikami, Y. (2004).** Transvalencin A, a thiazolidine zinc complex antibiotic produced by a clinical isolate of *Nocardia transvalensis* I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *The Journal of antibiotics*, 57(12), 797-802. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>

## Références bibliographiques

- **Hu, D. X., Withall, D. M., Challis, G. L., & Thomson, R. J. (2016).** Structure, chemical synthesis, and biosynthesis of prodiginine natural products. *Chemical reviews*, 116(14), 7818-7853.
- **Huang H., Song Y., Li X., Wang X., Ling C., Qin X., et al. (2018).** Abyssomicin Monomers and Dimers from the marine-derived *Streptomyces Koyangensis* SCSIO 5802. *J. Nat. Prod.* 81 (8), 1892–1898. 10.1021/acs.jnatprod.8b00448
- **Hungund, B.S., Desai, S.S., Kamath, K.C., Tennalli, G.B. (2021).** Terrestrial Ecology of *Actinobacteria*. In: Yaradoddi, J.S., Kontro, M.H., Ganachari, S.V. (eds) *Actinobacteria. Rhizosphere Biology.* Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_3)

### I

- **Ishizawa, S., & Araragi, M. (1976).** Composition of actinomycete population in soil. *Actinomycetes: the boundary microorganism*, Toppan Company Ltd, 97.
- **Ismail, F. M., Nahar, L., Zhang, K. Y., & Sarker, S. D. (2020).** Antiparasitic natural products. In *Annual Reports in Medicinal Chemistry* (Vol. 55, pp. 115-151). Academic Press.

### J

- **Jakubiec-krzesniak, K., Rajnisz Mateusiak, A., Guspel, A., Ziemska, J. & Solecka, J. (2018).** Secondary Metabolites of Actinomycetes and their Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties. *Polish Journal of Microbiology*, 67(3) 259-272. <https://doi.org/10.21307/pjm-2018-048>
- **Janardhan A., Kumar A. P., Viswanath B., Saigopal D. V. R., Narasimha G. (2014).** Production of bioactive compounds by actinomycetes and their antioxidant properties. *Biotechnol. Res. Int.* 2014
- **Jelić, D., & Antolović, R. (2016).** From erythromycin to azithromycin and new potential ribosome-binding antimicrobials. *Antibiotics*, 5(3), 29. <https://doi.org/10.3390/antibiotics5030029>
- **Johnson-Arbor, K. (2022).** Ivermectin: a mini-review. *Clinical toxicology*, 60(5), 571-575.

### K

- **Kazi, Z., Hungund, B. S., Yaradoddi, J. S., Banapurmath, N. R., Yusuf, A. A., Kishore, K. L., ... & Buyondo, K. A. (2022).** Production, Characterization, and Antimicrobial Activity of Pigment from *Streptomyces* Species. *Journal of Nanomaterials*, 2022.
- **Keikha, N., Ayatollahi Mousavi, S. A., Shahidi Bonjar, G. H., Fouladi, B., & Izadi, A. R. (2015).** *In vitro* antifungal activities of *Actinomyces* species isolated

- from soil samples against *Trichophyton mentagrophytes*. *Current medical mycology*, 1(3), 33–38.
- **Kitouni M. (2007)**. Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat en Microbiologie appliquée. Université Mentouri- Constantine. Algérie, P.170.
  - **Kitouni M., Boudemagh A., Oulmi L., Reghioua S., Boughachiche F., Zerizer H., Hamdiken H, Couble A, Mouniee D, Boulahrouf A, Boiron P (2005)**. Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north east of Algeria. *Journal of Medical Mycology*, 15(1), 45-51.
  - **Kresge, N., Simoni, R. D., and Hill, R. L. (2004)**. Selman Waksman: the father of antibiotics. *J. Biol. Chem.* 279, 101–103. Available online at: <https://www.jbc.org/content/279/48/e7.short>
  - **Kroppenstedt R.M., Stackebrandt E., Goodfellow M. (1990)**. Taxonomic revision of the actinomycete genera *Actinomadura* and *Microtetraspora*. *Systematic and Applied Microbiology*, 13(2), 148–160
  - **Kumar V., Gusain O., Thakur R.L. and Bisht G.S. 2013**. Isolation, purification and partial characterization of an antibacterial agent produced by halotolerant alkaliphilic *Streptomyces* sp. EWC 7(2). *Proc. Nati. Acad. Sci. India Sect. B. Biol. Sci.* 83(2): 199–206
  - **Kumar, A., & Jha, A. (2017)**. Antifungals used against candidiasis. *Anticandidal agents*. Academic Press/Elsevier, New York, 11-39.
  - **Kurtböke, D. İ. (2022)**. Correct interpretation of actinomycete imagery using scanning electron microscopy. *Microbiology Australia*, 43(1), 28-31.

## L

- **La Clair, J. J. (2021)**. Accessing Nystatin through Mariculture. *Molecules*, 26(24), 7649
- **Lachal, A., & Bouchkima, K. (2020)**. Bactériologie médicale, Parasitologie et Mycologie. *Institut Nationale des Professions Infirmières et Techniques de Santé*, 32.
- **Lamari L. (2006)**. Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou
- **Larpen-Gourgand M. et Larpen J-P. (1997)**. Mémento technique de microbiologie. Paris, Tec & Doc-Lavoisier. 3ème édition.

## Références bibliographiques

---

- **Lazzarini, A., Cavaletti, L., Toppo, G., Marinelli, F. (2000).** Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. *Antonie van Leeuwenhoek*, **78(3-4)**, 399-405.
- **Lechevalier H.A., and Lechevalier M.P. (1981).** Introduction to the order Actinomycetales. In: *The procaryotes*, Eds : Starr M. P., H. Stolp, H. G. Truper, A. Ballows and H. G. Schlegel. Springer- Verlag. Berlin, 2, 1915-1922.
- **Lechevalier H.A., Lechevalier M.P. (1970).** A critical evaluation of genera of aerobic actinomycetes. In: *The Actinomycetales*. Prauser H. (Eds). G. Fisher Verlag, Jena, p. 393–405
- **Lechevalier M.P., De Bievre C., Lechevalier H.A. (1977).** Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochemical systematics and ecology.*, **5**, 249-260.
- **Lecterc H., Izard D. And Wattre P. (1983).** *Microbiologie générale*. Paris. 39
- **Lee, J. Y., & Hwang, B. K. (2002).** Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology*, **48(5)**, 407-417.
- **Lewis, W. J., Shaw, D. M., & Robertson, J. (2021).** Synthesis of legonmycins A and B, C (7a)-hydroxylated bacterial pyrrolizidines. *Beilstein journal of organic chemistry*, **17(1)**, 334-342.
- **Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016).** Morphological identification of actinobacteria. *Actinobacteria-basics and biotechnological applications*, 59-86.
- **Long, Y., Zhang, Y., Huang, F., Liu, S., Gao, T., & Zhang, Y. (2022).** Diversity and antimicrobial activities of culturable actinomycetes from *Odontotermes formosanus* (Blattaria: Termitidae). *BMC microbiology*, **22(1)**, 1-11.
- **Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Kämpfer, P., & Whitman, W. B. (2012).** Road map of the phylum Actinobacteria. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology* (pp. 1-28). Springer, New York, NY.
- **Lykov I. N., Galemna I. E., Zaitseva N. S., Kapinus Ya. A. 2021.** Mediko-ekologicheskie aspekty lekarstvennoj ustojchivosti bak-terij, vydelennyh ot domashnih zhivotnyh i ih vladel'cev [Medical and environmental aspects of drug resistance of bacteria isolated from pets and their owners]. *Problemy regional'noj ekologii*. No. 5. 37-41. doi.org/10.24412/1728-323X-2021-5-37-41
- **Lykov I. N., Guldorava N. T., Kovaleva E. V. 2020.** Mediko-ekologicheskie aspekty prisutstviya v vozduhe antibiotiko-rezistentnyh mikroorganizmov [Medical and environmental aspects of the presence of antibiotic-resistant microorganisms in the air] *Ekologiya urbanizirovannyh territorij*. No. 4. 20—25. doi: 10.24412/1816-1863-2020-4-20-25

### M

- **Makarasen, A., Reukngam, N., Khlaychan, P., Chuysinuan, P., Isobe, M., & Techasakul, S. (2018).** Mode of action and synergistic effect of valinomycin and cereulide with amphotericin B against *Candida albicans* and *Cryptococcus albidus*. *Journal de Mycologie Médicale*, 28(1), 112-121.
- **Manimaran M., Rajkumar T., Vimal S., Taju G., Abdul Majeed S., Sahul Hameed A. S., et al. (2018).** Antiviral Activity of 9(10H)-Acridanone Extracted from marine *Streptomyces Fradiae* Strain VITMK2 in *Litopenaeus Vannamei* Infected with white Spot Syndrome Virus. *Aquaculture* 488, 66–73. 10.1016/journal.aquaculture.2018.01.032
- **Mast, Y., & Stegmann, E. (2019).** Actinomycetes: The antibiotics producers. *Antibiotics*, 8(3), 105.
- **Mast, Y., Stegmann, E., & Lu, Y. (2020).** Regulation of antibiotic production in Actinomycetes. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1566.
- **McGuire JM., Bunch RL., Anderson RC., Boaz HE., Flynn EH., Powell HM., Smith JW (1952).** Ilotycin, a new antibiotic. *Antibiot Chemother (Northfield)* 2(6):281–283.
- **Meng, Z., Yu, H., Li, L. et al. (2015).** Total synthesis and antiviral activity of indolosesquiterpenoids from the xiamycin and oridamycin families. *Nat Commun* 6, 6096. <https://doi.org/10.1038/ncomms7096>.
- **Messaoudi, O., Bendahou, M., Benamar, I., & Abdelwouhid, D. E. (2015).** Identification and preliminary characterization of non-polyene antibiotics secreted by new strain of actinomycete isolated from sebkha of Kenadsa, Algeria. *Asian pacific journal of Tropical biomedicine*, 5(6), 438-445.
- **Messaoudi, O (2013) ;** Contribution à la caractérisation de souche d'actinomycètes de métabolites antibactériennes isolées de la Sebkha Kenadesa (Bechar). Mémoire de Magistère en Microbiologie appliquée, Université ABOU BAKR BELKAID de Tlemcen.
- **Meurant, G. (2012).** *Actinomycetes in Biotechnology*. Elsevier.
- **MIGUELEZ E. M., HARDISSON C., MAUZANAL M. B. (2000)** Streptomyces a new model to study cell death. *Microbiology.*, 3 : 153-158.
- **Minnikin D.E., O'Donnell A.G. (1984).** Actinomycete envelope lipid and peptidoglycan composition. In: *The Biology of the Actinomycetes*. Goodfellow M., Mordarski M. and Williams S. T. (Eds). Academic Press. London, p. 337–388.
- **Molla A., Hellen C. U., Wimmer E. (1993).** Inhibition of Proteolytic Activity of Poliovirus and Rhinovirus 2A Proteinases by Elastase-specific Inhibitors. *Journal. Virology*. 67 (8), 4688–4695. 10.1128/jvi.67.8.4688-4695.1993

- **Mordarska H., Mordarska M., Goodfellow M. (1972).** Chemotaxonomic characters and classification of some nocardio form bacteria. *Journal of General Microbiology* , 71(1), 77–86.
- **Muhammad, S., Qaisar, M., Iqbal, J. et al. (2022).** Exploring the inhibitory potential of novel bioactive compounds from mangrove actinomycetes against nsp10 the major activator of SARS-CoV-2 replication. *Chem. Pap.* **76**, 3051–3064. <https://doi.org/10.1007/s11696-021-01997-x>

### N

- **Naili, I., Ababsa, D., & Bensalama, O. (2021).** Les Biofongicides comme moyen de biocontrôle contre les champignons phytopathogènes.
- **Nedji, N., & Loucif-Ayad, W. (2014).** Antimicrobial activity of Algerian propolis in food borne pathogens and its quantitative chemical composition. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(6), 433-437.
- **Nielsen RV, Hyldig-Nielsen F, Jacobsen K .(1982).** Biological properties of ristocetin-Ψ-aglycone. *J Antibiot (Tokyo)* 35(11):1561–1564. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.35.1561>
- **Nithya, K., Muthukumar, C., Duraipandiyan, V., Dhanasekaran, D., &Thajuddin, N. (2015).** Diversity and antimicrobial potential of culturable actinobacteria from desert soils of Saudi Arabia. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(3), 117.
- **Nouioui I et al. (2018)** Genome-based taxonomic classification of the phylum Actinobacteria. *Front Microbiol*9, 2007. doi:10.3389/ fmicb.2018.02007
- **Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J. P., Woyke, T., Kyrpides, N. C., ...&Göker, M. (2018).** Genome-based taxonomic classification of the phylum Actinobacteria. *Frontiers in microbiology*, 2007.

### O

- **Oren A, Garrity GM (2021)**Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *Int J SystEvolMicrobiol*71, 005056. doi:10.1099/ijsem.0.005056 10.
- **Özdal Zincir, Ö., Özdal, U., Ünlü, Ö., Demirci, M., Katiboğlu, A. B., Egil, E., & Altan Şallı, G. (2022).** Synergistic effect of thymoquinone and nystatin in the treatment of oral candidiasis; an in vitro study. *Odontology*, 110(2), 330-337.

### P

- **Palazzotto, E., Tong, Y., Lee, S. Y., & Weber, T. (2019).** Synthetic biology and metabolic engineering of actinomycetes for natural product discovery. *Biotechnology advances*, 37(6), 107366.

- **Pamboukian, C. R., Guimarães, L. M., & Facciotti, M. C. R. (2002).** Applications of image analysis in the characterization of *Streptomyces olindensis* in submerged culture. *Brazilian Journal of Microbiology*, 33, 17-21.
- **Papireddy, K., Smilkstein, M., Kelly, J. X., Salem, S. M., Alhamadsheh, M., Haynes, S. W., ... & Reynolds, K. A. (2011).** Anti malarial activity of natural and synthetic prodiginines. *Journal of medicinal chemistry*, 54(15), 5296-5306.
- **Park YH et al. (1993)**Suprageneric classification of Thermo- actinomyces vulgaris by nucleotide sequencing of 5S ribosomal. *RNA Zentralblatt für Bakteriologie* 278, 469–478. doi:10.1016/ S0934-8840(11)80818-2
- **Park YH et al. (1993)**Suprageneric classification of Thermo-actinomycesvulgaris by nucleotidesequencing of 5S ribosomal. *RNA ZentralblattfürBakteriologie*278, 469–478. doi:10.1016/ S0934-8840(11)80818-2.
- **Pimentel-Elardo, S. M., Kozytska, S., Bugni, T. S., Ireland, C. M., Moll, H., & Hentschel, U. (2010).** Anti-parasitic compounds from *Streptomyces sp.* strains isolated from Mediterranean sponges. *Marine drugs*, 8(2), 373-380.
- **Pochon, J. (1964).** Manuel technique d'analyse microbiologique. Masson et Cie. Paris (Ed.), pp.5-20
- **Prescott L.M., Willey J. M., Sherwood L. M. et Woolverton C. J. (2018).** Microbiologie.De Boeck supérieur. France. 1120p.
- **Pridham, T. G., Hesseltine, C. W., & Benedict, R. G. (1958).** A guide for the classification of streptomycetes according to selected groups. Placement of strains in morphological sections. *Applied microbiology*, 6(1), 52-79.

## R

- **Raihan, T., Rabbee, M. F., Roy, P., Choudhury, S., Baek, K. H., & Azad, A. K. (2021).** Microbial Metabolites: The Emerging Hotspot of Antiviral Compounds as Potential Candidates to Avert Viral Pandemic Alike COVID-19. *Frontiers in molecular biosciences*, 8, 732256. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.732256>
- **Rajivgandhi, G.N., Vimala, R.T.V., Ramachandran, G., Kanisha, C.C., Manoharan, N., Li, WJ. (2022).** An Overview on Natural Product from Endophytic Actinomycetes. In: Rai, R.V., Bai, J.A. (eds) *Natural Products from Actinomycetes*. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-6132-7\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-16-6132-7_6)
- **Rajkumar, T., Manimaran, M., Taju, G., Vimal, S., Majeed, S. A., Kannabiran, K., ... & Hameed, A. S. (2018).** Antiviral viral compound from *Streptomyces ghanaensis* like strain against white spot syndrome virus (WSSV) of shrimp. *BioRxiv*, 340265.
- **Ramesh, S., &Mathivanan, N. (2009).** Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(12), 2103-2111.
- **Rangaswami G., Bagyaraj D. J. and Bagyaraj D. G. (2004).** *Agricultural Microbiology*. New Delhi.

- **Raveh A, Delekta PC, Dobry CJ, Peng W, Schultz PJ, Blakely PK, Tai AW, Matainaho T, Irani DN, Sherman DH, Miller DJ.(2013).** Discovery of potent broad spectrum antivirals derived from marine actinobacteria. Ianora A, editor. PLoS One. 8:e82318.
- **Risandiansyah, R., & Yahya, A. (2022).** Antibiotic Activity of Actinomycetes Isolated from Young Tectona Grandis (L.) Wood and Pith. *Biointerface Res. Applied. Chemistry*, 12, 8174-8183.
- **Risandiansyah, R., &Yahya, A. (2022).** Antibiotic Activity of Actinomycetes Isolated from Young Tectona Grandis (L.) Wood and Pith. *Biointerface Res. Applied. Chemistry*, 12, 8174-8183.
- **Risdian, C., Mozef, T., & Wink, J. (2019).** Biosynthesis of polyketides in Streptomyces. *Microorganisms*, 7(5), 124.
- **Risdian, C., Safaei, N., Steinert, M., Wink, J. (2022).** Exploration of Insects and Mollusks for New Secondary Metabolites from Actinobacteria. In: Rai, R.V., Bai, J.A. (eds) *Natural Products from Actinomycetes*. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-6132-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-16-6132-7_2)
- **Robinson, T., Singh, D., & Nigam, P. (2001).** Solid-state fermentation: a promising microbial technology for secondary metabolite production. *Applied microbiology and biotechnology*, 55(3), 284-289.
- **Rodríguez Concepción M., and A., Boronat (2013).** Iso prenyl biosynthesis in prokaryotic organisms. In *Iso prenyl Synthesis in plant and Microorganisms*. eds. T.J. Bach, and M. Rohmer. pp. 1-16. New York; Heidelberg. Germany: Dordrecht, the Netherlands: London. UK, Springer.

## S

- **Sabaou, N., Boudjella, H., Bennadji, A., Mostefaoui, A., Zitouni, A., Lamari, L., ... & Germain, P. (1998).** Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes, rares producteurs d'antibiotiques. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 9(2), 147-153.
- **Saffroy S. (2006).** Etude du métabolisme carboné chez *Streptomyces pristinaespiralis*. Thèse de doctorat.
- **Saito, Y., Chaicharoenpong, C., Ohno, O., Ichikawa, E., Yamamura, S., Kato, K., ... & Umezawa, K. (1999, January).** Synthesis and anti-HIV activity of unusual nucleoside oxanosine derivatives. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 42, No. 1, pp. 19-20). Information Retrieval Ltd., c1979-c2000
- **Saker, Rafika. (2018).** Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols.
- **Salam N et al. (2020)** Update on the classification of higher ranks in the phylum Actinobacteria. *Int J SystEvolMicrobiol*70, 1331–1355.
- **Salam, N., Jiao, J. Y., Zhang, X. T., & Li, W. J. (2020).** Update on the classification of higher ranks in the phylum Actinobacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(2), 1331-1355.

- **Salman, M., Abbas, R. Z., Mehmood, K., Hussain, R., Shah, S., Faheem, M., ... & Martínez, J. L. (2022).** Assessment of Avermectins-Induced Toxicity in Animals. *Pharmaceuticals*, 15(3), 332.
- **Sanchez, S., del Carmen Mateos, R., Escalante, L., Rubio, J., López, H., Farres, A., & Flores, M. (1984).** *Regulation of erythromycin formation in Streptomyces erythreus* (pp. 343-355). New York: Academic Press.
- **Sanglier, J. J., Wellington, E. M. H., Behal, V., Fiedler, H. P., Ghorbel, R. E., Finance, C., Prinzis, S. (1993).** Novel bioactive compounds from actinomycetes. *Res. Microbiol.* 144(8). 661-663.
- **Sawa, T., Fukagawa, Y., Homma, I., Takeuchi, T., & Umezawa, H. (1967).** Mode of inhibition of coformycin on adenosine deaminase. *The Journal of antibiotics*, 20(4), 227-231.
- **Selim, M.S.M., Abdelhamid, S.A. & Mohamed, S.S. (2021).** Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *Journal Genetique Engigering Biotechnology* 19, 72. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00156-9>
- **Selim, M.S.M., Abdelhamid, S.A., Mohamed, S.S., 2021.** Secondary metabolites, and biodiversity of actinomycetes. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 19 (2021), 72. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00156-9>.
- **Sharma, M., Dangi, P., & Choudhary, M. (2014).** Actinomycetes: source, identification, and their applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), 801-832.
- **Shirling, E. T., & Gottlieb, D. (1966).** Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International journal of systematic bacteriology*, 16(3), 313-340.
- **Silva M.S., Sales A.N., Magalhães-Guedes K.T., Dias D.R. and Schwan R.F. 2013.** Brazilian cerrado soil actinobacteria ecology. Article in press: *Biomed. Res. Int.* Article ID 503805, 10 pages, disponible sur le site: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/503805>
- **Singh, D. P., Patil, H. J., Prabha, R., Yandigeri, M. S., and Prasad, S. R. (2018).** Actinomycetes as potential plant growth-promoting microbial communities. *Crop Impro. Microbiology. Biotech.* 2018, 27–38. doi: 10.1016/B978-0-444-63987-5.00002-5
- **Singh, S. P., and Gaur, R. (2016).** Evaluation of antagonistic and plant growth promoting activities of chitinolytic endophytic actinomycetes associated with medicinal plants against *Sclerotium rolfsii* in chickpea. *Journal. Applied. Microbiology.* 121, 506–518. doi: 10.1111/jam.13176
- **Sinkó, J. Amphotericin B-deoxycholate as first-line antifungal therapy in critically ill patients: a word of caution. *Intensive Care Med* 46, 562–563 (2020).** <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05880-y>
- **Siro, G., Pipite, A., Christi, K., Srinivasan, S., & Subramani, R. (2022).** Marine Actinomycetes Associated with Stony Corals: A Potential Hotspot for Specialized Metabolites. *Microorganisms*, 10(7), 1349.

- **Smaoui S. (2010).** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France,P.251.
- **Solecka, J., Zajko, J., Postek, M., & Rajnisz, A. (2012).** Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. *Open Life Sciences*, 7(3), 373-390.
- **Stackebrandt, E., Rainey, F. A., & Ward-Rainey, N. L. (1997).** Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis novel. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(2), 479-491.
- **Subathra Devi, C., Merlyn Keziah, S., Jemimah Naine, S., Mohanasrinivasan, V. (2022).** Actinomycetes: Microbiology to Systems Biology. In: Karthik, L. (eds) Actinobacteria. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-5835-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-16-5835-8_1)
- **Sullivan D.C. and Chapman S.W. 2010.** Bacteria that masquerade as fungi: actinomycosis and nocardiosis. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 7: 216–221.
- **Sveshnikova, M. A., Maksimova, T. S., & Kudrina, E. S. (1969).** The species of the Micromonospora Orskov, 1923 and their. *Mikrobiologiya*, 38, 883-893.

### T

- **Takeuchi, T. O. M. I. O., Iwanaga, J., Aoyagi, T., & Umezawa, H. (1966).** Antiviral effect of formycin and formycin B. *The Journal of antibiotics*, 19(6), 286-287
- **Takizawa, N., & Yamasaki, M. (2018).** Current landscape and future prospects of antiviral drugs derived from microbial products. *The Journal of Antibiotics*, 71(1), 45-52. <https://doi.org/10.1038/ja.2017.11>
- **Talukdar, M., Bora, T. C., & Jha, D. K. (2016).** Micromonospora: a potential source of antibiotic. In *Bioprospecting of Indigenous Bioresources of North-East India* (pp. 195-213). Springer, Singapore. 10.1007/978-981-10-0620-3\_12.
- **Theilleux. J. (1993).** - les actinomycètes in *Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel*, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V 612p, pp 425.

### U

- **Umegawa, Y., Yamamoto, T., Dixit, M., Funahashi, K., Seo, S., Nakagawa, Y., ... & Murata, M. (2022).** Amphotericin B assembles into seven-molecule ion channels: An NMR and molecular dynamics study. *Science advances*, 8(24), eabo2658.

### V

- **vanDissel, D., Claessen, D., & van Wezel, G. P. (2014).** Morphogenesis of Streptomyces in submerged cultures. *Advances in applied microbiology*, 89, 1-45.

### W

- **W. M. Muiru, E.W. Mutitu et D.M. Mukunya.(2008).** Identification d'isolats sélectionnés d'actinomycètes et caractérisation
- **Waksman SA, Henrici AT (1943)** The nomenclature and classification of the actinomycetes. *J Bacteriol* 46, 337–341. doi:10.1128/jb.46.4.337-341.1943
- **Waksman, S. A. (1959).** The Actinomyces. Vol. I. Nature, Occurrence and Activities. The Actinomyces. Vol. I. Nature, Occurrence and Activities., 1.
- **Waksman, S. A., and Henrici, A. T. 1943.** The nomenclature and classification of the actinomycetes. *J. Bacteriol.* 46:337–341.
- **Waksman, S. A., Reilly, H. C., & Johnstone, D. B. (1946).** Isolation of streptomycin-producing strains of *Streptomyces griseus*. *Journal of bacteriology*, 52(3), 393-397.
- **Wei Y, Zhao Y, Zhou D, Qi D, Li K, Tang W, Chen Y, Jing T, Zang X, Xie J and Wang W (2020)** A Newly Isolated *Streptomyces* sp. YYS-7 With a Broad-Spectrum Antifungal Activity Improves the Banana Plant Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4. *Front. Microbiology*. 11:1712. doi: 10.3389/fmicb.2020.01712
- **Weinstein MJ, Luedemann GM, Oden EM, Wagman GH, Rossetlet JP, Marquez JA, Coniglio CT, Charney W, Herzog HL, Black J (1963)** Gentamicin, a new antibiotic complex from *Micromonospora*. *Journal Med Chemistry* 6(4):463–464. <https://doi.org/10.1021/jm00340a034>
- **Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991).** 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of bacteriology*, 173(2), 697-703.
- **Williams ST et al. (eds) (1989)** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 4. Williams and Wilkins, Baltimore

### Y

- **Yang, C., Qian, R., Xu, Y., Yi, J., Gu, Y., Liu, X., Yu, H., Jiao, B., Lu, X., & Zhang, W. (2019).** Marine Actinomycetes-derived Natural Products. *Current topics in medicinal chemistry*, 19(31), 2868–2918. <https://doi.org/10.2174/1568026619666191114102359>
- **Yang, W., Liang, G., Sun, Y., & Gong, Z. (2021).** Bioactive Secondary Metabolites from Marine *Streptomyces griseus* f8: Isolation, Identification and Biological Activity Assay. *Journal of Marine Science and Engineering*, 9(9), 978.

### Z

- **Zerizer H. (2014).** Les genres d'actinomycètes (hors mycobactéries) impliqués dans les infections dans la région de Constantine. Thèse de Doctorat en Sciences en Biochimie et Microbiologie Appliquées. Université Constantine 1.p 11.
- **Zhang J, Guo C, Chen W, De Lajudie P, Zhang Z, Shang Y, Wang ET. (2018).** Mesorhizobium wenxiniae sp. nov., isolated from chickpea (*Cicer arietinum* L.) in China. *Int J Syst Evol Microbiol* 68(6):1930–1936. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002770>
- **Zhang, B., Wu, X., Tai, X., Sun, L., Wu, M., Zhang, W., ... & Dyson, P. (2019).** Variation in actinobacterial community composition and potential function in different soil ecosystems belonging to the arid Heihe River Basin of Northwest China. *Frontiers in microbiology*, 10, 2209.
- **Zhang, Q. et al. (2012).** Carboxyl formation from methyl via triple hydroxylations by xiaM in xiamycin A biosynthesis. *Org. Lett.* **14**, 6142–6145., présente une activité anti-VIH sélective.
- **Zou, N., Zhou, D., Chen, Y., Lin, P., Chen, Y., Wang, W., ... & Wang, M. (2021).** A Novel Antifungal Actinomycete *Streptomyces* sp. Strain H3-2 Effectively Controls Banana Fusarium Wilt. *Frontiers in microbiology*, 12, 706647.

*Annexes*

**Matériels utilisés :**

Appareillage	Verreries	Autres
- Autoclave - Agitateur magnétique - PH mètre - Vortex - Spectrophotomètre - Bain marie - Balance de précision - Etuve (28°C) - Bec bunsen - Réfrigérateur - Microscope optique	- Tubes à vis - Boites pétries - Eprouvettes - Erlenmeyer - Becher - Entonnoir - Flacons en verre de 200ml	- Pipette pasteur - Ecouvillons - Anse à boucle - Barreaux magnétique - Tige magnétique - Papier whatman - Micropipette 1000µl - Spatule, pissette, pourtoirs - Eppendorf - Pince métallique et pince en bois - Lames et lamelles - Règle - Papier aluminium, suitou . - Embout bleus et jaunes - Cuves de spectrophotométrie - Mortier - Tamis

**Milieu ISP2:**

- Agar .....20 g
- Glucose .....4 g
- Extrait de levure.....4 g
- Extrait de malt.....10 g
- Eau distillée .....1000 ml
- pH .....7,2

Pour ce milieu on ajoute :

- ❖ une vitamine qui est constitué de : Niacinamide PM=122.12, Riboflavin PM=376.36, Thiamine hydrochloride PM=337.27.
- ❖ L'antibiotique antifongiques qui est constitué de : Polymixine(0.005g pour 500µl éthanol+500µl eau physiologique ), Nalixidine acide(0.05g pour éthanol+500µl eau physiologique), Nystatine(0.05g pour 1ml éthanol)

### **Chtinie agar vitamine B :**

-Agar.....	18 g
-Chitine.....	.2 g
-K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,35 g
-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,15 g
-MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O.....	0,2 g
- NaCl.....	200 g
- CaCO <sub>3</sub> .....	0,02 g
- FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O.....	10 mg
- ZnSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O.....	1 mg
- MnCl <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O.....	1 mg
-Eau distillée.....	1000 ml
-pH .....	7,2

Pour ce milieu, ont a ajoutés:

- ❖ Les vitamines: thiamine-HCl, riboflavine, niacine, pyridoxine-HCl, inositol, panthoténate de calcium: à raison de 0,5 mg/L et biotine: 0,25 mg/L. Les vitamines sont stérilisées à l'éther puis dissoutes en solution aqueuse stérile avant d'être ajoutées aseptiquement au milieu autoclavé.
- ❖ Une solution stérile d'un antifongique, le cycloheximide (actidione) à 50 mg/l

### **Gélose nutritive :**

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