

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



Mémoire de fin d'étude

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master en
Sciences de la nature et de la vie

Option: Microbiologie

Réalisé au laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM), ENS de kouba

Par

BENAISSA YAHIA Karima et BOUFETTA Kaouther

Master domicilié au laboratoire de biotechnologie, environnement et santé, Blida

Thème

Production d'antibiotiques antibactériens par la souche
TAM13 de *Saccharothrix* sp. isolée d'un sol de la région
de Tamanrasset

Soutenu le 03/07/2018.

DEVANT LE JURY COMPOSE DE:

Pr GUITARNI D.	Professeur à l'USDB 1	Président.
Dr BOUKHATEM N.	M.C.A à l'USDB 1	Examineur.
Dr MEKLAT A.	M.C.A à l'USDB 1	Promotrice.
Dr MERROUCHE R.	M.C.A à l'E.N.S de KOUBA	Co-promotrice.

Année universitaire 2017- 2018

Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) de Kouba.

En préambule à ce mémoire, nous tenons tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont au directeur du laboratoire, M^r SABAOU Nasserline, de nous avoir accueilli dans le LBSM, ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement notre encadrante, Madame MEKLAT Atika qui nous a permis de bénéficier de son encadrement, s'est toujours montrée à l'écoute, les conseils qu'elle nous a prodigué, la patience, la confiance qu'elle nous a témoignés ont été déterminants dans la réalisation de notre travail.

Nous tenant à remercier sincèrement Madame, MERROUCHE Rabiaa pour l'inspiration, la gentillesse, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer.

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury d'avoir accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

- M^r GUITARNI pour l'honneur qu'il nous fait d'avoir accepté de présider le jury.
- M^r BOUKHATEM pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements s'étendent également à tous les membres du laboratoire (LMSB) pour leur professionnalisme, leur disponibilité, leur gentillesse et leurs bons sourires en particulier Mme. KACI Sonia et M^r. MOKRANE Salim.

Enfin, notre profonde reconnaissance à toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

DEDICACE

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents les prunelles de mes yeux. Qui m'ont soutenu moralement aux moments difficiles, tout au long de mon parcours scolaire, par leur amour, leurs conseils, leurs encouragements et compréhension. Le simple fait de leur présence me donne la force d'avancer.

A mes frères : Ismaïl et Rafik qui ont été toujours à mes côtés et qui n'ont pas hésité à tous moments de m'offrir leur aide.

A ma très chère sœur et sa petite famille, surtout ses enfants : Hakima et Mohammed

À La Mémoire de ma sœur Hakima.

A mon fiancé Mohammed, pour son soutien, qu'il trouve ici le témoignage de mon profond respect.

A ma chère binôme Kaouther, qui m'a partagé les moments de joie ainsi que les durs moments tout au long de ce travail.

Une spéciale dédicace à Hafsa pour son aide, ses conseils précieux et sa gentillesse.

A mes chères amies : Hamida, Nabila, Sakina et Youssra

A tous mes enseignants depuis primaire jusqu'à l'université

A toute ma famille et toutes mes amies

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Karima

DEDICACES

C'est avec toute l'ardeur de mes sentiments que je dédie le fruit de ce modeste travail comme geste de gratitude à savoir :

Les personnes les plus chères au monde mes chers parents, qui ont fait des sacrifices et crus en moi tout le long de mon parcours scolaire que dieu les garde et les protège.

Mes grands parents qui n'ont cessé de prier pour moi, que dieu leur prête longue vie.

Mon chère frère Ishak, a qui je souhaite plein succès dans sa future carrière.

Ma chère binôme : Karima.

Un énorme merci à Hafsa pour l'aide qu'elle nous a apportée et les conseils qu'elle nous a donnée .

Mes très chères amies qui m'ont soutenu sans faille : Asma, Ryma, Nariemene. Rawnak, Ilham, Nabila, Sakina.

Tous mes enseignants depuis primaire jusqu'à mon cursus universitaire.

Enfin je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers, un grand merci à tous ceux qui ont participé, de près ou de loin à la réussite de ce travail.

Kaouther

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1: Micromorphologie du genre <i>Saccharothrix</i> selon Whitman <i>et al.</i> , 2012 (a), Sabaou, 1988 (b) et Boubetra <i>et al.</i> , 2015 (c).	6
Figure 2: Mode d'action des principaux antibiotiques (Madigan <i>et al.</i> , 2012).	10
Figure 3: Secteur angulaire montrant la répartition de la production d'antibiotiques entre les trois groupes de microorganismes (Berdy, 2005).	11
Figure 4: Interconnexion des paramètres relatifs à l'hydrodynamique du fermenteur, d'après Olmos <i>et al.</i> (2012).	15
Figure 5: Mise en évidence de l'activité antagoniste de la souche TAM13 par la méthode des cylindres d'agar.	18
Figure 6: Test d'activité antibactérienne par la méthode des puits.	20
Figure 7: Schéma général de cinétique de pH, de croissance et de la production des antibiotiques par la souche TAM13 en milieu liquide.	22
Figure 8: Les étapes de l'extraction liquide-liquide.	23
Figure 9: Illustration de la méthode d'antibiogramme.	24
Figure 10: Schéma général des étapes d'extraction et d'analyses des extraits.	27
Figure 11: Cinétique de pH, de croissance et de production des antibiotiques par la souche TAM13 sur milieu ISP2.	28
Figure 12: Activité antimicrobienne de la souche TAM13 sur milieu ISP2 liquide, contre : <i>Escherichia coli</i> (Ec) et <i>Listeria monocytogenes</i> (Lm). Et <i>Staphylococcus aureus</i> S (Sa S).	29
Figure 13: Cinétique de pH, de croissance et de production des antibiotiques par la souche TAM13 sur milieu Bennett.	30
Figure 14: Activité antimicrobienne de la souche TAM13 sur milieu Bennett liquide, contre : <i>Escherichia coli</i> (Ec) et <i>Listeria monocytogenes</i> (Lm). Et <i>Staphylococcus aureus</i> S (Sa S).	31
Figure 15: Cinétique de la production des antibiotiques par la souche TAM13 sur milieu MS additionné a la dextrine.	32

- Figure 16:** Activité antimicrobienne de la souche TAM13 sur milieu synthétique (MS) liquide additionné de dextrine, contre : *Escherichia coli* (Ec) et *Listeria monocytogenes* (Lm). Et *Staphylococcus aureus* S (SaS). 33
- Figure 17:** Activité antibactérienne des extraits organiques de la souche TAM13. 35
- Figure 18:** Profil d'élution en HPLC analytique obtenu à 220 nm et à 450 nm de l'extrait au dichlorométhane de la souche TAM13 élué dans 100% de méthanol. 36
- Figure 19:** Spectre d'absorption dans l'UV-visible des fractions majoritaires F5, F6 et F8. 37

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ATCC: American Type Culture Collection

CH.V : chitine-vitamines B agar

F : Fraction

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

ISP2 : International *Streptomyces* Project 2

LBSM : Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens

mg: milligramme

MH : Muller Hinton

min: minute

ml: millilitre

MS : Milieu synthétique

PDA : potato dextrose agar

rpm: rotation par minute

S : *Streptomyces*

Sa : *Saccharothrix*

UV: Ultraviolet

LISTE DES TABLEAUX

	page
Tableau 1: Distribution de quelques actinomycètes dans la nature (Goodfellow, 1983)	5
Tableau 2: Les espèces appartenant au genre <i>Saccharothrix</i>	7
Tableau 3: Les principaux antibiotiques et leur classification ((Joffin et Leyral, 2014)	8
Tableau 4: Principaux antibiotiques élaborés par les espèces du genre <i>Streptomyces</i> (Madigan et Martinko, 2007)	12
Tableau 5: Les antibiotiques sécrétés par certaines espèces du genre <i>Saccharothrix</i>	13
Tableau 6: Les germes cibles utilisés pour l'évaluation des propriétés antagoniste et de l'activité antimicrobienne de l'isolat TAM13 de <i>Saccharothrix</i>	16
Tableau 7: Activité antagoniste de l'isolat TAM13 de <i>Saccharothrix</i> sp. contre les germes -cibles par la méthode des cylindres d'agar	27
Tableau 8: Activités antimicrobiennes de la phase organique de la souche TAM13 de <i>Saccharothrix</i> sp	34

Résumé

Le travail que nous avons effectué porte sur la production, l'extraction et la purification des molécules bioactives d'une souche d'actinobactérie, *Saccharothrix* sp. TAM13, isolée à partir d'un sol saharien de la région de Tamanrasset.

L'activité antibiotique de la souche *Saccharothrix* sp. TAM13 a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar vis-à-vis de plusieurs germes-cibles sur le milieu ISP2. Cette activité était forte contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif en particulier *Staphylococcus aureus* (36 mm) et *Escherichia coli* (27 mm).

Une cinétique de production des molécules bioactives par la souche TAM13 de *Saccharothrix* sp. a été réalisée sur milieux liquides, ISP2 (à base de glucose, extrait de levure et extrait de malt), Bennett (à base de glucose, peptone et extrait de levure) et milieu synthétique (MS) additionné de dextrine en utilisant *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (Sa S) et *Listeria monocytogenes* comme microorganismes-cibles. Nous avons noté que l'activité antimicrobienne était nettement meilleure dans le milieu ISP2 et atteint son maximum entre le 5^{ème} et le 6^{ème} jour d'incubation, ce milieu a été retenu pour la production des molécules bioactives. Ces dernières ont été extraites par quatre solvants organiques de polarité différente (dichlorométhane, *n*-hexane, l'acétate d'éthyle et *n*-butanol) et le meilleur solvant d'extraction, le dichlorométhane a été déterminé par antibiographie.

L'analyse de l'extrait au dichlorométhane par HPLC analytique sur colonne C18 à une longueur d'onde de 220 nm, a montré la présence de 9 fractions, dont 3 fractions sont majoritaires (F5, F6 et F8), tandis qu'à 450 nm seule la fraction colorée (F8) a été révélée.

Les spectres UV-visible des fractions majoritaires ont montré différents maxima d'absorptions avec des épaulements pour certaines, 2 maxima (220 et 269 nm) pour la fraction F5, 2 maxima (220 et 280 nm) pour la fraction F6 et 4 maxima (220, 257, 292 et 494 nm) pour la fraction F8.

Mots clés : Actinobactéries, *Saccharothrix*, cinétiques de production, antibiotiques, activité antimicrobienne, dichlorométhane.

ملخص

يتناول العمل الذي قمنا به دراسة انتاج واستخلاص وتنقية الجزيئات النشطة بيولوجيا من طرف سلالة البكتيريا الهيفية *Saccharothrix sp.*TAM13 Actinobactéries المعزولة من تربة صحراوية في منطقة تمنراست.

تم تقييم اختبار النشاط التضادي للسلالة TAM13 المنتمية إلى جنس *Saccharothrix sp.* بطريقة أسطوانيات الاجار ضد العديد من الجراثيم المستهدفة على الوسط الزراعي ISP2، وقد اظهرت النتائج نشاطها القوي ضد البكتيريا موجبة و سالبة الغرام معا خاصة ضد *Escherichia coli* (27 مم) و *Staphylococcus aureus* (36 مم).

تم اختبار حركية الانتاج للسلالة TAM13 على الوسائط الزراعية السائلة، الوسط الزراعي المعقد ISP2 (المكون من غلوكوز، مستخلص الخميرة ومستخلص الشعير) والوسط الزراعي المعقد Bennett (المكون من غلوكوز، بيتون ومستخلص الخميرة) و الوسط الزراعي MS المضاف له الدكسترين، وذلك باستعمال كل من *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* كجراثيم مستهدفة.

لاحظنا ان النشاط المضاد للميكروبات كان أفضل في الوسط الزراعي المعقد ISP2، حيث وصل إلى أقصى حد له ما بين اليوم الخامس والسادس، لذا تم اختياره لإنتاج الجزيئات النشطة بيولوجيا. لقد تم استخلاص هذه الجزيئات باستعمال أربعة محاليل عضوية ذات قطبية مختلفة (ثنائي كلور الميثان، *n*-هكسان، أسينات الإثيل و *n*-البوتانول)، وتم تحديد ثنائي كلور الميثان كأفضل مستخلص عضوي بطريقة الكشف التضادي Antibiographie.

تم تحليل مستخلص ثنائي كلور الميثان بفضل جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الكفاءة (HPLC) وذلك باستعمال العمود (C18 colonne). أظهر التحليل في الطول الموجي 220 نانومتر تسع أجزاء، منها ثلاث أجزاء أنتجت بكميات سائدة (F5، F6 و F8)، بينما تم الكشف في الطول الموجي 450 نانومتر فقط عن الجزء الملون (F8).

تم الحصول بواسطة الطيف فوق البنفسجي المرئي للأجزاء السائدة على قيم امتصاص مختلفة، حيث أظهرت النتائج قيمتين قصوتين للجزء F5 (220، 269 نانومتر) والجزء F6 (220، 280 نانومتر) وأربع قيم قصوى للجزء F8 (220، 257، 292 و 494 نانومتر).

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الهيفية، *Saccharothrix*، حركية الإنتاج، مضادات حيوية، النشاط المضاد للميكروبات، ثنائي كلور الميثان.

Abstract

This study focuses on the production, extraction and purification of the bioactive molecules of the actinobacterial strain "*Saccharothrix* sp. TAM13" isolated from Saharan soil in the Tamanrasset region.

The antibiotic activity of *Saccharothrix* sp. TAM13 was evaluated by agar cylinder method against several target germs on ISP2 medium, this activity was strong against Gram-positive and Gram-negative bacteria, especially *Staphylococcus aureus* (36 mm) and *Escherichia coli* (27 mm).

A bioactive molecules kinetic production of *Saccharothrix* sp. TAM13 strain has been assessed on liquid culture media ISP2 (made from glucose, yeast extract and malt extract), Bennett (made from glucose, peptone and yeast extract) and synthetic medium (SM) supplemented with dextrin using *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (Sa S) and *Listeria monocytogenes* as target microorganisms. The obtained results showed that this production is better on ISP2 medium and achieved its higher level between the fifth and the sixth day of incubation; this medium was selected for the production of bioactive compounds. These last were extracted by four organic solvents of different polarity (dichloromethane, n-hexane, ethyl acetate and n-butanol), the antibiography results revealed that dichloromethane was the best extraction solvent.

The analysis of the dichloromethane extract by analytical HPLC on a C18 column at a wavelength of 220 nm showed the presence of 9 fractions, of which 3 major fractions (F5, F6 and F8), while at 450 only one colored fraction was revealed (F8).

The UV-visible spectrum of the major fractions showed different maxima of absorption with shoulders for some, 2 maxima (220 and 269 nm) for F5 fraction, 2 maxima (220 and 280 nm) for F6 fraction and 4 maxima (220, 257, 292 and 494 nm) for the fraction F8.

Key words: Actinobacteria, *Saccharothrix*, kinetic of production, antibiotics, antimicrobial activity, dichloromethane.

Introduction

Depuis leur découverte, les antibiotiques sont utilisés non seulement pour traiter les maladies infectieuses chez l'homme et l'animal, mais aussi en industrie alimentaire comme conservateurs, ainsi qu'en agriculture. Malheureusement l'évolution des microorganismes pathogènes sous pression sélective a fait paraître le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques traditionnels, ce qui a posé un problème de santé à l'échelle mondiale, les mauvaises pratiques de préventions et de lutte ont contribué à cette dernière (Yim, 2011). Et depuis, la quête de nouvelles molécules naturelles est devenue l'objectif primordial des chercheurs.

Kim *et al.* (2000) rapportent que les antibiotiques naturels présentent des caractéristiques prometteuses permettant le control des maladies infectieuses, car ils sont facilement et rapidement biodégradables et moins toxiques. Plus de 45% des molécules bioactives d'origine microbienne sont produites par les actinobactéries (Solecka *et al.*, 2012), environ 80% sont produites par le genre *Streptomyces*, le genre le plus répandu dans l'environnement (Bull et Stach, 2005; Jose *et al.*, 2011).

Plusieurs stratégies de recherche ont été mises en œuvre afin de garantir dans le futur la disponibilité d'antibiotiques naturelles efficaces (Jiang *et al.*, 2012). L'une d'elles vise la recherche de souches d'actinobactéries appartenant à des genres rares ou peu fréquents (autres que le genre *Streptomyces*) et provenant d'écosystèmes extrêmes ou particuliers (température, salinité, pH, etc.) (Donadio *et al.*, 2002; Gupte *et al.*, 2002).

Les sols sahariens de l'Algérie particulièrement ceux des palmeraies, représentent des écosystèmes particuliers. Leur exploration a montré leur richesse et leur biodiversité en actinobactéries des plus fréquentes comme les *Streptomyces* aux plus rares tels que *Actinomadura*, *Catellatospora*, *Couchioplanes*, *Herbidospora*, *Nocardiopsis*, *Nonomurae*, *Planomonospora*, *Saccharothrix*, *Spirillospora*..., qui se sont révélés d'être grands producteurs de molécules douées d'activité antimicrobienne (Sabaou *et al.*, 1998; Boudjella *et al.*, 2006; Badji *et al.*, 2006; Boudjelal *et al.*, 2011; Lahoum *et al.*, 2016). Parmi ces souches, les espèces appartenant au genre *Saccharothrix* ont retenu l'attention par leur forte activité antibactérienne et antifongique (Lamari *et al.*, 2002; Zitouni *et al.*, 2004; Merrouche *et al.*, 2010, Merrouche *et al.*, 2011; Boubetra *et al.*, 2013).

La majorité des antibiotiques sécrétés par les souches de *Saccharothrix* ont été découverte durant les trente dernières années. Leur nature chimique est assez diversifiée. On peut ainsi trouver des macrolides, des polyamines, des benzoquinones, des aromatiques hétérocycliques glycosylés, des alcaloïdes, des nucléosides carboxyliques, des hétérocycles azotés et soufrés, des composés

Introduction

phosphorés acides et hydrophiles, des heptadécaglycosides, ou encore des anthracyclines (Takahashi *et al.*, 1986; Isshiki *et al.*, 1989; Suzuki *et al.*, 1991; Bush *et al.*, 1993; Tsurumi *et al.*, 1995; Singh *et al.*, 2000; Lamari *et al.*, 2002; Zitouni *et al.*, 2004).

Certains antibiotiques sont doués d'une activité antibactérienne (bactéries à Gram positif et plus rarement à Gram négatif), comme la swalpamycine B, ou antifongique comme le thiazolylpyridine, ou encore antibactérienne et antifongique à la fois, comme les dithioloxyrrolones, les cyanogrisides I et J. D'autres composés sécrétés présentent des activités antitumorales (ex: ammocidine, pluraflavines), antivirales (fluvirucines) et herbicides (phosphonothrixine et coformycine) (Takahashi *et al.*, 1995; Vertesy *et al.*, 2001; Lamari *et al.*, 2002; Merrouche *et al.*, 2010 et Merrouche *et al.*, 2011; Nakae *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013; Lahoum, 2017).

Dans le présent travail, nous nous sommes fixés comme objectifs d'évaluer l'activité antagoniste d'une souche d'actinobactérie nommée *Saccharothrix* sp. TAM13, de produire et d'extraire les molécules bioactives élaborées par cette souche et d'analyser par HPLC les extraits actifs.

TABLE DES MATIERES

RESUME

ABSTRACT

ملخص

	pages
INTRODUCTION.....	1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les actinobactéries (actinomycètes).....	3
1. Définition des actinobactéries.....	3
2. Historique des actinobactéries.....	3
3. Distribution des actinobactéries dans les écosystèmes et leur rôle écologique.....	4
4. Le genre <i>Saccharothrix</i>.....	5
4.1. Caractéristiques et position taxonomique du genre <i>Saccharothrix</i>	5
4.1.1. Caractéristiques du genre <i>Saccharothrix</i>	5
4.1.2. Position taxonomique du genre <i>Saccharothrix</i>	6
4.2. Espèces appartenant au genre <i>Saccharothrix</i>	7
5. Les antibiotiques.....	8
5.1. Définition des antibiotiques.....	8
5.2. Classification des antibiotiques.....	8
5.3. Microorganismes producteurs d'antibiotiques.....	10
5.4. Biosynthèse des antibiotiques.....	13
5.5. Régulation de la biosynthèse des antibiotiques.....	13

MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL

1. La souche TAM13 de <i>Saccharothrix</i>.....	16
2. Les germes cibles.....	16

II. METHODES

1. Mise en évidence de l'activité antagoniste de la souche TAM13 sur milieu solide.....	16
1.1. Préparation de culture de la souche TAM13.....	16
1.2. Préparation des suspensions des germes cibles.....	17
1.3. Test d'antagonisme « Méthode des cylindres d'agar ».....	17
2. Cinétique de pH, de croissance et de la production des antibiotiques par la souche TAM13 en milieu liquide.....	18
2.1. Préparation de l'inoculum de la souche TAM13.....	19
2.2. Préparation des pré-cultures.....	19
2.3. Les milieux de cultures utilisés.....	19
2.4. Préparation des cultures.....	19
2.5. Prélèvement.....	20
2.6. Test d'activité antibactérienne.....	20
2.7. Suivi du pH des cultures de la souche TAM13.....	21
2.8. Suivi de la croissance de la souche TAM13.....	21
3. La recherche du meilleur solvant d'extraction antimicrobien de la souche TAM13.....	22
3.1. Préparation des cultures.....	23
3.2. Extraction des substances antimicrobiennes.....	23
3.3. Antibiogramme.....	23

4. Purification de molécules antimicrobiennes de la souche TAM13 par HPLC.....	24
5. Etudes spectroscopiques (Spectres UV-visible).....	25

RESULTAT ET DISCUSSIONS

I. RESULTAT.....	27
1. Mise en évidence de l'activité antagoniste de la souche TAM13 sur milieu solide.....	27
2. Cinétique de croissance, de pH et de production des antibiotiques par la souche TAM13 en milieu liquide.....	27
3. Extraction des composés actifs et antibiographie.....	33
4. Analyse des antibiotiques par HPLC.....	35
5. Analyse spectroscopiques des Fractions majoritaires de l'extrait au dichlorométhane.....	36
II. discussion.....	38

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	42
-----------------------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE

Matériel et méthodes

I. Matériel

1. La souche TAM13 de *Saccharothrix*

L'isolat d'actinobactérie, noté TAM13 utilisé dans cette étude, provient du Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de Kouba-Alger, a été isolée en 2017, par la méthode de suspensions-dilutions (Rapilly, 1968), sur milieu «chitine-vitamines B agar» (CH.V) de Hayakawa et Nonomura (1987), à partir d'un échantillon de sol saharien, prélevé de la région de Tamanrasset. La souche a été conservée à 4°C, sur le milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project 2) incliné.

2. Les germes cibles

Des bactéries à Gram positif, négatif et des champignons filamenteux (Tableau 6), ont été utilisés comme germes cibles afin d'évaluer les propriétés antagonistes, et pour tester l'activité antimicrobienne de la souche TAM13. Ces microorganismes proviennent de la collection du Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de Kouba-Alger.

Tableau 6: Les germes cibles utilisés pour l'évaluation des propriétés antagoniste et de l'activité antimicrobienne de l'isolat TAM13 de *Saccharothrix*.

Bactéries		Champignons
Gram positif	<ul style="list-style-type: none">• <i>Staphylococcus aureus</i> 639c• <i>Staphylococcus aureus</i> S• <i>Listeria monocytogenes</i>• <i>Bacillus subtilis</i>	<ul style="list-style-type: none">• <i>Umbelopsis ramanniana</i>• <i>Fusarium culmorum</i>• <i>Aspergillus carbonarius</i>• <i>Aspergillus flavus</i>• <i>Penicillium expansum</i>
Gram négatif	<ul style="list-style-type: none">• <i>Escherichia coli</i>• <i>Klebseilla pneumoniae</i>• <i>Acinetobacter baumannii</i> (S54)	

II. Méthodes

1. Mise en évidence de l'activité antagoniste de la souche TAM13 sur milieu solide

1.1. Préparation de culture de la souche TAM13

Matériel et méthodes

La souche TAM13, est ensemencée en stries serrées, à la surface du milieu ISP2 solide, préconisé pour la croissance et la sporulation des actinobactéries (Shirling et Gottlieb, 1966). Une incubation de la souche ensemencée est réalisée, pendant 10 jours à 30°C, afin d'obtenir une bonne croissance et sporulation, et une meilleure production des molécules antimicrobiennes.

1.2. Préparation des suspensions des germes cibles

Pour chaque microorganisme-cible, une suspension mère a été préparée après un raclage d'une fraction du germe à partir des cultures solides (nouvellement repiquées), la fraction ainsi prélevée, est suspendue dans 50 ml de l'eau distillée stérile, puis agitée par un vortex, afin d'homogénéiser la suspension. Ces suspensions ont été conservées à 4°C, ensuite des volumes différents sont prélevés (50 µL, 100 µL, 150 µL, 200 µL et 250 µL) à partir des suspensions mères. Chaque volume est utilisé pour inoculer 100 ml des milieux semi-solides (10 g/l d'agar), Muller Hinton (MH) pour les bactéries et PDA (Potato dextrose agar) pour les champignons maintenus en surfusion à 45°C. Le milieu inoculé est par la suite coulé en boîtes de Pétri stériles. Après une incubation de 24 à 48 h, une nappe microbienne apparaît. Le but de cette étape, est de choisir quel est le meilleur volume (prélevé de la suspension mère), qui donne des colonies juxtaposées et non confluentes. Une fois le volume est choisi, on utilise le même rapport volumique durant tous les tests d'activité (Bouznada, 2018).

1.3. Test d'antagonisme « Méthode des cylindres d'agar »

L'activité antibactérienne et antifongique de l'isolat TAM13, a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar (Patel et Brown, 1969). Cette méthode consiste à ensemencer la souche à tester (TAM13) en stries serrées sur le milieu ISP2 solide, puis incubé pendant 10 jours à 30°C. Après incubation, des cylindres d'agar de dix millimètres de diamètre sont découpés stérilement à partir de cette culture mure à l'aide d'un emporte-pièce, puis déposés à la surface d'une boîte contenant le milieu MH semi solide, préalablement ensemencé par les bactéries cibles, et sur le milieu PDA semi solide, favorable à la croissance des champignons cibles (Tableau 6). Les boîtes sont maintenues à 4°C pendant 2 h, avant d'être incubées, afin de permettre une bonne diffusion de la substance antibiotique, tout en empêchant momentanément la croissance des microorganismes cibles. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après 24 h d'incubation à 37°C pour les bactéries, et après 48 h à 25°C pour les champignons. La figure 5, illustre les étapes de cette méthode.

Matériel et méthodes

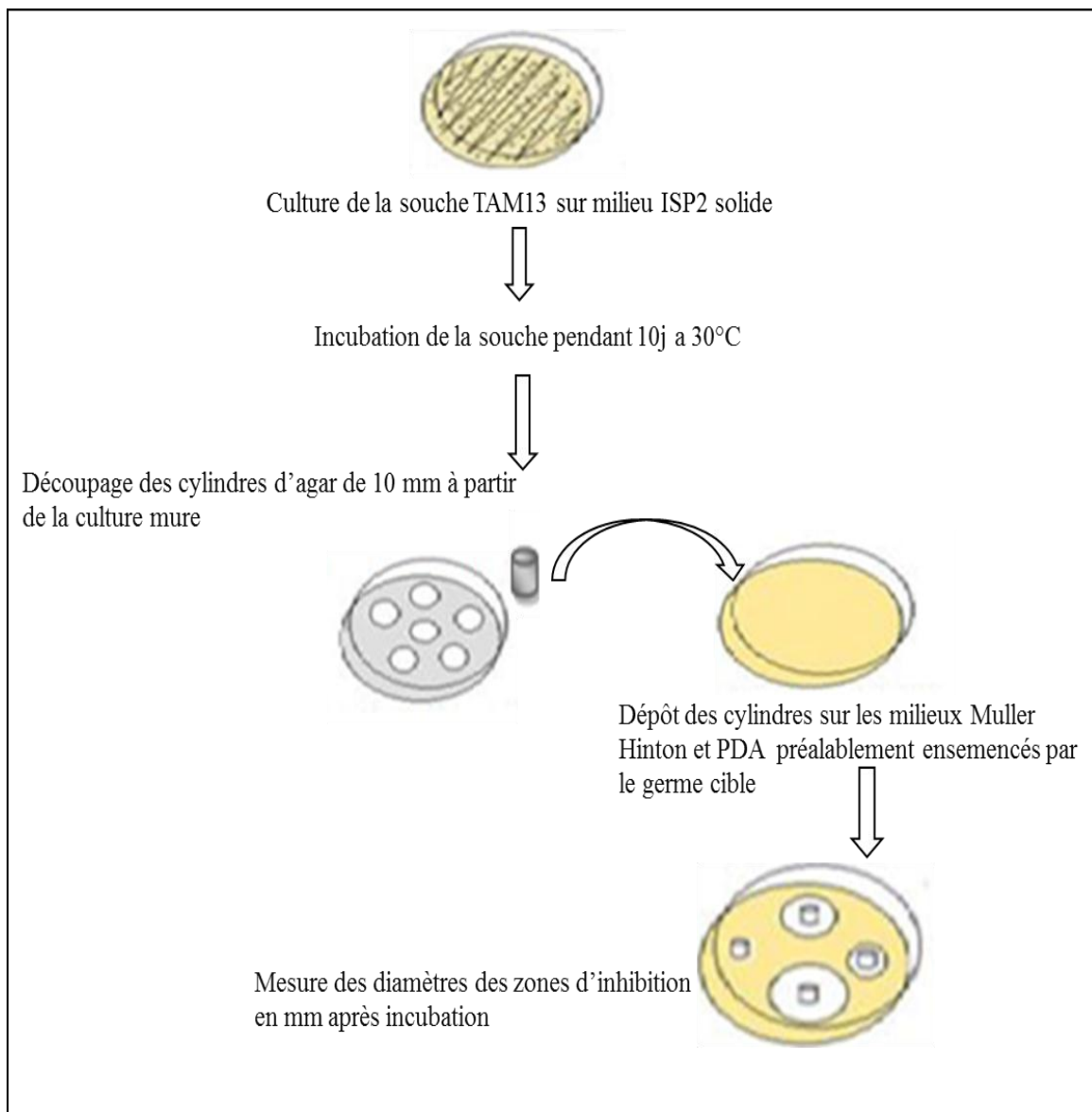


Figure 5: Mise en évidence de l'activité antagoniste de la souche TAM13 par la méthode des cylindres d'agar.

2. Cinétique de pH, de croissance et de la production des antibiotiques par la souche TAM13 en milieu liquide

La cinétique de pH, de croissance et de la production des antibiotiques par la souche TAM13, a été réalisée dans le but de comparer entre trois milieux de culture liquides, pour choisir le milieu de culture qui permet une production optimale de l'activité antimicrobienne et déterminer le jour optimal de la production, dans des conditions déterminées pour chaque milieu. L'évolution du pH, du poids sec du mycélium et de l'activité antibiotique de la souche TAM13 vis-à-vis des germes cibles, est suivie quotidiennement.

Matériel et méthodes

2.1. Les milieux de culture utilisés

Trois milieux de culture liquides sont utilisés: deux milieux complexes (ISP2 et Bennett) et un milieu synthétique (MS) additionné de dextrine.

Le milieu de culture ISP2 est composé de: glucose: 4 g; extrait de levure: 4 g et l'extrait de malt: 10 g. Le milieu Bennett est composé de: glucose: 10 g; peptone: 2 g; extrait de levure: 1 g et l'extrait de viande: 1 g (Waksman, 1961). Le milieu MS contient: dextrine : 10g; Na Cl: 2 g; K₂ HPO₄: 1 g; KH₂PO₄: 0,5 g; MgSO₄, 7H₂O: 0,2 g; CaCO₃: 2 g et (NH₄)₂SO₄: 2 g (Bouras, 2005). Pour les trois milieux 1000 ml d'eau distillée sont ajoutées et le pH est ajusté à 7,2.

La stérilisation des milieux de cultures s'effectue à 120°C dans un autoclave pendant 20 min, sous 1 bar (Bouali *et al.*, 2017). Le milieu synthétique (MS), est stérilisé en deux parties séparées, afin d'éviter la réaction de Maillard entre la source de carbone (dextrine) et la source d'azote (le (NH₄)₂SO₄), qui peut changer la composition du milieu de culture. Une solution de dextrine est préparée dans des tubes à vis, est autoclavée séparément, puis mélangé stérilement devant un bec benzen avec l'autre partie du milieu de culture ainsi stérile (Bouras *et al.*, 2015).

2.2. Préparation de l'inoculum de la souche TAM13

La souche étudiée TAM13 estensemencée en stries serrés sur milieu ISP2 solide, les boitesensemencées sont ensuite incubées à 30°C pendant dix jours, afin d'obtenir une culture mure qui va être utilisée pour préparer les prés cultures.

2.3. Préparation des pré-cultures

Des pré-cultures sont préparées à partir de la culture mûre de la souche TAM13, âgée de 10 jours et poussant sur milieu ISP2 solide (Bouali *et al.*, 2017) . Des Erlenmeyers de 250 ml, contenant chacun 50 ml de milieu liquide (ISP2, Bennett ou le milieu synthétique MS additionné de dextrine), sont inoculées par des carottes de six millimètres, formées par un emporte-pièce stérile, à partir de la culture mure. L'incubation se fait dans un agitateur (Shaker New Brunswick, agitation à 250 rpm), pendant 2 à 3 jours à une température de 30°C (Xinxuan *et al.*, 2010).

2.4. Préparation des cultures

Des fioles d'Erlenmeyer de 500 ml, contenant chacune 100 ml de milieu liquide de la même composition que le milieu basal, sont inoculées chacune avec 3 ml de la pré-culture préparée précédemment. Les cultures sont incubées à 30°C, et agitées à 250 rpm dans un agitateur pendant une période de 8 jours (Hamza *et al.*, 2018).

Matériel et méthodes

2.5. Prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés aseptiquement, d'une manière successive, toutes les 24 h pendant les 8 jours d'incubation, pour réaliser les différentes mesures. À l'aide d'une micropipette, 4 ml de chaque milieu de cultures sont prélevés, et partagés aseptiquement sur deux eppendorfs (2 ml en deux répétitions). Le premier eppendorf, contenant 2 ml qui sert pour l'estimation des variations de pH

et de la biomasse, et le second est destiné à l'évaluation de l'activité antimicrobienne vis-à-vis les microorganismes cibles (Bouali *et al.*, 2017).

2.6. Test d'activité antibactérienne

Les surnageants sont récupérés, et ont servir pour tester l'activité antibactérienne par la méthode des puits. Selon la méthode établie par Aszalos (1986), préconisée aux solutions aqueuses, une aliquote de 100 μ L du surnageant du milieu est introduite au fond d'un puits de dix millimètres de diamètre, préalablement réalisé à l'aide d'un emporte-pièce stérile, dans le milieu de culture MH semi solide contenant 10 g/l d'agar, pré-ensemencé avec le germe-cible et coulé en boîte de Pétri. Les boîtes sont mises au réfrigérateur (4°C pendant 2 h), afin de laisser les antibiotiques diffuser dans la gélose, tout en inhibant momentanément la croissance des germes cibles, par la suite les boites sont incubées à 30°C. La lecture des résultats s'effectue en mesurant le diamètre des zones d'inhibition tout autour des puits après 24 h d'incubation (Figure 6).

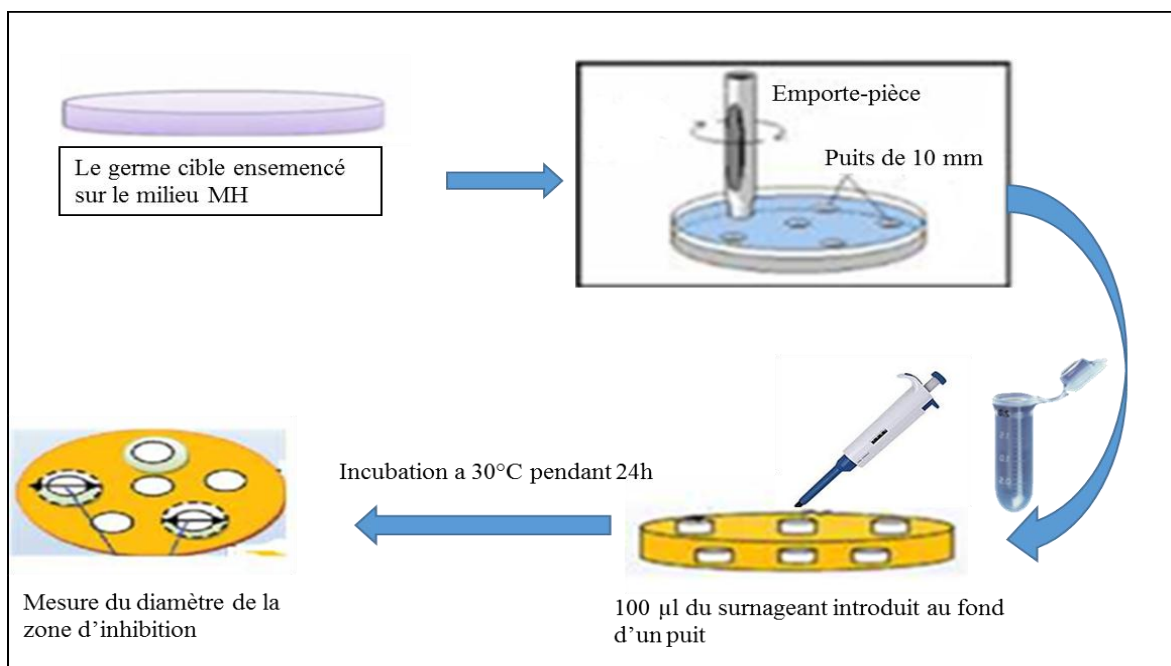


Figure 6: Test d'activité antibactérienne par la méthode des puits.

2.7. Suivi du pH des cultures de la souche TAM13

Une aliquote de 2 ml de la culture bien homogénéisée manuellement, est prélevée stérilement dans un tube eppendorf de 2 ml, préalablement séché et taré. Après centrifugation à 12000 rpm, pendant 10 min, le surnageant est récupéré pour mesurer le pH de milieu de culture à l'aide d'un pH mètre et ce, en vue de suivre son évolution durant la fermentation (Bouznada, 2018).

2.8. Suivi de la croissance de la souche TAM13

La croissance cellulaire durant la fermentation, est estimée par mesure du poids sec de la biomasse contenue dans un volume de culture connu. Cette mesure est effectuée selon la méthode de Pfefferle *et al.* (2000). Après avoir récupérer le surnageant, le culot du milieu MS additionné de dextrine, est lavé trois fois par centrifugation en utilisant 1,5 ml de HCl (0,35 M), afin d'éliminer le CaCO_3 , et une dernière fois avec 1,5 ml d'eau distillée (Bouali *et al.*, 2017) . Les eppendorfs contenant les culots des trois milieux (MS+ dextrine, ISP2 et Bennett), sont ensuite déposés dans un four à 105°C pendant 24 h, et repesés après refroidissement. Le poids sec est obtenu en soustrayant le poids de l'eppendorf contenant le mycélium sec à celui de l'eppendorf vide (Bouznada, 2018). Un schéma général illustrant les différentes étapes de la cinétique est donné dans la figure 7.

Matériel et méthodes

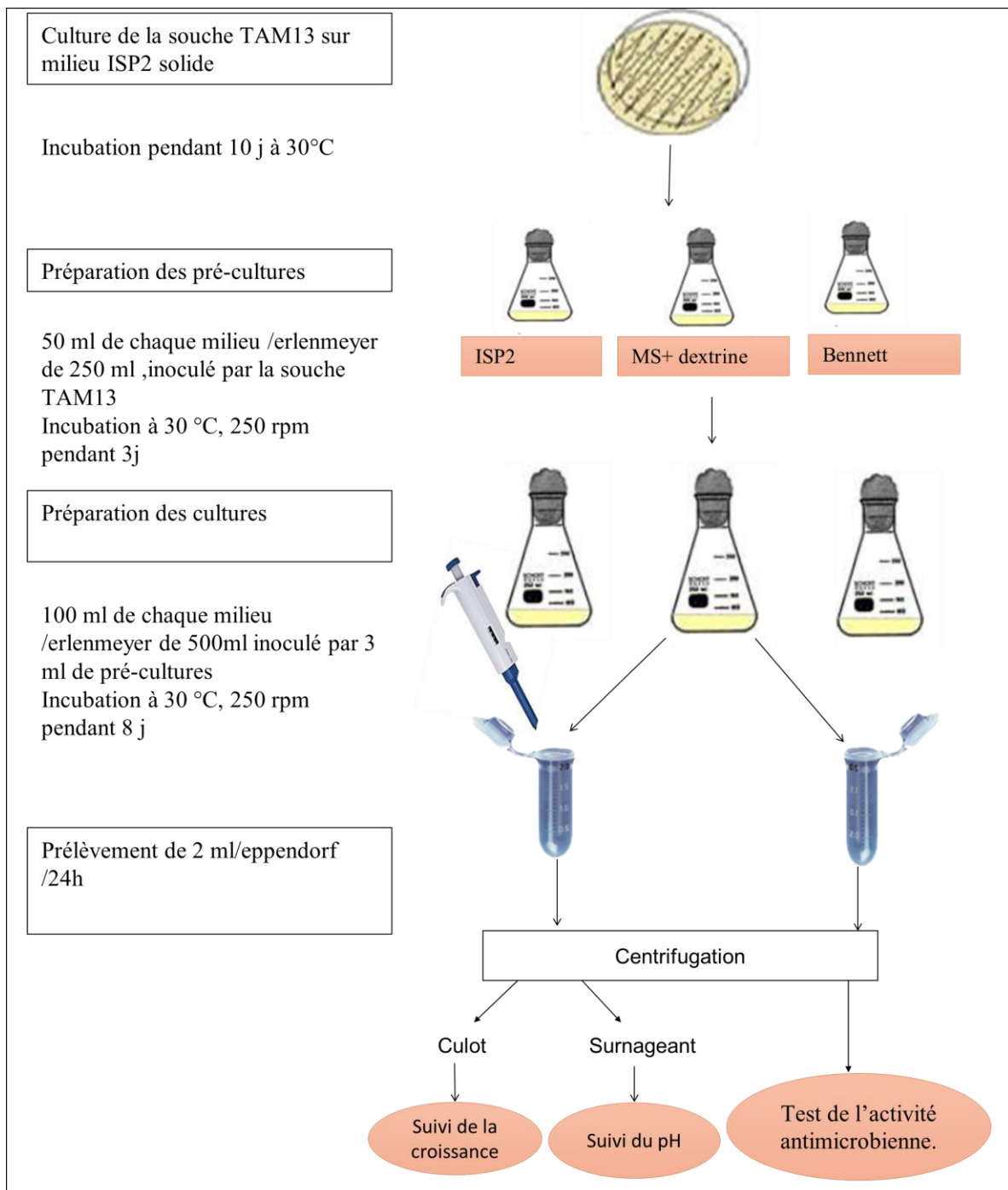


Figure 7: Schéma général de cinétique de pH, de croissance et de la production des antibiotiques par la souche TAM13 en milieu liquide.

3. La recherche du meilleur solvant d'extraction antimicrobien de la souche TAM13

L'extraction des antibiotiques à partir des filtrats de culture, est réalisée à l'aide de divers solvants organiques, après une durée définie lors des expériences précédentes, ce qui correspond au meilleur jour de la production de ces substances.

3.1. Préparation des cultures

Cinq Erlenmeyers de 500 ml, contenant 100 ml de culture (ISP2, Bennett et MS additionné de dextrine), ont été inoculé par 3 ml de pré-cultures, puis incubés dans un shaker à 30°C, et agités à 250 rpm, jusqu'au jour optimal de la production déterminé lors des cinétiques.

3.2. Extraction des substances antimicrobiennes

L'extraction des antibiotiques à partir du filtrat de culture, nécessite le choix d'un solvant non miscible avec l'eau correspondant au mieux à la polarité des antibiotiques à extraire. Ainsi, quatre solvants de polarité croissante sont testés: le n-hexane (0,0), le dichlorométhane (3,1), le n-butanol (4) et l'acétate d'éthyle (4,4), la culture est centrifugée pendant 15 min puis filtrée. Le filtrat de culture obtenu a été divisé en quatre lots de 100 ml et mélangé dans des ampoules à décanter avec un volume égal de chaque solvant cités plus haut. Les phases organiques sont récupérées, puis déshydratées par passage à travers un papier filtre (Whatman n° 1), contenant 2 g du sulfate de sodium anhydre, afin d'éliminer les traces d'eau résiduelles et les contaminants hydrophiles (Figure 8). Les extraits des différentes phases organiques ont été concentrés sous vide à 40°C, en utilisant un évaporateur rotatif. Dans des piluliers, les résidus secs organiques ont été récupérés dans 1 ml de méthanol, et testés par la méthode d'antibiographie.

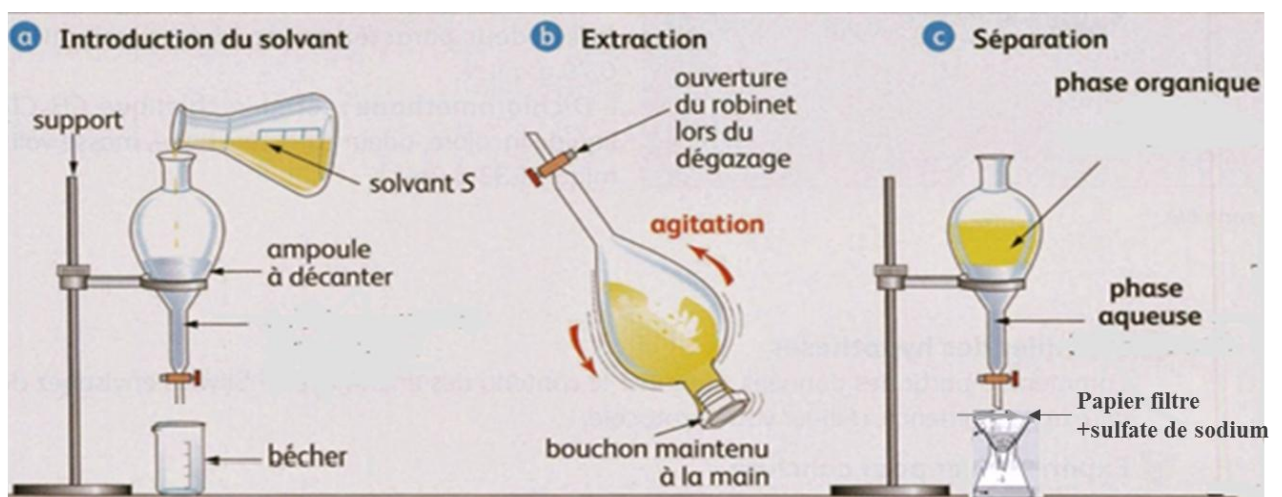


Figure 8: Les étapes de l'extraction liquide-liquide.

Matériel et méthodes

3.3. Antibiogramme

Des disques de papier de six millimètres de diamètre, sont imprégnés avec 60 μ l d'extrait ainsi obtenu, par le biais d'une micro-seringue, afin de tester l'activité contre les germes cibles, ces disques sont par la suite séchés, pour faire évaporer le solvant, puis stérilisés sous UV à 254 nm, pendant 45 min. Les disques imprégnés sont ensuite déposés à la surface du milieu MH à 10 g/l d'agar, pré ensemencé en masse avec le germe-cible, et coulé en boîtes de Pétri. Celles-ci sont mises à 4°C pendant 2 h avant d'être incubées à 30°C. La lecture des résultats se fait par mesure de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques après 18 à 24 h d'incubation (Toumatia, 2015) (Figure 9).

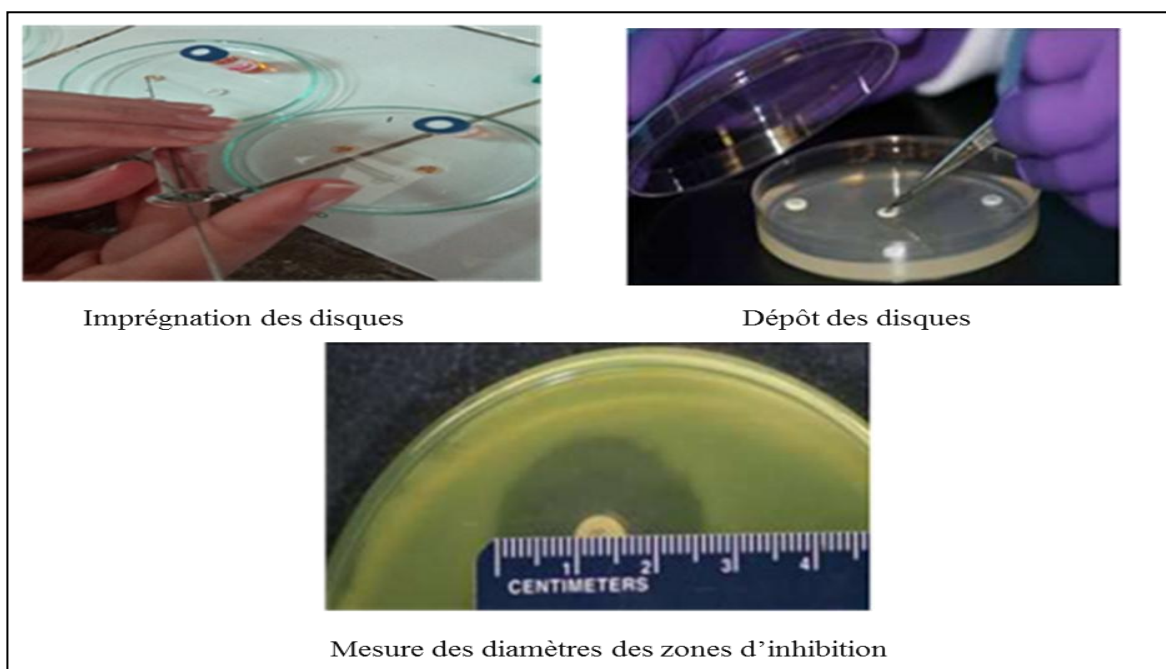


Figure 9: Illustration de la méthode d'antibiogramme.

4. Analyse de l'extrait brut de la souche TAM13 par HPLC

L'appareil HPLC utilisé, est de marque Agilent®, équipé des éléments suivants:

- injecteur de type 1260 HTS relié à une boucle d'injection de 100 μ L;
- passeur de type automatique 1260 Infinity;
- système de pompe quaternaire 1260 VL (capacité 600 bars et 4 solvants);
- détecteur UV-visible: dual bande type Waters 2487;
- détecteur DAD 1260 Infinity;
- dégazeur standard 1260 Infinity;

Matériel et méthodes

- une colonne à phase inverse, de type ZORBAX SB-C18 (5 μm , 9,4 x 250 mm), avec sa pré-colonne Waters XBridge C18 (5 μm , 10 x 10 mm);
- logiciel de pilotage, d'acquisition et d'intégration des données : ChemStation for LC 3D systems, version B. 04. 03.

La phase mobile est binaire, elle est constituée par un mélange filtré et dégazé d'eau bidistillée et de méthanol, elle progresse selon un gradient continu de 50 à 100% de méthanol dans l'eau pendant 30 min, le débit d'élution est fixé à 1 ml/min et la détection se fait à deux longueurs d'onde 220 nm et à 450 nm. A 220 nm, tous les composés (colorés et non colorés) sont détectés mais à 450 nm, seules les composés colorés sont repérables.

L'extrait organique obtenu après l'extraction initiale, qui a été réalisée à partir des cultures poussées sur le meilleur milieu et pendant la durée nécessaire à la production maximale d'antibiotique, est séché, solubilisé dans 1 ml de méthanol, ultrafiltré à l'aide d'un filtre de 0,2 μm de porosité et mis dans une Vial HPLC, puis introduit dans l'appareil (HPLC) à raison de 80 μL par injection, après un conditionnement et un équilibrage de la colonne pendant 10 min. Les différentes fractions obtenues sont matérialisées dans le chromatogramme sous forme de pics (Bouznada, 2018).

La figure 10 résume les différentes étapes d'extraction et d'analyses des extraits.

5. Etudes spectroscopiques (Spectres UV-visible)

Les spectres d'absorption dans l'UV-visible, des pics obtenus dans le profil HPLC de l'extrait organique de la souche TAM 13, ont été perçus à partir de l'appareil HPLC, par la sélection de l'option « Spectrum » dans le logiciel de pilotage de l'appareil.

Matériel et méthodes

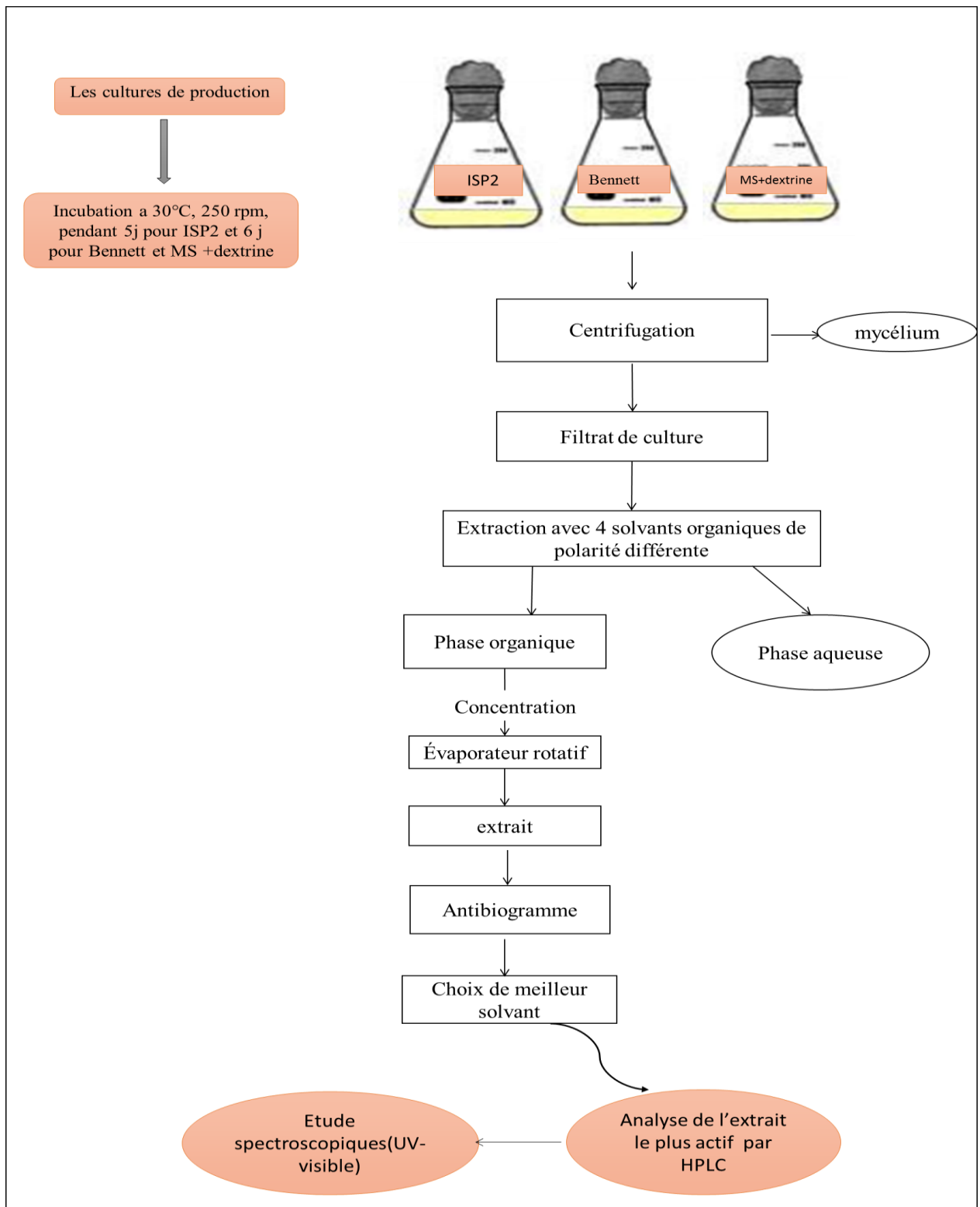


Figure 10: Schéma général des étapes d'extraction et d'analyse de l'extrait brut de la souche TAM13.

I. Résultat

1. Mise en évidence de l'activité antagoniste de la souche TAM13 sur milieu solide

La souche TAM13 de *Saccharothrix* sp. a été testée pour son pouvoir antimicrobien, par la méthode des cylindres d'agar, contre plusieurs germes cibles. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 7.

Tableau 7: Activité antagoniste de l'isolat TAM13 de *Saccharothrix* sp. contre les germes -cibles par la méthode des cylindres d'agar.

Microorganismes cibles	Sa 639c	Sa S	Bs	Lm	Ec	Kp	S54	U r	Ao	Ac	Pe	Fc
Diamètre de zone d'inhibition (mm) *	17	36	15	26	27	20	9	-	-	-	-	-

* Le diamètre du cylindre d'agar (10 mm) n'est pas compris.

Note: **Sa 639c:** *Staphylococcus aureus* 639c, **Sa S:** *Staphylococcus aureus* S, **Lm:** *Listeria monocytogenes*, **Bs:** *Bacillus subtilis*, **Ec:** *Escherichia coli*, **Kp:** *Klebsiella pneumoniae*, **S54:** *Acinetobacter baumannii*, **Fc:** *Fusarium culmorum*, **Ur:** *Umbelopsis ramanniana*, **Ac:** *Aspergillus carbonarius*, **Pe:** *Penicillium expansum*.

Les résultats ont montré une activité variable de la souche TAM13 vis-à-vis les germes cibles testés. Cette souche a présenté un effet antibactérien important contre les quatre bactéries à Gram positif, avec une zone d'inhibition plus importante contre Sa S (36 mm), ainsi que les bactéries à Gram négatif avec une meilleure action contre *E. coli* (27 mm). Cependant, cette souche n'a montré aucune activité antifongique vis à vis tous les champignons filamenteux testés.

2. Cinétique de croissance, de pH et de production des antibiotiques par la souche TAM13 en milieu liquide

Une cinétique de croissance, de pH et de production des molécules bioactifs par la souche TAM13, a été suivie pendant 8 jours, sur trois milieux de cultures liquides, pour la recherche d'un milieu favorable à la production des molécules antimicrobiens par la souche TAM13. L'activité antibactérienne a été suivie contre les trois bactéries les plus sensibles, à savoir *S. aureus* (la souche Sa S), *E. coli* et *L. monocytogenes*.

Résultat et discussions

• Milieu ISP2

La courbe de croissance débute par une phase d'accélération brève (j0-j1), suivi d'une phase exponentielle entre le 1^{er} et 3^{ème} jour, puis une phase de déclin entre le 3^{ème} et le 5^{ème} jour, au-delà du 5^{ème} jour, il est noté l'apparition d'une deuxième phase exponentielle, précédé d'une légère stabilisation entre le 5^{ème} et le 6^{ème} jour ce qui rappelle une croissance cryptique.

Le pH initial de 7,2 diminue légèrement pendant les 4 premiers jours d'incubation, puis il augmente pour atteindre 8,17 au 8^{ème} jour.

La production de molécules antibactériennes contre *E. coli*, et *L. monocytogenes*, débute dès le 2^{ème} jour de la cinétique. Elle augmente progressivement et atteint son maximum le 5^{ème} jour (26 mm pour *E. coli* et 23 mm pour *L. monocytogenes*). L'activité contre Sa S, n'est remarquée qu'à partir du 4^{ème} jour (21 mm), elle augmente progressivement, pour atteindre un pic de 26 mm au 6^{ème} jour (Figure 11 et 12).

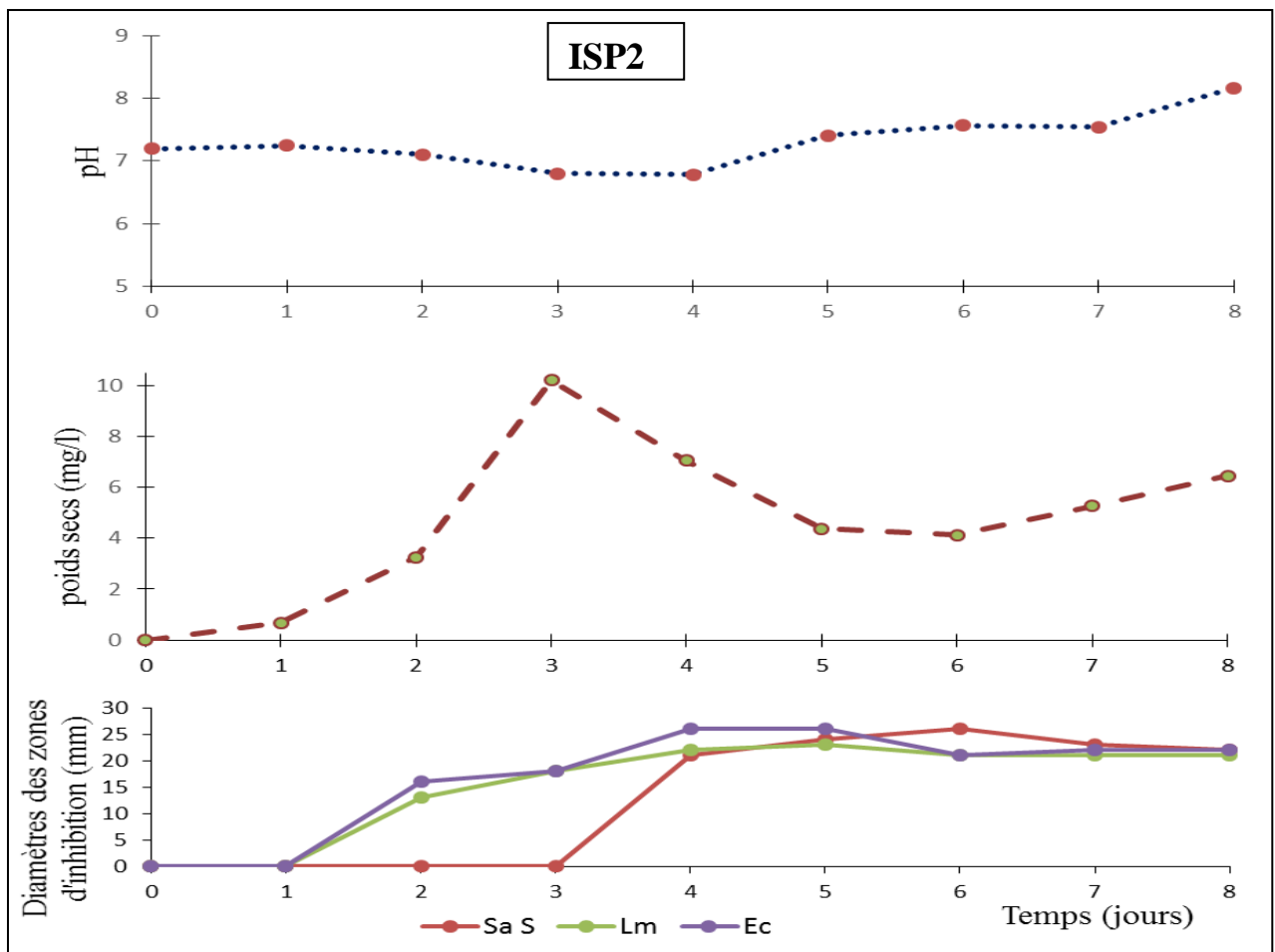


Figure 11: Cinétique de pH, de croissance et de production des antibiotiques par la souche TAM13 sur milieu ISP2 liquide.

-Le diamètre des puits (10 mm) n'est pas inclus dans les valeurs des zones d'inhibition.

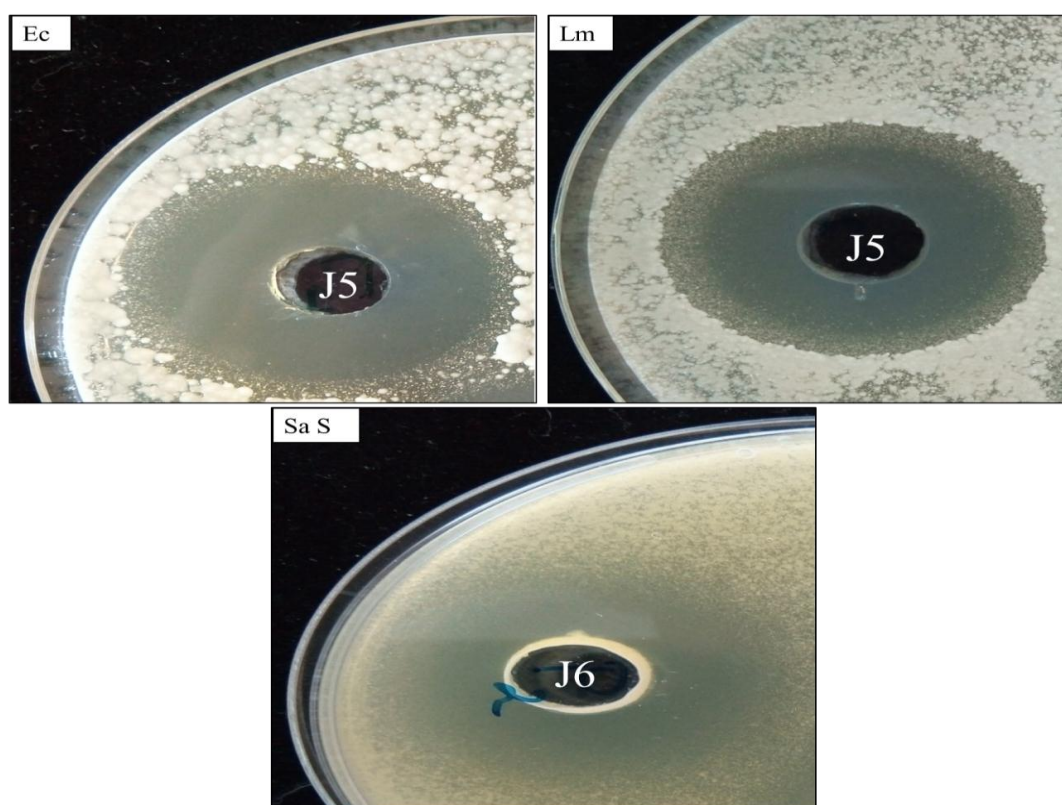


Figure 12: Activité antimicrobienne de la souche TAM13 sur milieu ISP2 liquide, contre: *Escherichia coli* (**Ec**), *Listeria monocytogenes* (**Lm**) et *Staphylococcus aureus* (**Sa S**), au meilleur jour de la production des antimicrobiens.

- **Milieu Bennett**

La croissance de la souche TAM13 en milieu Bennett, a commencée par une phase de croissance (phase d'accélération et phase exponentielle confondues) entre le 1^{er} et le 3^{ème} jour, suivie d'une phase stationnaire entre le 3^{ème} et le 4^{ème} jour, puis une autre phase exponentielle entre le 4^{ème} et le 5^{ème} jour, ce qui rappelle le phénomène de diauxie (croissance biphasique) et enfin une phase de déclin, qui s'étend du 5^{ème} jour jusqu'au dernier jour de la cinétique.

Le pH a subi une légère augmentation entre le 1^{er} et le 3^{ème} jour d'incubation (7,23 à 7,73), suivie d'une acidification remarquable du milieu pendant les derniers jours de la cinétique.

Sur le milieu Bennett, l'activité antibactérienne est décelée au 2^{ème} jour contre *E. coli* (8 mm), au 3^{ème} jour contre *L. monocytogenes* (9 mm) et au 4^{ème} jour contre *S. aureus* (12 mm). Les activités maximales (entre 15 et 16 mm), sont obtenues entre le 6^{ème} et le 7^{ème} jour. (Figure 13 et 14).

Résultat et discussions

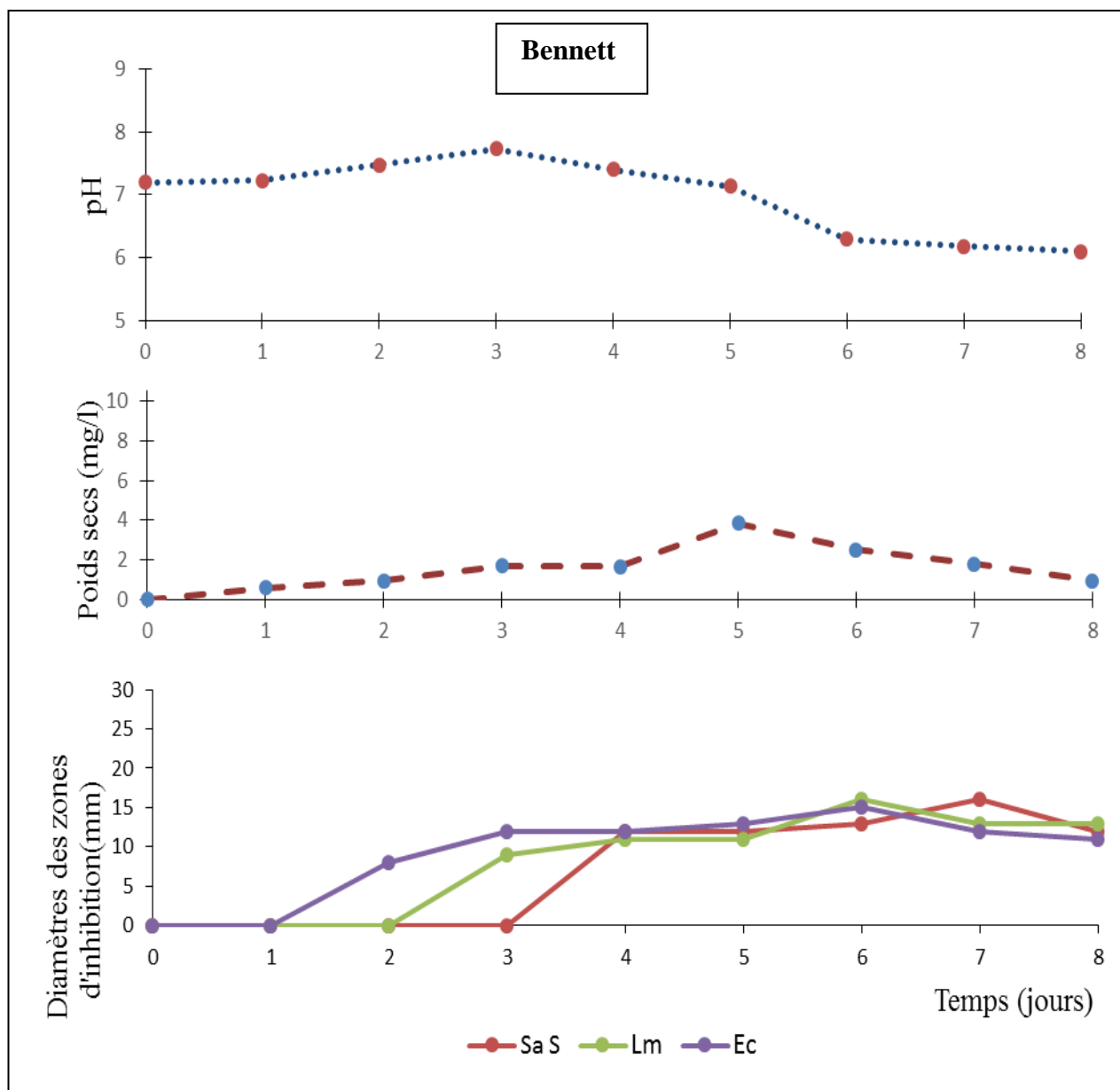


Figure 13: Cinétique de pH, de croissance et de production des antibiotiques par la souche TAM13 sur milieu Bennett.

- Le diamètre du puits (10 mm), n'est pas inclus dans les valeurs des zones d'inhibition.

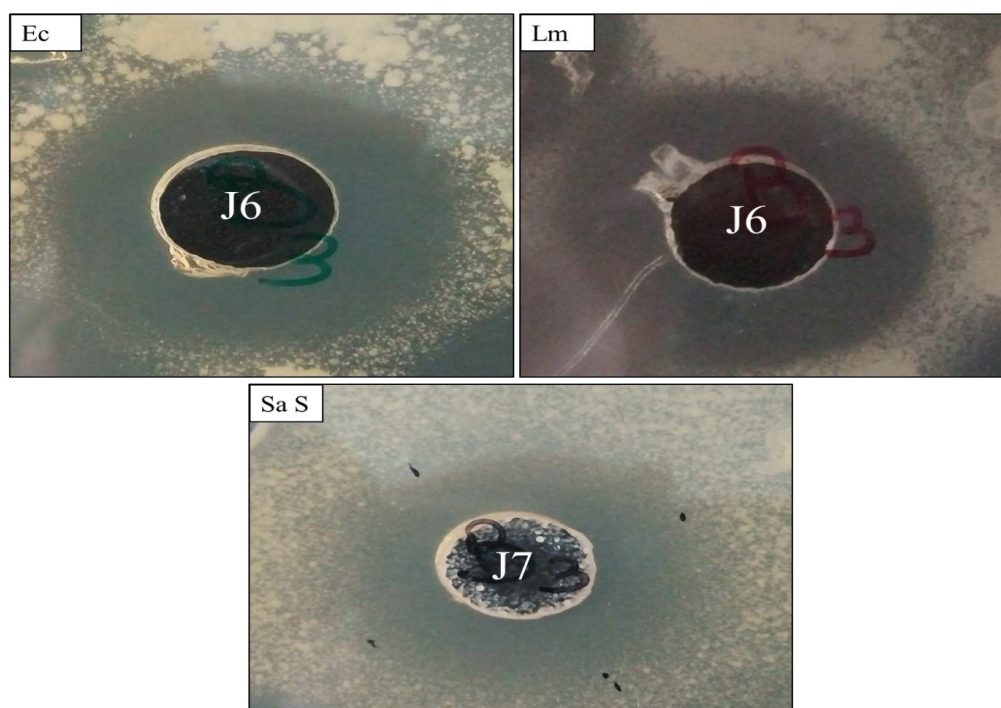


Figure 14 : Activité antimicrobienne de la souche TAM13 sur milieu Bennett liquide, contre: *Escherichia coli* (**Ec**), *Listeria monocytogenes* (**Lm**) et *Staphylococcus aureus* (**Sa S**), au meilleur jour de la production des antimicrobiens.

- **Milieu MS additionnée de dextrine**

La souche TAM13 en milieu MS additionné de la dextrine, a suivi une croissance qui débute par des phases d'accélération et exponentielle confondues, qui évolues très lentement dans les six premiers jours de la cinétique, pour atteindre son maximum, puis une phase de déclin jusqu'à la fin de la cinétique.

Le pH du milieu ne varie que légèrement, il est relativement stable durant toute la période de l'incubation.

En présence de dextrine comme seule source de carbone dans ce milieu, l'activité antibactérienne vis-à-vis *L. monocytogenes* est détectée dès le 1^{er} jour de la cinétique (3 mm), elle augmente progressivement, pour atteindre une valeur maximale de 21 mm lors du 6^{ème} jour. L'activité contre *E. coli*, est remarquée le 2^{ème} jour de la cinétique (16 mm), une production maximale est obtenue le 6^{ème} jour (20 mm). Aucune activité antibactérienne contre *S. aureus* n'est enregistrée durant les premiers jours de la cinétique, elle n'est apparue qu'à partir du 5^{ème} jour (14 mm), cette activité évolue légèrement pour atteindre son maximum au dernier jour de la cinétique (16 mm).

Résultat et discussions

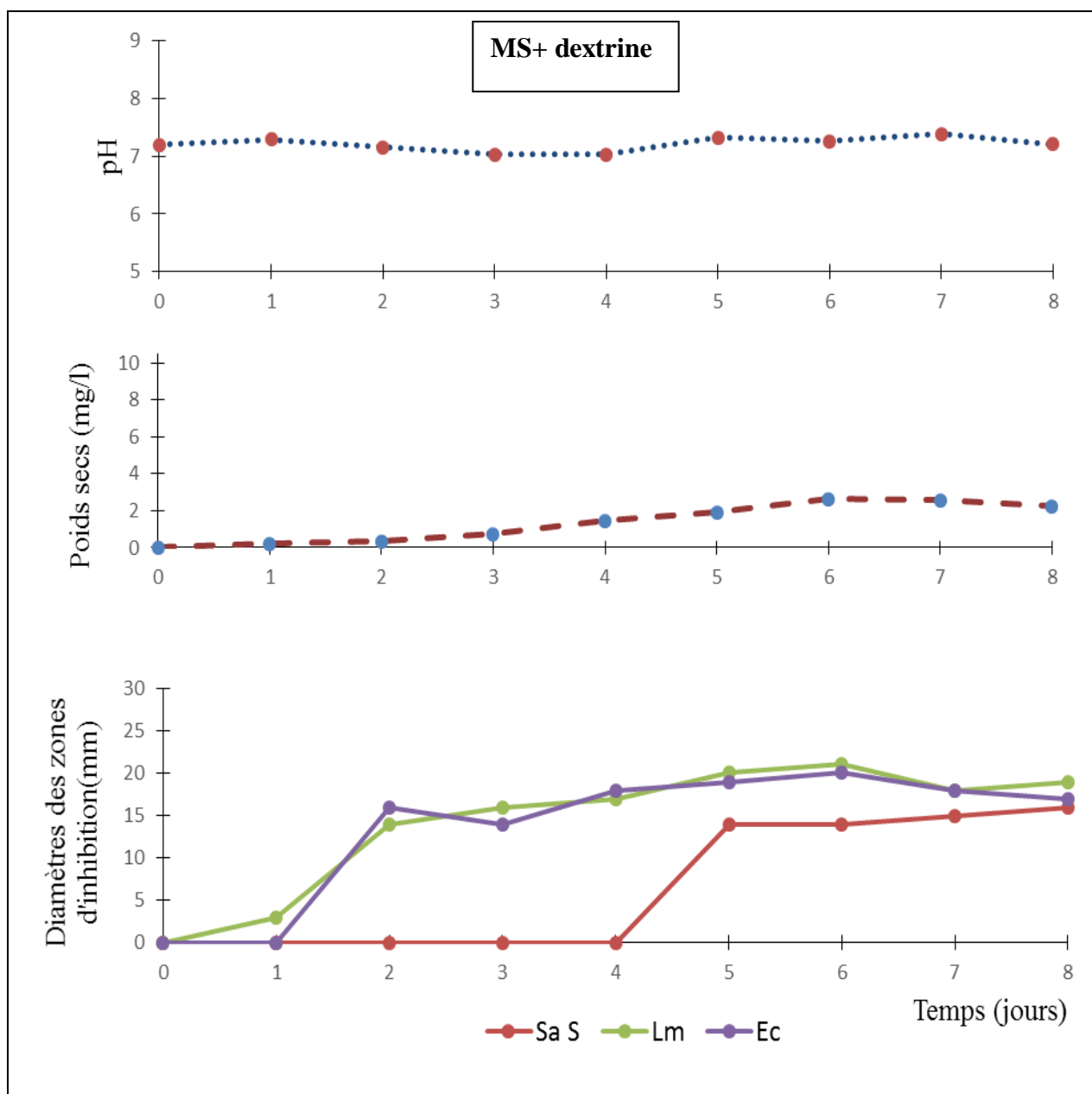


Figure 15: Cinétique de la production des antibiotiques par la souche TAM13 sur milieu MS additionné à la dextrine.

- Le diamètre du puits (10 mm) n'est pas inclus dans les valeurs des zones d'inhibition.

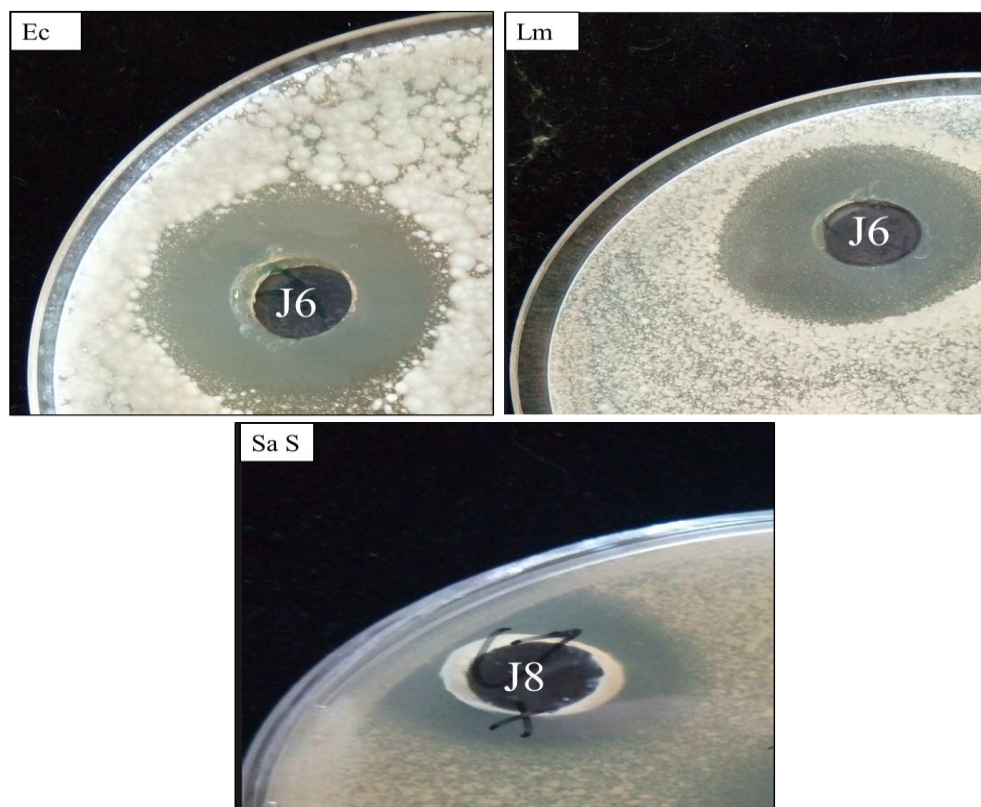


Figure 16 : Activité antimicrobienne de la souche TAM13 sur milieu synthétique liquide additionné de dextrine, contre: *Escherichia coli* (**Ec**), *Listeria monocytogenes* (**Lm**) et *Staphylococcus aureus* (**Sa S**), au meilleur jour de la production des antimicrobiens.

3. Extraction des composés actifs et antibiographie

Les molécules bioactives secrétées par *Saccharothrix* TAM13 sur milieux ISP2, Bennett et MS supplémenté de dextrine ont été extraites dans les jours de production optimale (le 5^{ème} jour pour ISP2 et le 6^{ème} jour pour les milieux Bennett et MS-dextrine). Les extraits organiques ont été testés par la méthode d'antibiographie contre *L. monocytogenes*, *E. coli* et *S. aureus* (Sa S) (Figure 17).

Des activités antimicrobiennes sont notées dans les phases organiques des extraits de tous les solvants utilisés, en particulier les solvants polaires à savoir le *n*-butanol, l'acétate d'éthyle et le dichlorométhane. Ce dernier s'est montré le meilleur solvant d'extraction des molécules bioactives secrétées dans les trois milieux utilisés (Tableau 8).

Le dichlorométhane sera donc retenu pour la suite de nos expérimentations pour l'extraction des composés bioactifs car il extrait une bonne activité antimicrobienne. L'extrait brut au dichlorométhane est de couleur rouge vif.

Résultat et discussions

Tableau 8: Activités antimicrobiennes de la phase organique de la souche TAM13 de *Saccharothrix* sp.

Solvants d'extraction	Milieux	Diamètres d'inhibition (mm) contre		
		<i>S. aureus</i> (Sa S)	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>
H	P2	02	12	14
	Bennett	-	04	08
	MS-dextrine	01	08	10
D	P2	26	34	30
	Bennett	27	24	26
	MS-dextrine	26	30	27
A	P2	24	33	29
	Bennett	22	23	24
	MS-dextrine	23	30	27
B	P2	23	30	25
	Bennett	23	26	22
	MS-dextrine	22	28	23

- Le diamètre du disque de papier (6 mm) n'est pas compris dans les mesures.

H: *n*-Héxane, **D:** Dichlorométhane, **A:** Acétate d'éthyl, **B:** *n*-butanol.

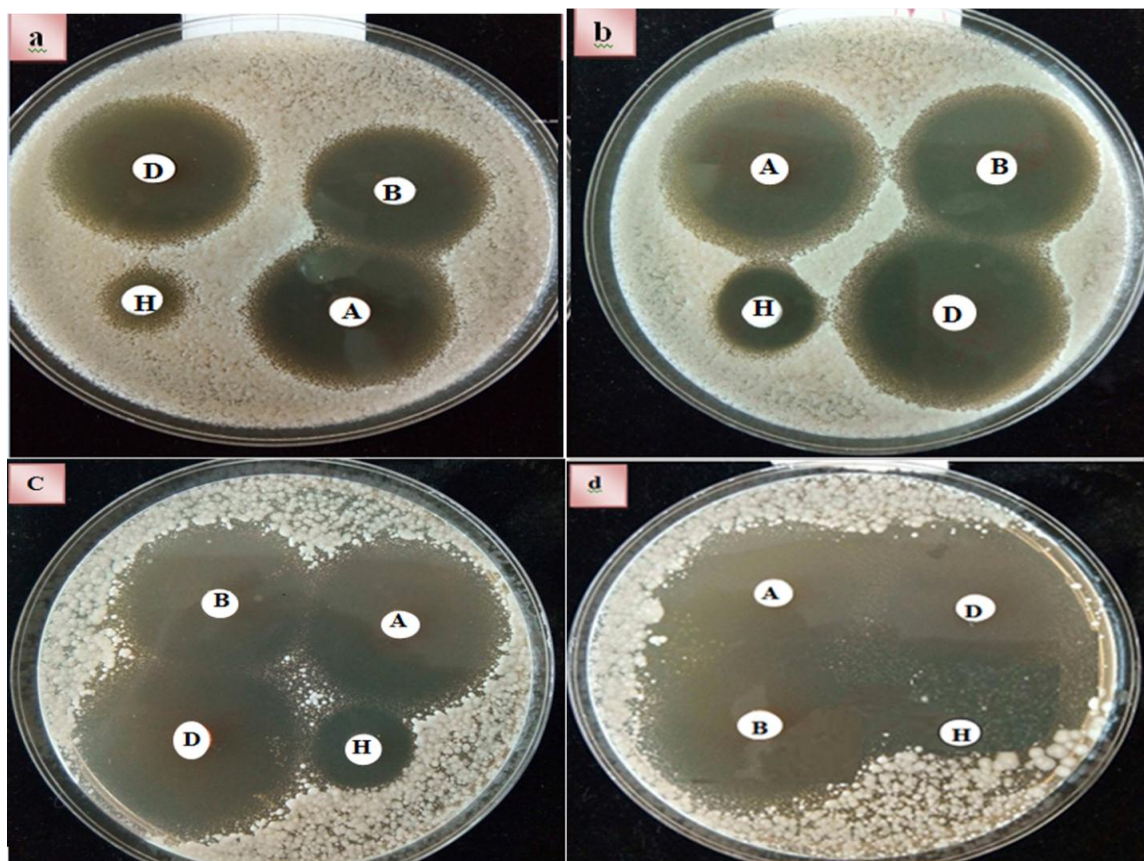


Figure 17: Activité antibactérienne des extraits organiques de la souche TAM13.

a: *L. monocytogenes* sur milieu Bennett, **b:** *L. monocytogenes* sur milieu ISP2, **c:** *E. coli* sur milieu ISP2, **d:** *E. coli* sur milieu Bennett.

4. Analyse des antibiotiques par HPLC

L'analyse par HPLC a été effectuée pour l'extrait au dichlorométhane provenant de la culture de la souche TAM13 sur le milieu ISP2 incubé pendant 5 jours à 30°C. La détection se fait à 220 nm et à 450 nm. A 220 nm l'extrait organique de la souche TAM13 a donné plusieurs pics récoltés en 9 fractions (nommées de F1 à F9) non colorées à l'exception de la fraction F8. Trois pics sont majoritaires (**F5**, **F6**, **F8**) et 6 pics sont minoritaires (**F1**, **F2**, **F3**, **F4**, **F7**). En revanche, une seule fraction (**F8**) est détectée à 450 nm car les fractions non colorées n'absorbent pas à cette longueur d'onde (Figure 18).

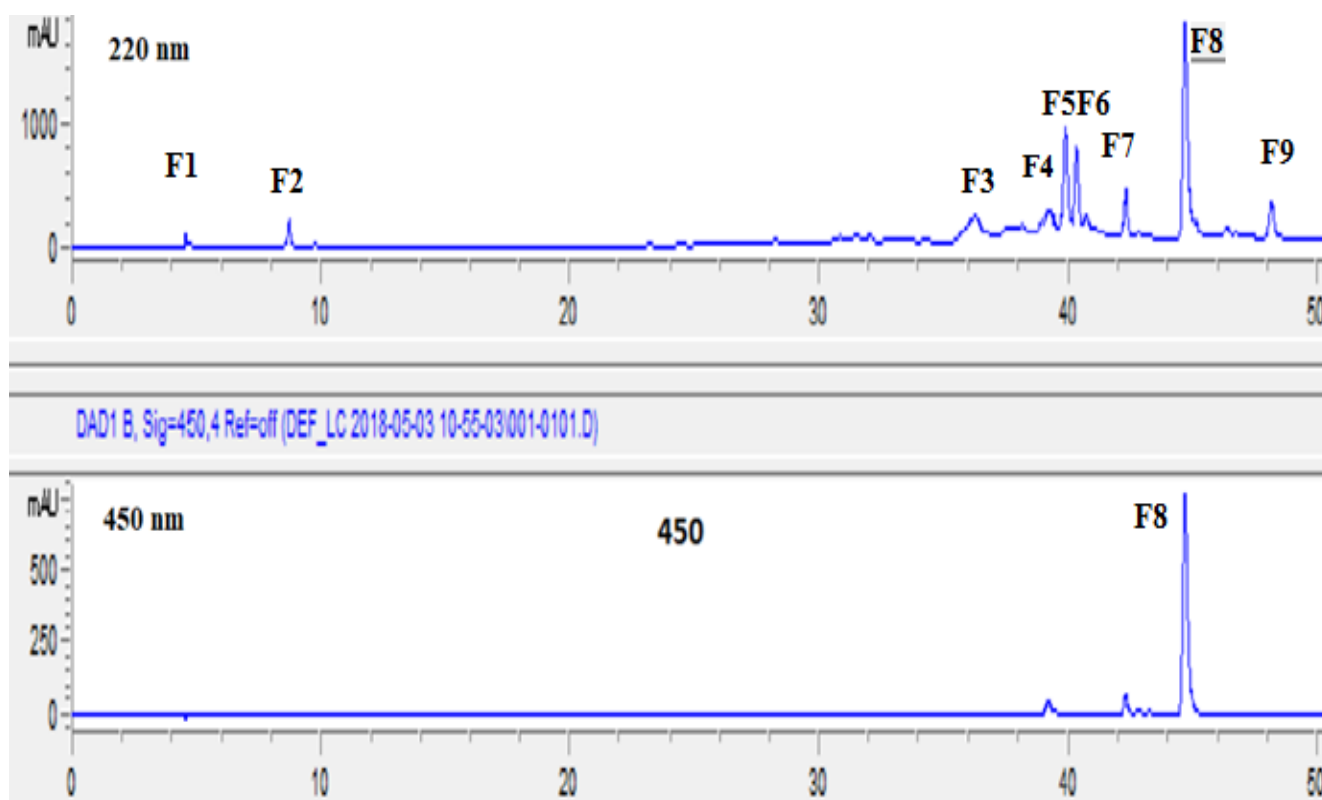


Figure 18: Profil d'éluion en HPLC analytique obtenu à 220 nm et à 450 nm de l'extrait au dichlorométhane de la souche TAM13.

5. Analyse spectroscopiques des Fractions majoritaires de l'extrait au dichlorométhane

Les fractions majoritaires de l'extrait au dichlorométhane (**F5**, **F6** et **F8**) de la souche TAM13 ont été analysées par spectroscopie UV-visible. Les spectres UV-visible obtenus ont montré différents maxima d'absorptions avec des épaulements pour certaines. La fraction **F5** possède 2 maxima d'absorption, à 220 nm et à 269 nm, la fraction **F6** possède également 2 maxima d'absorption, à 220 nm et à 280 nm et enfin le spectre UV de la fraction majoritaire **F8** indique la présence de 4 pics d'absorption maximale à 220 nm, à 257 nm, à 292 nm et 494 nm (Figure 19).

Résultat et discussions

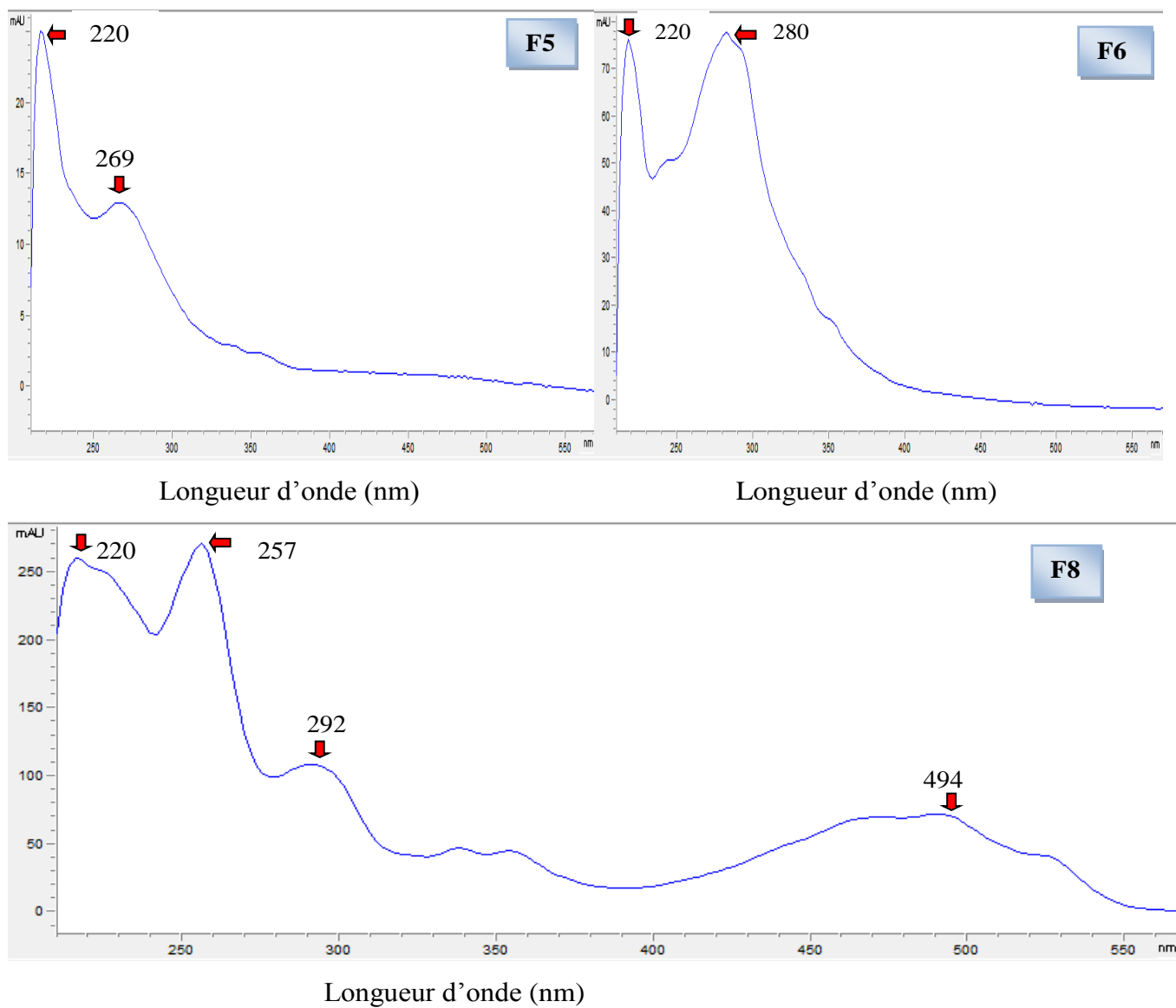


Figure 19: Spectre d'absorption dans l'UV-visible des fractions majoritaires **F5, F6 et F8**.

II. Discussion

La souche TMA13 cultivée sur le milieu ISP2, est active contre toutes les bactéries testées. Il est nécessaire de signaler que ce milieu est complexe, il est riche en éléments nutritifs, il fournit des facteurs de croissance et d'autres précurseurs qui favorisent la production des antibiotiques par les souches d'actinobactéries, ce milieu est choisi sur la base des résultats satisfaisants obtenus lors des travaux antérieurs de: Badji *et al.* (2006) et Omran Kadhem (2016).

Cette étude a démontré la capacité de la souche étudiée à produire des substances antibactériennes à large spectre. En effet d'autres travaux antérieurs ont montré des propriétés antagonistes intéressantes des espèces appartenant au genre *Saccharothrix* (Lamari *et al.*, 2002; Zitouni *et al.* 2004a; Merrouche *et al.*, 2011; Aouiche *et al.* 2012; Boubetra, 2013 et Bouznada, 2018) . Le genre *Saccharothrix* est connu comme regroupant des souches et des espèces productrices de plusieurs antibiotiques à spectre d'action assez large. Ces antibiotiques appartiennent à des familles et à des groupes différents tels que, les aminoglycosides et les benzoquinones (Takahashi *et al.*, 1986), les glycopeptides (Takeuchi *et al.*, 1992), les nucléosides carboxyliques (Bush *et al.*, 1993), les heptadécaglycosides (Singh *et al.*, 2000), les dithiopyrrolones (Lamari *et al.*, 2002; Merrouche *et al.*, 2010; Merrouche *et al.*, 2011), les anthracyclines (Zitouni *et al.*, 2004a), les macrolides (Powell et Roush, 2001; Zitouni, 2005; Murakami *et al.*, 2009), les angucyclines (Kalinovskaya *et al.*, 2010) et les aromatiques benzéniques (Aouiche *et al.*, 2012) et les cyanogrisides (Lahoum, 2017).

Une activité antimicrobienne assez forte de cette souche est surtout dirigée contre les bactéries à Gram positifs et les bactéries à Gram négatif, tandis qu'aucune activité inhibitrice n'a été observée vis-à-vis les champignons filamenteux. Les résultats obtenus par plusieurs auteurs ont mentionné que la plupart des antibiotiques sécrétés par les souches de *Saccharothrix* ciblent surtout les bactéries à Gram positif et que cette activité est rarement dirigée contre les bactéries à Gram négatif. Cependant les espèces de *Saccharothrix* sont connues pour la production des antifongiques contrairement à notre souche (Takeuchi *et al.*, 1992; Kinoshita *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2000; Lamari *et al.*, 2002; Zitouni, 2005).

Contrairement à la croissance de la souche TAM13 sur le milieu ISP2, la courbe de croissance en milieu Bennett, est caractérisée par la présence de deux phases exponentielles (phénomène de diauxie), qui est observés dans certains cas, lorsque le milieu contient deux sources de carbones (Prescott *et al.*, 2013). Toutes fois, ce phénomène peut également se manifester en présence d'une seule source de carbone et une d'azote. En effet, Strub (2008), a montré l'apparition

Résultat et discussions

de ce type de croissance chez *Saccharothrix algeriensis*, sur un milieu semi synthétique avec une seule source de carbone (glucose) et une source d'azote (petite quantité de l'extrait de levure). Les acides aminés de l'extrait de levure sont utilisés en premier temps par l'actinobactérie, durant la première phase exponentielle et le glucose majoritairement au cours de la deuxième phase de croissance. Les mêmes résultats ont été obtenus sur d'autres souches de *Saccharothrix* (Boubetra, 2013; Toumatia, 2015; Lahoum, 2017; Bouznada, 2018).

Le pH de milieu Bennett, qui contient (le glucose, la peptone et l'extrait de levure), a subi une augmentation dans les premiers temps, puis une acidification vers la fin de la cinétique (6,1). En effet, nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Boubetra en 2013, qui montre que le pH devient alcalin en premier temps après une utilisation d'extrait de levure et de peptone puis devient acide, suite à la dégradation des glucides présents dans le milieu de culture. Le pH du milieu ISP2, a baissé durant les premiers jours de la croissance, puis il subit une augmentation, et le milieu devient basique (8,17) durant la deuxième phase de croissance. Le milieu que nous avons utilisé (ISP2) est assez complexe. Il contient du glucose, de l'extrait de levure et une grande quantité d'extrait de malt. L'actinobactérie acidifie le milieu en utilisant les glucides comme sources de carbone et d'énergie. Ceci a déjà été signalé chez des actinobactéries en général, et notamment chez les *Saccharothrix* comme *Sa. algeriensis*, *Saccharothrix* sp. PAL54 et *Saccharothrix* sp. SA198 (Strub, 2008; Aouiche, 2011; Boubetra, 2013). Nous avons notés que les variations du pH dans le milieu synthétique sont faibles, ce milieu contient du CaCO_3 . Bouras *et al.* (2006) a noté que le CaCO_3 présent dans un milieu synthétique joue un rôle de tampon. Il empêche les écarts importants et défavorables qui peuvent surgir sur la valeur du pH.

Nos résultats, montrent que le milieu ISP2 a donné une meilleure production des antibiotiques par la souche TAM13, suivi du milieu MS-dextrine et enfin le milieu Bennett. Plusieurs auteurs ont montré que le milieu ISP2 composé de glucose, d'extrait de levure et de l'extrait de malt est l'un des plus favorables milieux pour la production d'antibiotiques par les actinobactéries (Zitouni *et al.*, 2005; Badji, 2006; Boudjella, 2007; Aouiche, 2010; Boubetra, 2013; Toumatia, 2015; Lahoum, 2017; Bouznada, 2018). Le milieu Bennett contient une grande quantité du glucose par rapport au milieu ISP2, plusieurs travaux ont montré que le glucose présent en grande quantité dans le milieu, peut être à l'origine d'une répression catabolique lors de la production d'antibiotiques par certains microorganismes (Kimura, 1967; Kominek, 1972; Hurley et Bialek, 1974; Kennel et Demain, 1978). De même Zitouni *et al.* (2005) a montré un effet répressif de ce sucre, à une concentration de 10 g/l, sur la production d'antibiotiques nucléosidiques synthétisés par *Saccharothrix* sp. isolée d'un sol Saharien.

Résultat et discussions

Nous avons noté que la production des molécules bioactives par la souche TAM13 a eu lieu au cours de toutes les phases de sa croissance dans les différents milieux utilisés. Plusieurs auteurs ont signalé qu'en général, les microorganismes produisent les métabolites secondaires durant les phases de ralentissement et stationnaire, mais dans le cas des actinobactéries, cette production peut avoir lieu en phase exponentielle, stationnaire ou de déclin (Zitouni, 2005; Badji, 2006). À ce propos, Strub (2008) a montré que la production de la thiolutine (dithiopyrrolone) chez *Saccharothrix algeriensis*, débute en phase exponentielle, mais intervient surtout durant la phase stationnaire comprise entre deux phases exponentielles. Bouras (2005) a montré que la production des métabolites secondaires reste sous l'influence de plusieurs facteurs intrinsèques et/ou extrinsèques tels que les facteurs physicochimiques (pH, température, agitation et aération) et les facteurs nutritionnels (source de carbone, d'azote, de phosphate et les sels minéraux et les oligoéléments).

L'activité antibiotique des substances secrétées par *Saccharothrix* TAM13 a été mise en évidence dans la phase organique; le dichloromethane s'est avéré le meilleur solvant de point de vue extractibilité pour tous les milieux utilisés, ce qui est captivant car c'est le solvant qui extrait le moins d'impuretés, ce qui rend la purification par HPLC plus facile. Nos résultats obtenus concordent avec les résultats des travaux antérieurs réalisés par Merrouche (2012), Boubetra (2013), Aouiche (2013) et Toumatia (2015).

L'analyse par HPLC de l'extrait organique au dichlorométhane a donné plusieurs pics récoltés en 9 fractions. Trois pics sont majoritaires (**F5, F6, F8**) et 6 pics sont minoritaires (**F1, F2, F3, F4, F7**). Chaque pic peut correspondre à un antibiotique de nature chimique différente, selon la littérature les souches et les espèces de *Saccharothrix* ont montré la capacité de produire un grand nombre d'antibiotiques, telle que *Saccharothrix algeriensis* qui produit plus d'une vingtaine de molécules d'antibiotiques appartenant à la famille des dithiopyrrolones (Lamari *et al.*, 2002; Merrouche *et al.*, 2010 et Merrouche *et al.* 2011). Cependant les tests d'activités pour chaque fraction sont nécessaires, pour s'assurer qu'il s'agit bien d'une molécule bioactive.

Les maxima d'absorption des fractions F5 et F6 dans l'UV-visible montrent que l'on est en présence de molécules bioactives pouvant posséder des structures proches. En revanche le produit F8 qui est un produit coloré en rouge absorbe non seulement dans l'UV mais aussi dans le visible (494 nm). Pour l'ensemble des composés les bandes d'absorption comprises entre 200 et 300 nm évoquent la présence probable d'un aromatique (Yekkour, 2013) et le maxima d'absorption à 494 nm pourrait signifier de la présence probable d'un antibiotique de la famille des anthracyclines. En effet, les anthracyclines, comme par exemple la mutactimycine PR et la mutactimycine C qui ont

Résultat et discussions

déjà été caractérisées chez une autre souche de *Saccharothrix* sp. (Zitouni *et al.*, 2004b et c) absorbent à des longueurs d'ondes comprises entre 490 et 500 nm (très proches de notre produit).

Références bibliographiques

A

Ait Barka E., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Klenk HP., Clément C., Ouhdouch Y., Gilles P. and Wezel V. (2015). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of *Actinobacteria*. *Microbiol Mol Biol Rev.*, **80**:1-43.

Andermont A. (1993). Antibiogramme : données générales sur les modes d'action et les mécanismes de résistance. *Rev. Prat, Paris*, *43*, *19*, PP. 2545-2547.

Aouiche A. (2010). Recherche sur les actinomycètes des sols de Ghardaïa antagonistes de microorganismes pathogènes et toxigènes pour l'homme: isolement, taxonomie et caractérisation des molécules actives. Université Djillali Liabes de Sidi-bel-abbes.

Aouiche A. (2011). Recherche sur les actinomycètes des sols de Ghardaïa antagonistes de microorganismes pathogènes et toxigènes pour l'Homme : isolement, taxonomie et caractérisation des molécules actives. Mémoire de Magister en microbiologie, Université Djillali Liabès de Sidi-Bel-abbès. P 127.

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

Aouiche A. (2013). Taxonomie et antibiotiques de quelques souches de *Streptomyces* et de *Saccharothrix* des sols de Ghardaïa actives contre des microorganismes pathogènes et toxigènes pour l'homme. Thèse de Doctorat. École Normale Supérieure de Kouba, Alger.P 159.

Aszalos A. (1986). Modern analysis of antibiotics. Drugs and the pharmaceutical sceineces. Vol. 27. Ed, Marcel Dekker, Inc.

B

Badji B, Zitouni A, Mathieu F, Lebrihi A. and Sabaou N. (2006). Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura* sp. AC104, isolated from an Algerian Saharan soil. *Can. J. Microbiol.* **52**: 373-382.

Baldacci E. (1962). Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. *Ann Soc Belge Méd trop.*, **4**: 633-646.

Barret D. (2002). From natural products to clinically useful antifungals. *Biochemica Biophysica Acta.*, **1587**: 224-233.

Basak K. and Majumdar S.K. (1973). Utilization of carbon and nitrogen source by *Streptomyces kanamyceticus* for kanamycin production. *Antimicrob Agents Chemother.*, **4**: 6-10.

Références bibliographiques

- Bassirou fall M. (1999).** Evaluation de la prescription des Antibiotiques dans la region de Kaolack (Sénégal).Thèse de Doctorat en pharmacie à universite Cheikh Anta Diop de Dakar.
- Bastide A., de Méo M., Andriantsoa M., Laget M. et Duménil G. (1986).** Isolement et sélection de souches d'actinomycète tes productrices de substances antifongiques de structure non-polyéniques. *Mircen Journal.*, **2** : 453-466.
- Benabbou T.A. (2012).** Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens. Magister en biotechnologie. Option Ecosystemes microbiens complexes, Oran. P 113.
- Berdy J. (2005).** Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiot.* (Tokyo). **58**: 1-26.
- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. (2012).** The Actinobacteria. Editors: **Whitman W. B., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H. J., Trujillo M. E., Ludwig W., Suzuki K. I. and Parte A.** Vol. 5. 2nd Edition. P 2083.
- Bouali H., Hamza K., Bouras N., Aouiche A., Meklat A., Mokrane S., Hamza k et Sabaou N. (2017).** Effet de milieux de culture sur la croissance et la production de chloramphenicol chez deux souches de saccharothrix sp PAL 54 et PAL 42 isolees d'un sol de la palmeraie de Ghardaïa. *Algerian journal of arid environment.* P 74.
- Boubetra D. (2013).** Nouvelles espèces de *Saccharothrix* isolées des sols sahariens et nouveaux antibiotiques secrétés par *Saccharothrix* sp. SA198. Doctorat en sciences alimentaires, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie. P 157.
- Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H. P. and Sabaou N. (2013a).** *Saccharothrix saharensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Algerian Saharan soil. *Int.J. Syst. Evol. Microbiol.* **63** (10): 3744-3749.
- Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Sproer C., Klenk H. P. and Sabaou N. (2013b).** *Saccharothrix hoggarensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **63** : 549-553.
- Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Schumann P., Spröer C., Klenk H. P. and Sabaou N. (2015).** *Saccharothrix tamanrassetensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **65**: 1316-1320.
- Boudjella H., Bouti K., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2006).** Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium* Sg 10 isolated from a Saharan soil. *Microbiol. Res.* **161** (4) : 288-298.
- Boudjella H. (2007).** Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens. Caractérisation des principaux antibiotiques secrétés par ces derniers. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger. P 188.

Références bibliographiques

- Boudjelal F., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2011).** Taxonomic study and partial characterization of antimicrobial compounds from a moderately halophilic strain of the genus *Actinoalloteichus*. *Braz. J. Microbiol.* **42**: 835-845.
- Bouras N. (2005).** Régulation de la production d'antibiotiques dithiopyrrolones chez *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. France.
- Bouras N., Mokrane S., Bouras H. D., Kemassi A., Brandam C., Lebrihi A., Mathieu F. et Sabaou N. (2015).** Etude cinétique de la croissance de *Saccharothrix algeriensis* DSM 44581 en fermenteur batch sur un milieu semi-synthétique en présence d'acide tiglique et d'acide méthacrylique. *Revue Elwihat pour les Recherches et les Etudes*.
- Bouznada K., Bouras N., Mokrane S., Chaabane Chaouche F., Zitouni A., Pötter G., Spröer C., Klenk H. P and Sabaou N. (2016).** *Saccharothrix isguenensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from desert soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* **66** : 4785-4790.
- Bouznada K., Bouras N., Mokrane S., Chaabane Chaouche F., Zitouni A., Pötter G., Spröer C., Klenk H. P and Sabaou N. (2017).** *Saccharothrix ghardaiensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. *Antonie van Leeuwenhoek.* **110**:399-405.
- Bouznada K. (2018).** *Saccharothrix* et genres apparentés des sols de la région du M'Zab : Isolement, Taxonomie, Mise en évidence de nouvelles espèces et production d'antibiotiques contre divers microorganismes pathogènes. Thèse de doctorat en microbiologie, ENS de Kouba, Alger. P 201.
- Bull AT. and Stach J. (2005).** Marine actinobacteria: perspectives, challenges, future directions. *Antonie Van Lee.* **87**: 65-79.
- Bush B. D., Fitchett G. V., Gates D. A. and Langely D. (1993).** Carbocyclic nucleosides from a species of *Saccharothrix*. *Phytochem.* **32** (3): 737-739.

C

- Cai Y., Xue Q., Chen Z. and Zhang R. (2009).** - Classification and salt-tolerance of actinomycetes in the Qinghai Lake water and Lakeside saline soil. *J. Sustainable Dev.* **2**: 107-110.
- Cheng Y. R., Fang A., et Demain A. L. (1995).** Effect of amino acids on rapamycin biosynthesis by *Streptomyces hygroscopicus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **43** (6): 1096-1098.

Références bibliographiques

Cortès J., Liras P., Castro J. M. and Martin J. M. (1986). Glucose regulation of cephamycin biosynthesis in *Streptomyces lactamdurans* exerted on the formation of alphaaminoadipyl-cysteiny-valine and deacetoxycephalosporin C synthase. *J. Gen Microbiol.* **132** : 1805-1814.

D

Demain A. L., Aharanowitz Y. et Martin J. F. (1983). Metabolite control of secondary biosynthetic pathways. In : Vining (Ed.) Biochemistry and genetic regulation of commercially important antibiotics. Addison-Wesley, London. PP 49-67.

Donadio S., Monciardini P., Alduina R., Mazza P., Chiocchini C., Cavaletti L., Sosio M. and Puglia A. M. (2002). Microbial technologies for the discovery of novel bioactive metabolites. *J Biotechnol.* **99** : 187-198.

Dwivedi D. and Johri B. N. (2003). Antifungals from fluorescent pseudomonads: Biosynthesis and regulation. *Curr. Sci.* **85**: 1693- 1703.

E

Euzéby J. P. (2015). List of prokaryotic names with standing in Nomenclature. Available online at : <http://www.bacterio.cict.fr>.

Euzéby J. P. (2017). List of bacterial names with standing in Nomenclature : a folder available on the internet. <http://www.bacterio.cict.net/-allnamesac.html>.

F

Flandrois J .C., Courco L., Lemeland T F., Ramuc M., Sirat J. and Souny C J. (1997). Bactériologie médicale. Press universitaire de Lyon. ISBN 27297 8.

G

Genilloud O., González I., Salazar O., Martin J., Tormo J. and Vicente F. (2011). Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 375- 389.

Gogny M., Puyt J. D., Pellerin J. L. (2000). Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire. Edition: le point vétérinaire. P165-168.

Goodfellow M. (2012). Actinobacteria phyl. nov. In: **Whitman W. B., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H. J., Trujillo M. E., Ludwig W., Suzuki K. I., Parte A** (Eds). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 5: The Actinobacteria. 2ème édition, Springer, New York. P 33.

Références bibliographiques

Goodfellow M., Williams S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Ann Rev Microbiol* **37**: 189-216.

Grund E. and Kroppenstedt R. M. (1989). Transfer of five *Nocardioopsis* species to the genus *Saccharothrix* Labeda et al. 1984. *Syst. Appl. Microbiol.* **12**: 267-274.

Gupte M., Kulkarni P. and Ganguli B. N. (2002). Antifungal antibiotics. *Appl Microbiol Biotechnol.* **58**: 46-57.

H

Hamza K., Bouali H., Bouras N., Bouallala M., Badji B., Klenk H. P. et Sabaou N. (2018). Effet des Monosaccharides sur la croissance et la production de chloramphenicol chez deux souches de *Saccharothrix Longispora* (PAL 54 et PAL 42) isolées d'un sol de la palmeraie de Chardaia. *African Review of Science, Technology and Development.* P50.

Hayakawa M. and Nonomura H. (1987). Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *J. Ferm. Technol.* **65** : 501-509.

Horvath G., Brazhnikova M., Konstantinova N., Tolstykh I. and Potapova N. (1979). The structure of nocamycin, a new antitumor antibiotic. *J. Antibiot* **32**(6) :555-558.

Hozzein W. N., Li W.J., Ali M. I. A., Hammouda O., Mousa A. S., Xu L. H. and Jiang C. L. (2004). *Nocardioopsis alkaliphila* sp. nov., a novel alkaliphilic actinomycete isolated from desert soil in Egypt. *Int J Syst Evol Microbiol.* **54** : 247-252.

Hu Y. T., Zhou P. J., Zhou Y.G., Liu Z.H. and Liu S.J. (2004). *Saccharothrix xinjiangensis* sp. nov., a pyrene-degrading actinomycete isolated from Tianchi Lake, Xinjiang, China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54**: 2091-2094.

Hurley L. H. and Bialek, D. (1974). Regulation of antibiotic production: catabolite inhibition and the dualistic effect of glucose on indolmycin production. *J. Antibiot.* (Tokyo). **27**: 49-56.

I

Isshiki K., Sawa T., Naganawa H., Matsuda N., Hattori S., Hamada M. and Takeuchi T. (1989). 3-O-isobutyrylkinamycin C and 4-deacetyl-4-O-isobutyrylkinamycin C, new antibiotics produced by a *Saccharothrix* species. *J. Antibiot.* **42** (3): 467-469.

J

Jiang K., Lepak D., Han K., Hong Y., Kim A. and Winkler A.L. (2012). Clarifying the construct of human resource systems: relating human resource management to employee performance. *Human Resource Management Review.* **22**: 2, 73-85.

Références bibliographiques

Joffin J. N. and Leyral G. (2014). Microbiologie technique -Tome 1: Dictionnaire des techniques. CRDP d'Aquitaine. P 368.

Jose P. and Jebakumar S. R. D. (2014). Non-streptomycete actinomycetes nourish the current microbial antibiotic drug discovery. *Front Microbi.* **4**: 240.

Jose P., Santhi V. and Jebakumar S. (2011). Phylogenetic-affiliation, antimicrobial potential and PKS gene sequence analysis of moderately halophilic *Streptomyces* sp. inhabiting an Indian saltpan. *J Basic Microbiol.* **51**:348-356.

K

Kalinovskaya N., Kalinovsky A., Romanenko L., Dmitrenok P. and Kuznetsova T. (2010). New angucyclines and antimicrobial diketopiperazines from the marine mollusk-derived actinomycete *Saccharothrix espanaensis* An 113. *Nat. Prod. Commun.*, **5** (4): 597-602.

Kennel Y. M. and Demain A. L. (1978). Effect of carbon sources on β -lactam antibiotic formation by *Cephalosporium acremonium*. *Exp. Mycol.* **2**: 234-238.

Kim B. Y., Brown R., Labeda D. P. and Goodfellow M. (2011). Reclassification of '*Dactylosporangium variesporum*' as *Saccharothrix variisporea* corrig. (ex Tomita *et al.* 1977) sp. nov., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 61 : 310-314.

Kim W. S., Wang Y., Fang A. and Demain A. L. (2000). Methionine interference in rapamycin production involves repression of demethylrapamycin methyltransferase and S-adenosylmethionine synthetase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**: 2908-2910.

Kimura A. (1967). Biochemical studies on *Streptomyces sioyaensis*: part I. Formation of siomycin by the resting cell system of *Streptomyces sioyaensis* part II. Mechanism of the inhibitory effect of glucose on siomycin formation. *Agric. Biol. Chem.* **31**: 837-852.

Kinoshita N., Igarashi M., Ikeno S., Hori M. and Hamada M. (1999). *Saccharothrix tangerinus* sp. nov., the producer of the new antibiotic formamicin: taxonomic studies. *Actinomycetologica*. **13** : 20-31.

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 doc : université Mentouri-Constantine. PP: 176.

Koch A. L. (2003). Bacterial wall as target for attack: past, present, and future research. *Clin Microbiol Rev* **16**: 673-687.

Kominek L. A. (1972). Biosynthesis of novobiocin by *Streptomyces niveus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1**: 123-134.

Références bibliographiques

Kresge N., Simoni R. D. and Hill R. L. (2004). Selman Waksman: the Father of antibiotics. *The journal of biological chemistry*. **279** (48). PP 1-3.

Kurtböke D. I. (2012). - Biodiscovery from rare actinomycetes: an ecotaxonomical perspective. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **93**: 1843-1852.

L

Labeda D. P., Testa R. T., Lechevalier M. P. and Lechevalier H. A. (1984). *Saccharothrix*, a new genus of the *Actinomycetales* related to *Nocardiosis*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **34** (4): 426-431.

Labeda D. P. (1986). Transfer of 'Nocardia aerocolonigenes' (Shinobu and Kawato 1960) Pridham 1970 into the genus *Saccharothrix* Labeda, Testa, Lechevalier, and Lechevalier 1984 as *Saccharothrix aerocolonigenes* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol.* **36**: 109-110.

Labeda D. P. and Lechevalier M. P. (1989). Amendment of the genus *Saccharothrix* Labeda *et al.* 1984 and descriptions of *Saccharothrix espanaensis* sp. nov. *Saccharothrix cryophilis* sp. nov. and *Saccharothrix mutabilis* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **39**(4): 420-423.

Labeda D. P. and Lyons A. J. (1989). *Saccharothrix texasensis* sp. nov. and *Saccharothrix waywayandensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **39** (3): 355-358.

Labeda D. P. and Kroppenstedt R. M. (2000). Phylogenetic analysis of *Saccharothrix* and related taxa: proposal for *Actinosynnemataceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* **50** : 331-336.

Labeda D. P., Hatano K., Kroppenstedt R. M. and Tamura T. (2001). Revival of the genus *Lentzea* and proposal for *Lechevalieria* gen. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **51**: 1045-1050.

Labeda D. P. and Kroppenstedt R. M. (2006). *Goodfellowia* gen. nov., a new genus of the *Pseudonocardineae* related to *Actinoalloteichus*, containing *Goodfellowia coeruleoviolacea* gen. nov., comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **56** : 1203-1207.

Lahoum A., Bouras N., Mathieu F., Schumann P., Spröer C., Klenk H. P. and Sabaou N. (2016a). *Actinomadura algeriensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. *Antonie van Leeuwenhoek.* **109**: 159-165.

Lahoum A. (2017). Souches d'actinobactéries mycéliennes des sols sahariens: mise en évidence de nouvelles espèces et de nouveaux antibiotiques et réduction de la concentration en aflatoxine B1. Thèse de doctorat. École Normale Supérieure (ENS) de Kouba, Alger. P 269.

Lamari L., Zitouni A., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Lebrihi A., Lefebvre G., Seguin E. and Tillequin F. (2002). New dithiopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *J., Antibiot.* **55** : 696-701.

Références bibliographiques

- Lamari L., Zitouni A., Dob T., Sabaou N., Lebrihi A., Germain P., Seguin E. and Tillequin F. (2002).** New dithiolopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. II. Physicochemical properties and structure elucidation. *J. Antibiot.* **55** (8): 702-707.
- Larpent J. P. et Sanglier J. J. (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Masson éditeurs. Paris. France.
- Larpent-Gourgaud M. et Sanglier J. J. (1992).** Biotechnologie. Principes et méthodes. Doin éditeurs. Paris. France.
- Lazzarini A., Cavaletti L., Toppo G. and Marinelli F. (2001).** Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. *Antonie van Leeuwenhoek.* **78** : 399-405.
- Lebrihi A., Lefebvre G. and Germain P. (1988).** Carbon catabolite regulation of cephamycin C and expandase biosynthesis in *Streptomyces clavuligerus*. *Applied Microbiology and Biotechnology.* **28**: 44-51.
- Lebrihi A., Lamsaif D., Lefebvre G., Germain P. (1992).** Effect of ammonium ions on spiramycin biosynthesis in *Streptomyces ambofaciens*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **37**, 382-387.
- Lechevalier M. P. and Lechevalier H. (1970).** Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **20**: 435-443.
- Lechevalier M. P., De Bievre C. and Lechevalier H. (1977).** Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochem. Syst. Ecol.* **5**: 249-260.
- Lee S. D., Kim E. S., Roe J. H., Kim J., Kang S. O. and Hah Y. C. (2000).** *Saccharothrix violacea* sp. nov., isolated from a gold mine cave, and *Saccharothrix albidocapillata* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* **50**, 1315-1323.
- Li Y. Q., Liu L., Cheng C., Shi X. H., Lu C. Y., Dong Z. Y., Salam N., An D. D. and Li W. J. (2015).** *Saccharothrix lopnurensis* sp. nov., a filamentous actinomycete isolated from sediment of Lop Nur. *Antonie van Leeuwenhoek.* **108**: 975-981.
- Liu C., Guan X., Wang S., Zhao J., Wang H., He H., Xiang W. and Wang X. (2014).** *Saccharothrix carnea* sp. nov., an actinobacterium isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **64**: 4033-4037.
- Locci A. M., Cincotti A., Delogu F., Orrù R. and Cao G. (2005).** Combustion synthesis of metal carbides: Part I. Model development. *J. Mater. Res.* **20**, 1257.
- Lounès A., Lebrihi A., Benslimane C., Lefebvre G. and Germain P. (1995).** Regulation of valine catabolism by ammonium in *Streptomyces ambofaciens*, producer of spiramycin. *Can. J. Microbiol.* **41**: 800-808.

Références bibliographiques

M

- Madigan M. et Martinko J. (2007).** Biologie des microorganismes Brock. Pearson Education France, 11^{eme} edition PP: 1047.
- Madigan M. T., Martinko J. M., Stahl D. A. and Clark D. P. (2012).** Brock Biology of Microorganisms, 13th Edition. Boston, Mass: Pearson.
- Maier R. M., Pepper I. L. and Gerba C. P. (2009).** Environmental microbiology. Academic.
- Mariat F. et Sebald M., (1990).** *Actinomycétales*. In : Le minor L., Véron M. Bactériologie medicale. *Medecine –science*. Flammarion.France. Deuxième partie : 933-999.
- Martín J. and Demain L. (1980).** Control of antibiotic biosynthesis. *Microbiol. Rev.* **44** :230-251.
- Martins R. A., Guimarães L. M., Pamboukian C. R., Tonso A., Facciotti M. C. R. and Schmidell W. (2004).** The effect of dissolved oxygen concentration control on cell growth and antibiotic retamycin production in *Streptomyces olindensis* So20 fermentations. *Braz. J. Chem. Eng.* **21**, 185-192.
- Mbengue S. A. (1997).** Evaluation de la prescription des antibiotiques dans la région de Dakar. *Th. Pharm, Dakar*:73.
- McKinney R. E. (2004).** Environmental Pollution Control Microbiology. CRC Press : New York. PP: 448.
- Mellouli L., Karray-Rebai I, Sioud S., Ben Ameer-Mehdi R., Naili B. et Bejar S. (2004).** - Efficient transformation procedure of a newly isolated *Streptomyces* sp. TN58 strain producing antibacterial activities. *Current Microbiol.*, **49**(6):, 400-406.
- Merrouche R., Bouras N., Coppel Y., Mathieu F., Monje M., Sabaou N. and Lebrihi A. (2010).** Dithiolopyrrolone antibiotic formation induced by adding valeric acid to th culture broth of *Saccharothrix algeriensis*. *J. Nat. Prod.* **73** :1164-1166.
- Merrouche R., Bouras N., Coppel Y., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A. (2011).** New dithiolopyrrolone antibiotics induced by adding sorbic acid to the culture medium of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *FEMS Microbiol. Lett.* **318** : 41-46.
- Merrouche R. (2012).** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des dithiolopyrrolones par *Saccharothrix algeriensis* après addition de précurseurs dans le milieu de culture. Thèse de Doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique. El-Harrach.P 197.

Références bibliographiques

Mohammadipanah F., Hamedi J., Carmen Montero-Calasanz M. del., Spröer C., Klenk H. P. and Schumann P. (2015). *Saccharothrix ecbatanensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **65**: 4544-4549.

Moulin M., Coquerel A. (1998). Pharmacologie, connaissances et pratiques. 2eme edition, Masson. PP10-30.

Murakami R., Shinozaki J., Kajiura T., Kozone I., Takagi M., Shin-Ya K., Seto H. and Hayakawa Y. (2009). Ammocidins B, C and D, new cytotoxic 20-membered macrolides from *Saccharothrix* sp. AJ9571. *J., Antibiot*, **62** : 123-127.

N

Nafis A., Oubaha B., Azmani A., Samri S. E., Niedermeyer T., Hassani L et Barakate M. (2017). Novonestmycines A et B, deux dérivés d'antifongiques non polyéniques nouvellement produits par *Streptomyces* sp.Z26. *Journal de Mycologie Médicale*.vol27. P 44.

Nakae K., Kurata I., Kojima F., Igarashi M., Hatano M., Sawa R., Kubota Y., Adachi H. and Nomoto A. (2013). Sacchathridine A, a prostaglandin release inhibitor from *Saccharothrix* sp. *J. Nat.*, **76** (4):720-2.

Nilius A. M. et Ma Z. (2002). Ketolides : the future of microlides ? *Current Opinion in pharmacology*.2(5):493-500.

O

Olmos E., Mehmood N., Husein L. H., Goergen J. L., Fick M. and Delaunay S. (2012). Effects of bioreactor hydrodynamics on the physiology of *Streptomyces*. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **36**: 259-272.

Omran R. and Kadhem M. (2016). Production, purification, and characterization of bioactive metabolites produced from rare actinobacteria *pseudonocardia alni*. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*. Vol 9, Suppl.3.

Otoguro M., Ratnakomala S., Lestari Y., Hastuti R. D., Triana E., Widyastuti Y. and Ando K. (2009). *Streptomyces baliensis* sp. nov., isolated from Balinese soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* **59**: 2158-2161.

P

Papagianni M. (2004). Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnol. Adv.* **22** : 189-259.

Références bibliographiques

- Park Y. S., Momose I., Tsunoda K. and Okabe M. (1994).** Enhancement of cephamycin C production using soybean oil as the sole carbon source. *Appl. Microbiol Biotechnol.* **40**: 773-779.
- Patel J. J. and Brown M. N. (1969).** Interaction of Azobacter with rhizosphere and root- surface microflora. *Plant and soil.* **31**:276-281.
- Piret J. M. and Demain A. L. (1988).** Actinomycetes in biotechnology : an overview in: Goodfellow M., Mordarski M and Williams S. T. (Edn.) *Actinomycetes in biotechnology.* Academic Press, London. pp 461-482.
- Powell N. and Roush W. (2001).** Studies on total synthesis of formamicin: synthesis of the C(1)-C(11) fragment. *Org. Lett.* **3** : 454-456.
- Prakash A., Satyanarayana., T. and Johri B. N. (2012).** *Microorganisms in Environmental Management.* Springer. PP: 819.
- Prescott L. M., Willey J. M., Sherwood L. et Woolverton C. J. (2013).** *Microbiologie,* 4ème édition. De Boeck Supérieur.
- Prescott L. M., Harley J. P. and Klein D. A. (2010).** *Microbiologie.* De Boeck : Bruxelles. 2eme édition. PP: 1088.

R

- Rapilly F. (1968).** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Institut National de la Recherche Agronomique. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des Epiphytes.* INRA.P 103.
- Rollins M. J., Jensen S. E., Westlake D. W. S. (1988).** Effect of aeration on antibiotic production by *Streptomyces clavuligerus.* *J. Ind. Microbiol.* **3**: 357-364.

S

- Sabaou N. (1988).** Contribution à l'étude des actinomycètes des sols des palmeraies algériennes: systématique et écologie. Thèse de Doctorat Es Sciences Naturelles, option Microbiologie, USTHB, Alger. P192.
- Sabaou N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A, Lamari L., Bennadji H., Lefebvre G. and Germain P. (1998).** Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Séch.* **9** (2): 147-153.
- Sanglier J. J. et Trujillo M. (1997).** Substances bioactives produites par les actinomycètes et stratégie de sélection de souches. *Bull Soc Fr Microbiol.* **12**: 13.

Références bibliographiques

- Sarkar S., Saha S., Debashis R. (2008).** Enhanced Production of Antimicrobial Compounds by Three Salt-Tolerant Actinobacterial Strains Isolated from the Sundarbans in a Niche-Mimic Bioreactor. *Mar Biotechnol* **10**:518-526.
- Saurav K., Kannabiran K. (2010).** Antifungal activity of *Streptomyces* VITSVK5 spp. against drug resistant *Aspergillus* clinical isolates from pulmonary tuberculosis patients. *J. Mycol. Med.* **20**:101-107.
- Shioya S., Morikawa M., Kajihara Y., Shimizu H. (1999).** Optimization of agitation and aeration conditions for maximum virginiamycin production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **51**: 164-169.
- Shirling E. B. and Gottlieb D. (1966).** Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**: 313-340.
- Singh M. P., Petersen P. J., Weiss W. J., Kong F. and Greenstein M. (2000).** Saccharomicins, novel heptadecaglycoside antibiotics produced by *Saccharothrix espanaensis*: antibacterial and mechanistic activities. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **44** (8): 2154-2159.
- Smaoui S. (2010).** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat. Génie de procédés et environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse, France. P 207.
- Solanki R. and Khanna M. (2008).** Bioactive compounds from marine actinomycetes. *Indian J Microbiol.* **48**: 410-431.
- Solecka J., Zajko J., Postek M. and Rajnisz A. (2012).** Biologically active secondary metabolites from actinomycetes. *Cent Eur J Biol.* **7**: 373-390.
- Spizek J., Tichy P. (1995).** Some aspects of overproduction of secondary metabolites. *Folia Microbiol.* **40** : 43-50.
- Stackebrandt E., Kroppenstedt R. M. and Fowler V. J. (1983).** A phylogenetic analysis of the family Dermatophilaceae. *Microbiology.* **129**: 1831-1838.
- Strub C. (2008).** Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, France. p 203.
- Suzuki K., Sato T., Morioka M., Nagai, K., Abe K., Yamaguchi H., Saito T., Ohmi Y. and Susaki K. (1991).** - Tetrazomine, a new antibiotic produced by an actinomycete strain. Taxonomy, fermentation, isolation and characterization. *J. Antibiot.* **44** : 479-485.

Références bibliographiques

- Takahashi A., Hotta K., Saito N., Morioka M., Okami Y. and Umezawa H. (1986).** Production of novel antibiotic, dopsisamine by new subspecies of *Nocardioopsis mutabilis* with multiple antibiotic resistance. *J. Antibiot.* **39** (2): 175-183.
- Takahashi S., Takeuchi M., Enokita R., Sakaida Y., Haruyama H., Nakamura T., Katayama T. and Inukai M. (1995).** Galacardines A and B, new glycopeptide antibiotics. *J. Antibiot.* **45** (10): 297-305.
- Takahashi Y. and Omura S. (2003).** Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *J Gen Appl Microbiol.* **49**(3):141-154.
- Takeuchi M., Takahashi S., Enokita R., Sakaida Y., Haruyama H., Nakamura T., Katayama T. and Inukai M. (1992).** Galacardines A and B, new glycopeptide antibiotics. *J. Antibiot.* **45** (10): 297-305.
- Talaro K. P. and Talaro A. (2001).** foundations in microbiology, fourth ed., McGraw-Hill, New york, NY. PP 1-25.
- Tortora J., Funk B. F. et Case Ch. I. (2003).** Introduction à la microbiologie, (edn) ISBN.Canada.
- Toumatia O. (2015).** Etude de quelques souches de *Streptomyces* des sols arides d'Algérie antagonistes de *Fusarium culmorum*: taxonomie, caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre la fusariose du blé. Thèse de doctorat en Microbiologie, ENS de Kouba, Alger. P 218.
- Tsurumi Y., Ueda H., Hayashi K., Takase S., Nishikawa M., Kiyoto S. and Okuhara M. (1995).** WS75624 and B, new endothelin converting enzyme inhibitors isolated from *Saccharothrix* sp. No.75624. I. Taxonomy, fermentation, isolation, physico-chemical properties and biological activities. *J. Antibiot.* **48** : 1066-1072.

V

- Van Der M., Worsley S. F., Hutchings M. I., van Wezel G. P. (2017).** Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes. *Microbiol Rev.* **41**(3): 392-416.
- Vertesy L., Barbone F., Cashmen E., Decker H., Ehrlich K., Jordan B., Knauf M., Schummer D., Segeth M., Wink J. and Seibert G. (2001).** Pluraflavins, potent antitumor antibiotics from *Saccharothrix* sp. DSM 12931. *J. Antibiot.* **54** :718-29.

W

- Waksman S. A. (1961).** The Actinomycetes. Vol. 2, Classification, identification and descriptions of genera and species. *J. Pharm. Sci.* **50**: 979.

Références bibliographiques

Walsh C. (2003). Natural and producer immunity versus acquired resistance. *Antibiotics : actions, origins, resistance*. ASM Press, Washington, DC. pp 51-69.

Wang L., Zhang Y., Lu Z., Shi Y., Liu Z., Maldonado L. and Goodfellow M. (2001). *Nocardia beijingensis* sp. nov., a novel isolate from soil. *Int J Syst Evol Microbiol* **51**:1783-1788.

Wang X., Tabudravu J., Jaspars M. and Deng H. (2013). Tianchimycins A-B, 16-membered macrolides from the rare actinomycete *Saccharothrix xinjiangensis*. *Tetrahedron*. **69**: 6060-6064.

Whitman W., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H. J., Trujillo M., Ludwig W. and Suzuki K. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria*. Springer Science & Business Media.

X

Xinxuan W., Lili H., Zhensheng K., Heinrich B., Xiaoning G. (2010). Optimization of the fermentation process of actinomycete strain hhs.015. *J. Biomed. Biotechnol.* **10**.

Y

Yan X., Huang L. L., Tu X., Gao X. N. and Kang, Z. S. (2012). *Saccharothrix yanglingensis* sp. nov., an antagonistic endophytic actinomycete isolated from cucumber plant. *Antonie van Leeuwenhoek*. **101**: 141-146.

Yegneswaran P. K., Gray M. R. and Thompson B. G. (1991). Effect of dissolved oxygen control on growth and antibiotic production in *Streptomyces clavuligerus* fermentations. *Biotechnol. Prog.* **7** : 246-250.

Yekkour A. (2013). Implication de quelques souches de *Streptomyces* antagonistes de *Fusarium culmorum* dans le biocontrôle de la fusariose de l'orge et effet de l'antibiotique sécrété par *Streptomyces* sp. WAB9 sur la survenue d'événements cellulaires liés à cette maladie. thèse de doctorat, option biotechnologie. A l'ENS Kouba Alger. P170.

Yim G. (2011). L'Attaque des superbactéries: Résistance aux antibiotiques. *The Science Creative Quarterly*. Issue Six. Lapsus Nivium.

Yin P., Wang Y. H., Zhang S. L., Chu J., Zhuang Y. P., Chen N., Li X. F., Wu Y. B. (2008). Effect of mycelial morphology on bioreactor performance and avermectin production of *Streptomyces avermitilis* in submerged cultivations. *J. Chin. Inst. Chem. Eng.* **39**: 609-615.

Z

Zeba B., (2005). Overview of B-lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African journal of biotechnology*. **4**(13) : 1559-1562.

Références bibliographiques

- Zitouni A., Boudjella H., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A. (2004a).** Mutactimycin PR, a new anthracycline antibiotic from *Saccharothrix* sp. SA 103. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *J. Antibiot.* **57** (6): 367-372.
- Zitouni A., Lamari L., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Gaouar A., Mathieu F., Lebrihi A. and Labeda D. P. (2004b).** *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from a saharan soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54** : 1377-1381.
- Zitouni A. (2005).** Taxonomie et antibiotiques des *Saccharothrix* et des *Nocardiopsis* des sols sahariens et nouvelles molécules bioactives sécrétées par *Saccharothrix* sp. SA 103. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.P 230.
- Zitouni A., Boudjella H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2005).** *Nocardiopsis* and *Saccharothrix* genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *Res. Microbiol.* **156** (10): 984-993.

I. Généralités sur les actinobactéries (actinomycètes)

1. Définition des actinobactéries

Les actinobactéries (également connu sous le nom d'actinomycètes) tel qu'il figure dans le manuel de Bergey (2012), composent un groupe diversifié de bactéries, filamenteuses, septées, ramifiées, à Gram positive, chimio-organotrophe, hétérotrophe, aérobies stricts ou micro-aérophiles, largement distribuées dans la nature et ayant un pourcentage en guanine et cytosine (G + C) supérieur à 55%. La plupart sont non mobiles, ayant une croissance plus lente que celle des bactéries non mycéliennes (Locci *et al.*, 2005; Saurav et Kannabiran, 2010). Elles sont représentées par le phylum des *Actinobacteria* qui renferme 6 classes, 23 ordres, 48 familles et 291 genres (Euzéby., 2015).

2. Historique des actinobactéries

Durant ces dernières années les actinobactéries ont connu une grande évolution, leur histoire est subdivisée en quatre grandes périodes:

- **La première phase d'évolution (1874-1900):** a été nommée « période médicale », elle fut le point de départ de leurs rôles pathologiques, elle correspond à la première découverte du premier actinomycète par Cohn en 1875 qu'il l'appela *Streptothrix foeresteri*, ainsi que la découverte d'un agent d'actinomycose du bétail par Harz en 1877 et le nomma *Actinomyces bovis*.
- **La seconde phase d'évolution (1900-1919):** c'est durant cette période que de nombreuses espèces telluriques furent isolées et mises en évidence, et la famille des *Actinomycetaceae* a été créée par Orla Yensen (1909) et l'ordre des *Actinomycetales* par Buchanan (1917).
- **Troisième phase d'évolution (1919-1940):** Elle couvre la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des actinobactéries et les premières tentatives pour distinguer deux groupes: les pathogènes et les saprophytes (Mariat et Sebald, 1990).
- **Quatrième phase d'évolution (à partir de 1940):** elle correspond à la découverte des antibiotiques produits par les actinobactéries. Waksman et Woodruff (1940) découvrirent l'actinomycine dans les cultures d'*actinomyces antibioticus*. Quelques années plus tard, Waksman découvrit plus de 20 autres antibiotiques telles que la streptomycine et la néomycine (*in* Moulin et Coquerel, 1998; Kresge *et al.*, 2004). De point de vue taxonomique elle est marquée par la création en 1943 du genre *Streptomyces* par Waksman et Henrici en combinant les noms des genres *Streptothrix* et *Actinomyces* (Sanglier et Trujillo, 1997) et le développement

de critères morphologiques et biochimiques pour la classification des actinobactéries (Baldacci, 1962).

L'étude des actinobactéries a connu après 1959 beaucoup de progrès que ce soit sur le plan taxonomique (apparition de la chimiotaxonomie et la taxonomie moléculaire) ou sur le plan production de métabolites secondaires (découverte de certaines molécules bioactives) (Lechevalier et Lechevalier, 1970; Lechevalier *et al.*, 1977; Stackelbrand *et al.*, 1983; Solecka *et al.*, 2012).

3. Distribution des actinobactéries dans les écosystèmes et leur rôle écologique

Les actinobactéries sont aussi importantes en écologie qu'en médecine, elles sont ubiquitaires, on les retrouve presque partout dans la nature, elles occupent une variété de niches écologiques (Tableau 1). Le sol constitue un biotope naturel pour la plupart, en particulier les sols alcalins et les sols riches en matières organiques ou elles constituent une partie importante de la population microbienne (Ait barka *et al.*, 2015). Elles sont présentes également dans des sols polaires gelés en permanence tout comme dans les sols désertiques chauds et secs, dans le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec les métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés (Kitouni, 2007).

La fonction écologique principale des actinobactéries au sein des écosystèmes est la décomposition des substances organiques grâce à leurs capacités de produire une large gamme d'enzymes hydrolytiques, comme les protéases, les nucléases, les lipases...etc. (Prescott *et al.*, 2010; Prakash *et al.*, 2012). Ainsi que les enzymes pour l'hydrolyse des sucres complexes comme: la cellulose, hémicellulose et certaines d'entre eux attaquent même la carapace chitineuse des cadavres d'insectes (Maier *et al.*, 2009). Elles ont la capacité de produire la géosmine qui donne au sol une odeur caractéristique (Goodfellow, 2012).

Beaucoup d'actinobactéries ont évolué pour vivre en symbiose avec des plantes, des champignons, des insectes et des animaux. La plupart de ces interactions actinobactéries-hôte sont bénéfiques, les actinobactéries permettent à leur hôte de se protéger contre les agents pathogènes et les parasites (Van Der meij *et al.*, 2017).

Tableau 1: Distribution de quelques actinomycètes dans la nature (Goodfellow, 1983).

Genre	Habitat
<i>Saccharothrix</i>	Sol, eau de lac
<i>Actinomodura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau douce, litière végétal
<i>Frankia</i>	Nodule de racines des non-légumineuses, sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, sédiments, eau
<i>Nocardia</i>	Sol, eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier, litière, excréments animaux
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière
<i>Streptosporangium</i>	Sol
<i>Thermomonospora</i>	Matière en décomposition et fermentation

4. Le genre *Saccharothrix*

Le genre *Saccharothrix* (Saccharo = sucre, trix = cheveux) a été décrit par Labeda *et al.* (1984), avec comme espèce-type *Sa. australiensis* ATCC 31497. Bien que ce genre ne représente qu'une fraction très minime du total des actinobactéries mycéliennes, il a pu être isolé en très petit nombre à partir de divers substrats et écosystèmes (Hozzein *et al.*, 2004; Zitouni *et al.*, 2005) et avec un pourcentage variant entre 8 et 15% dans plusieurs échantillons de sols sahariens (Sabaou *et al.*, 1998).

Le sol, avec ses différentes natures, est l'écosystème à partir duquel la majorité des espèces de *Saccharothrix* ont été isolées, dont *Sa. espanaensis*, qui a été isolée à partir du sol d'Espagne (Labeda et Lechevalier, 1989); *Sa. texasensis* a été isolée d'un sol au Texas (Labeda et Lyons, 1989) et *Sa. variisporea* est isolée d'un sol en Inde (Kim *et al.*, 2011)...etc. Cependant beaucoup d'espèces ont été isolées à partir des échantillons de sols des régions désertiques de l'Algérie à savoir: *Sa. algeriensis* (Zitouni *et al.*, 2004); *Sa. saharensis* et *Sa. hoggarensis* (Boubetra *et al.*, 2013_{a, b}); *Sa. tamanrassetensis* (Boubetra *et al.*, 2015); *Sa. isguenensis* (Bouznada *et al.*, 2016) et *Sa. ghardaiensis* (Bouznada *et al.*, 2017). De même, ce genre a été isolé à partir de l'eau, dont *Sa. xinjiangensis* qui a été isolée à partir de l'eau d'un lac en Chine (Labeda et Kroppenstedt, 2006).

4.1. Caractéristiques et position taxonomique du genre *Saccharothrix*

4.1.1. Caractéristiques du genre *Saccharothrix*

Morphologiquement, le genre *Saccharothrix* est caractérisé par la présence d'un mycélium aérien abondant ou très peu produit selon les espèces et les souches. Les hyphes aériens se divisent irrégulièrement (souvent en zigzag), aboutissant à la formation de longues chaînes de spores lisses, non mobiles, droites ou ovoïdes, collées entre elles et moins individualisées (Labeda et Lyons, 1989; Zitouni *et al.*, 2005) (Figure 1). Le mycélium de substrat est ramifié, dressé et strié, il se

fragmente lui aussi, de manière plus ou moins importante, en éléments coccoïdes ou allongés (Labeda et Lechevalier, 1989; Labeda et Kroppenstedt, 2000).

La couleur des colonies de *Saccharothrix* diffère selon les espèces, mais la plus abondante est la couleur blanche clairsemé, blanc jaunâtre ou jaune orangé. Le dos de la colonie, qui représente le mycélium de substrat, est généralement de couleur jaune (Labeda, 1986; Lee *et al.*, 2000; Zitouni *et al.*, 2004; Otoguro *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2011).

Physiologiquement, les espèces du genre *Saccharothrix* sont caractérisées par la présence d'une catalase et d'une uréase et leur résistance aux lysozymes, elles sont des aérobies strictes (Bergey, 2012). L'intervalle de la température de croissance est de 10 jusqu'à 45°C, l'optimum est généralement à 30°C (Labeda, 1986; Lee *et al.*, 2000; Hu *et al.*, 2004; Zitouni *et al.*, 2004, Boubetra, 2013). L'intervalle de pH est de 4 à 10, l'optimum est autour de 7 (Kim *et al.*, 2011). L'optimum de la concentration en NaCl pour la plupart des espèces, est dans l'intervalle de 4-5 % (Bergey, 2012), mais il y a des espèces qui exigent une concentration en sel inférieure à 4 % (Labeda et Lechevalier, 1989; Otoguro *et al.*, 2009).

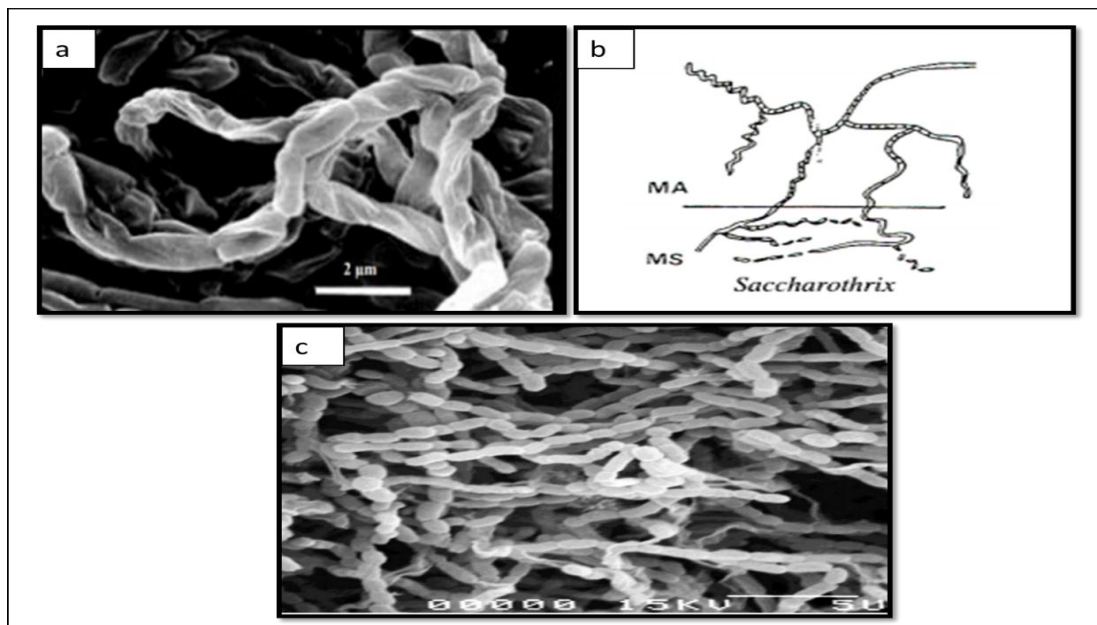


Figure 1: Micromorphologie du genre *Saccharothrix* selon Whitman *et al.* (2012) (a), Sabaou (1988) (b) et Boubetra *et al.* (2015) (c).

4.1.2. Position taxonomique du genre *Saccharothrix*

Le genre *Saccharothrix* était classé dans l'ordre des *Actinomycetales* et la famille des *Actinosynnemataceae* (Labeda et Kroppenstedt, 2000). Mais après les profonds remaniements opérés à l'échelle supragénérique, ce genre est reclassé dans l'ordre des *Pseudonocardiales* et la famille des *Pseudonocardiaceae* (Manuel de Bergey, 2012). Il est rattaché au Phylum des

Synthèse bibliographique

Actinobacteria et à la classe des *Actinobacteria* (Labeda *et al.*, 2001; Labeda et Kroppenstedt, 2006; Whitman *et al.*, 2012).

4-2-Espèces appartenant au genre *Saccharothrix*

Actuellement ce genre regroupe 20 espèces et deux sous-espèces (Euzeby, 2017) (Tableau 2).

Tableau 2: Les espèces appartenant au genre *Saccharothrix*.

Espèces	Références
<i>Sa. australiensis</i>	Labeda <i>et al.</i> , 1984.
<i>Sa. texasensis</i>	Labeda et Lyons, 1989.
<i>Sa. espanaensis</i>	Labeda et Lechevalier, 1989.
<i>Sa. mutabilis subsp. mutabilis</i>	Labeda et Lechevalier, 1989.
<i>Sa. mutabilis subsp. capreolus</i>	Grund et Kroppenstedt, 1989.
<i>Sa. coeruleofusca</i>	Grund et Kroppenstedt, 1989.
<i>Sa. longispora</i>	Grund et Kroppenstedt, 1989.
<i>Sa. syringae</i>	Grund et Kroppenstedt, 1989.
<i>Sa. algeriensis</i>	Zitouni <i>et al.</i> , 2004.
<i>Sa. xinjiangensis</i>	Hu <i>et al.</i> , 2004.
<i>Sa. violaceirubra</i>	Otoguro <i>et al.</i> , 2009.
<i>Sa. variisporea</i>	Kim <i>et al.</i> , 2011.
<i>Sa. yanglingensis</i>	Yan <i>et al.</i> , 2012.
<i>Sa. hoggarensis</i>	Boubetra <i>et al.</i> , 2013.
<i>Sa. saharensis</i>	Boubetra <i>et al.</i> , 2013.
<i>Sa. carnea</i>	Liu <i>et al.</i> , 2014.
<i>Sa. tamanrassetensis</i>	Boubetra <i>et al.</i> , 2015.
<i>Sa. lopnurensis</i>	Li <i>et al.</i> , 2015.
<i>Sa. ecbatanensis</i>	Mohammadipanah <i>et al.</i> , 2015.
<i>Sa. isguenensis</i>	Bouznada <i>et al.</i> , 2016.
<i>Sa. ghardaiensis</i>	Bouznada <i>et al.</i> , 2017.

5. Les antibiotiques

5.1. Définition des antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique d'origine microbienne ou synthétisée chimiquement, capable d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe (Gogny *et al.*, 2001; Morin *et al.*, 2005).

5.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques constituent un groupe de molécules bioactives très variées qui peuvent être classées selon plusieurs critères: l'origine, le mécanisme d'action, le spectre d'action et la nature chimique. Cette dernière est basée souvent sur une structure de base (Benabbou, 2012) et permet de classer les antibiotiques en groupes de familles et sous-familles. Le tableau 3 ci-dessous résume la classification des antibiotiques avec les dénominations les plus usuelles (Joffin et Leyral, 2014).

Tableau 3: Les principaux antibiotiques et leur classification (Joffin et Leyral, 2014).

Classe d'antibiotique	Exemples		
Aminosides	Streptomycine, kanamycine, Gentamycine, Gobramycine, Amikacine.		
Antituberculeux	Ethambutol, Isoniazide.		
Antifongiques	Amphotéricine B, Nystatine, Fluorocytosine, kétoconazole.		
β-lactamines	Noyau de type	Classe	Exemples
	Pénicilline	Pénames	Pénicilline G. Aminopénicillines(PénicillinesA): ampicilline,amoxicilline. Carboxypénicillines : ticarcilline, pipéracilline... Amidinopénicillines: Mécillinam Isoxazoypénicillines (pénicillines M): Oxacilline.
		Carbapénèmes	Imipénème, Ertapénème, Doripénème, Méropénème
		Oxapénèmes	Acide clavulanique
	Céphalosporine	1 ^{ère} génération (C1G)	Céfadroxil, céfalexine, céfazoline, céfalotine.
		2 ^{ème} génération (C2G)	Céfaclor, céfuroxime, céfotétan, céfoxitime...
		3 ^{ème} génération (C3G)	Céfixime, céfotaxime, cefpodoxime, ceftazidime.
		4 ^{ème} génération (C4G)	Céfépime, cefpirome,...
		5 ^{ème} génération (C5G)	Ceftaroline...
	β-lactame seul	Monobactames	Aztréonam.

Suite du tableau 3

Classe d'antibiotique	Exemples	
Fosfomycines	Fosfomycine	
Glycopeptides	Vancomycine, Téricoplanine	
Imidazoles (5-nitro-)	Métronidazole	
Macrolides et apparentés	Macrolides vrais	Erythromycines, Spiramycine, Josamycine
	Lincosamides	Clindamycine, Lincomycine
	Streptogramines	Pristinamycine, Virginiamycine
	Kétolides	Télithromycine
Nitrofuranes	Nitrofurantoïnes	
Phénicolés	Chloramphénicol	
Polypeptides	Colistine, Bacitracine, Polymixine	
Quinolones	1 ^{ère} génération: acide nalidixique. 2 ^{ème} génération (fluoroquinolones): Norfloxacin, Ciprofloxacine...	
Sulfamides et diamino-2-4-pyrimidines (sulfones)	Sulfaméthoxazole Triméthoprime (Le cotrimoxazole est l'association de ces deux molécules).	
Tétracyclines	Tétracycline, Minocycline, Tigécycline	
Oxazolidinones	Linézolide	
Lipopeptides	Daptomycine	

- **Mécanisme d'action des antibactériens**

D'une façon générale, pour exercer son activité, l'antibiotique va se fixer sur une cible cellulaire, bactérienne, spécifique et bloquer la fonction physiologique associée à cette cible: synthèse de la paroi, fonction de la membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques (Andremont, 1993) (Figure 2). Selon les conséquences de cette fixation de l'antibiotique sur la cible, on peut distinguer deux types d'activités d'antibiotiques: la bactériostase et la bactéricide (Mbengue, 1997).

Les Antibiotiques peuvent agir sur:

-La paroi bactérienne: les caractéristiques ainsi que le rôle important du peptidoglycane chez les bactéries en font une cible majeure pour les antibiotiques (Koch, 2003), les antibiotiques agissent sur différentes étapes de la synthèse du péptidoglycane au niveau du cytoplasme (ex: fosfomycine), de la membrane cytoplasmique (ex: tunicamycine) et le peptidoglycane en croissance (ex: pénicilline) (Walsh, 2003; Zeba, 2005).

-La membrane cytoplasmique: Certains antibiotiques bactéricides (polymyxine) altèrent l'architecture lipido-protéique de la membrane et la dissocient (Bassirou fall, 1999).

Synthèse bibliographique

-**La synthèse protéique:** la fixation des antibiotiques sur les ribosomes bactériens aboutit à la formation de protéines anormales ou l'arrêt de la biosynthèse protéique (les aminosides, les macrolides, les ketolidés et les phenicolés) (Nilius et Ma, 2002)

- **Les acides nucléiques:** Les rifamycines inhibent la synthèse d'ARN messager par fixation sur la sous unité bêta de l'enzyme permettant la synthèse d'ARN et les quinolones se fixent sur la sous unité A de la gyrase et inhibent l'ARN gyrase (Bassirou fall, 1999).

-**Voie de biosynthèse:** Les sulfamides inhibent la dihydrofolique acide synthétase et bloquent ainsi la synthèse de l'acide folique. Ils provoquent une inhibition de la synthèse de bases nucléiques et la cellule meurt par carence en ces bases (Flandrois *et al.*, 1997). Le triméthoprime et la pyriméthamine inhibent l'hydrofolate réductase et bloquent également la synthèse de l'acide folique.

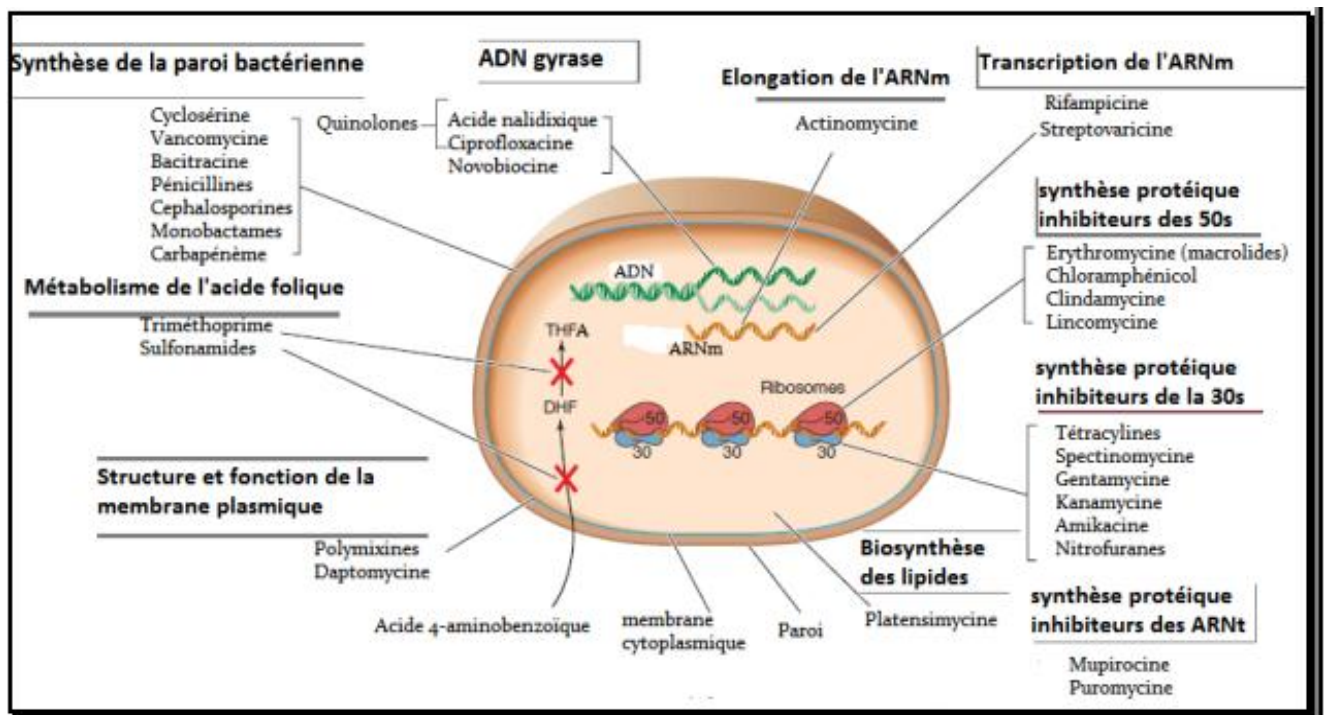


Figure 2: Mode d'action des principaux antibiotiques (Madigan *et al.*, 2012).

5.3. Microorganismes producteurs d'antibiotiques:

Les actinobactéries occupent la première place comme fournisseurs de substances bioactives tels que les antibactériens, les antifongiques, les antiviraux mais aussi les antiparasitaires, les anti tumoraux et les enzymes (Takahashi et Omura, 2003; Solanki et kahana *et al.*, 2008). En effet, ce vaste groupe de bactéries est surtout réputé pour la production d'antibiotiques antibactériens et antifongiques (Nafis *et al.*, 2017). Il est responsable de la production d'environ plus de 75% de ces

molécules suivi par les champignons avec près de 15% et enfin les bactéries non mycéliennes qui produisent les 10% restantes (Berdy, 2005) (Figure 3).

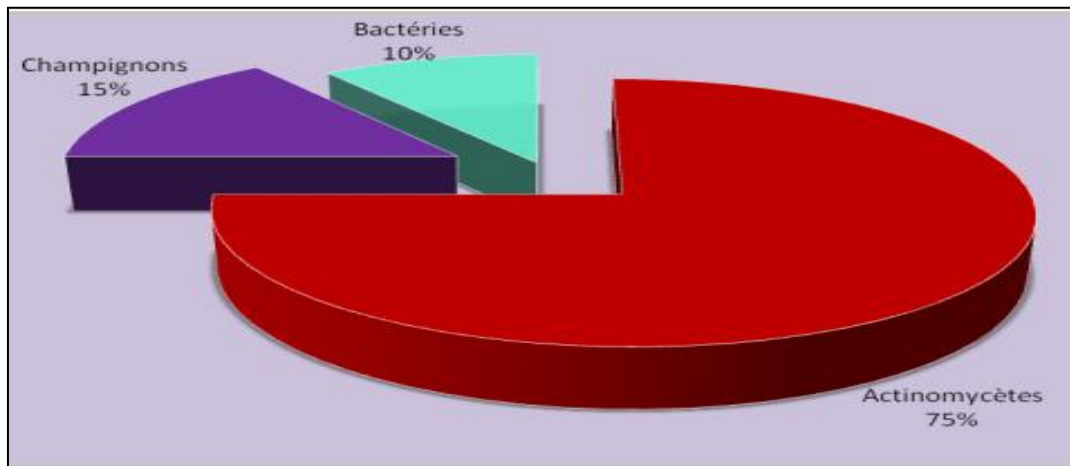


Figure 3: Secteur angulaire montrant la répartition de la production d'antibiotiques entre les trois groupes de microorganismes (Berdy, 2005).

- **Champignons**

La plupart des champignons producteurs de molécules bioactives sont des ascomycètes ou des formes imparfaites telles que *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cephalosporium* et *Fusarium*, ou encore certains basidiomycètes et zygomycètes. Les pénicillines et les céphalosporines constituent les antibiotiques d'origine fongique les plus importants (Barrett, 2002).

- **Bactéries non mycéliennes**

Les bactéries non mycéliennes qui produisent les antibiotiques sont surtout du genre *Bacillus* (ex: la bacitracine) et du genre *Pseudomonas* (Pyrrolnitrine (PRN), Pyolutéorine (PLT) (Talaro et Talaro, 2001 ; Dwivedi *et al.*, 2003).

- **Actinobactéries**

Les actinobactéries constituent la principale source d'antibiotiques. Ils produisent plus de 6000 molécules d'antibiotiques chimiquement différentes. Au sein du groupe des actinobactéries, le genre *Streptomyces* est le plus grand producteur (Kurtböke, 2012; Solecka *et al.*, 2012; Jose et Jebakumar, 2014). Les principaux antibiotiques sécrétés par les espèces de *Streptomyces* ainsi que leur spectre d'action sont répertoriés dans le tableau 4.

Synthèse bibliographique

Tableau 4: Principaux antibiotiques élaborés par les espèces du genre *Streptomyces* (Madigan et Martinko, 2007).

Classe d'antibiotiques	Dénomination commune	Espèces productrices	Spectre d'action
Aminoglycosides	Streptomycine Spectinomycine Néomycine	<i>S. griseus</i> <i>Streptomyces sp.</i> <i>S. fradiae.</i>	-Bactéries à Gram négatif <i>Mycobacterium tuberculosis</i> et <i>Nisseria gonorrhoeae</i> productrice de pénicillinase. -Spectre large à utilisation spécifique du fait de la toxicité de la molécule.
Tétracyclines	Tétracycline	<i>S. auréofaciens</i>	Spectre large, Bactéries à Gram positif et Gram négatif: Rickettsies, chlamidies et mycoplasmes.
Macrolides	Erythromycine Clindamycine	<i>S. lincolnensis</i>	-Bactéries à Gram positif, <i>Legionella</i> sp. fréquemment utilisée en remplacement de la pénicilline. -Bactéries anaérobies strictes, notamment <i>Bacteriodes fragilis</i> .
Polyènes	Nystatine Amphotéricine B	<i>S. noursei</i> <i>S. nodosus</i>	-Champignons, notamment les infections à <i>Candida</i> sp. -Champignons.
Phénicolés	Chloramphénicol	<i>S. venezuelae</i>	Spectre large: utilisation contre la fièvre typhoïde.

Cependant, Ces dernières années, Les chercheurs ont commencés à s'intéresser à d'autres genres autre que le genre *Streptomyces*, appelés parfois actinobactéries rares, en vue d'augmenter la probabilité de découverte de nouveaux antibiotiques (Lazzarini *et al.*, 2001; Cai *et al.*, 2009). Nombreux antibiotiques intéressants ont été isolés à partir de ces genres dites rares ou peu fréquents tels que *Micromonospora*, *Nocardia*, *Nocardiosis*, *Saccharothrix*, *Actinomadura*, etc., (Sarkar *et al.*, 2008; Genilloud *et al.*, 2011).

Les souches appartenant au genre *Saccharothrix* secrètent une multitude de molécules d'antibiotiques de nature chimique assez diversifiées comme indiqué dans le tableau 5 ci-dessous, dont Certains antibiotiques sont doués d'une activité antibactérienne ou antifongique, ou encore antibactérienne et antifongique à la fois.

Tableau 5: Les antibiotiques secrétés par certaines espèces du genre *Saccharothrix*.

Composés	Origine	Références
La nocamycine	<i>Sa. syringae</i>	Horvath <i>et al.</i> , 1979.
Dopsisamine	<i>Sa. mutabilis</i>	Takahashi <i>et al.</i> , 1986.
Saccharomicines (A, B)	<i>Sa. espanaensis</i>	Wang <i>et al.</i> , 2001.
Dithiolopyrrolones	<i>Sa. algeriensis</i>	Lamari <i>et al.</i> , 2002. Merrouche <i>et al.</i> , 2010.
Des anthracyclines (Muctamycines C, PR), des macrolides	<i>Sa. algeriensis</i> <i>Saccharothrix</i> sp. (SA103)	Zitouni <i>et al.</i> , 2004; Zitouni, 2005.
Chloramphénicol	<i>Saccharothrix</i> sp. (PAL54)	Aouiche <i>et al.</i> , 2012.
Caerulomycine (A, F), caerulomycinonitrile, cyanogriside (I, J)	<i>Saccharothrix</i> sp. (ABH26)	Lahoum, 2017.

5.4. Biosynthèse des antibiotiques

Les microorganismes produisent leurs métabolites secondaires après avoir terminé leur phase active de croissance, cette production aura lieu lors de la phase stationnaire (Tortora *et al.*, 2003). En effet, la production des métabolites secondaires n'est pas indispensable ni à la croissance, ni aux besoins énergétiques des organismes producteurs. Elle regroupe des voies de synthèse très spécifiques, soumissent à un ensemble de mécanismes de régulation intervenant aux niveaux anabolique, catabolique et énergétique de la cellule. La régulation peut s'exercer directement et spécifiquement sur les gènes ou les enzymes de synthèse des métabolites secondaires et/ou indirectement sur les voies de biosynthèse des métabolites primaires «précurseurs» (Piret et Demain, 1988; Demain, 1998).

5.5. Régulation de la biosynthèse des antibiotiques

La production microbienne de métabolites secondaires est généralement influencée et connectée au métabolisme primaire de la souche productrice. Les métabolites intermédiaires issus du métabolisme primaire servent de précurseurs pour la synthèse de ces métabolites secondaires bioactifs (Prescott *et al.*, 2010). Le niveau de production des métabolites secondaires, notamment chez les actinobactéries, dépend à la fois de la quantité de précurseurs disponibles et du niveau d'activité des enzymes de la voie de biosynthèse. Ces deux leviers de régulation du métabolisme secondaire sont influencés par de nombreux paramètres, entre autres nutritionnelles et physicochimiques et sont contrôlés par des mécanismes de régulation particulière (Strub, 2008).

5.5.1. Facteurs nutritionnels

La composition du milieu peut influencer sur la production des métabolites secondaires. En effet, il est couramment admis que la production des métabolites secondaires intervient lorsque la croissance se trouve limitée par l'un des substrats du milieu (Demain *et al.*, 1983; Cheng *et al.*, 1995). Parmi les sources nutritionnelles, les sources de carbone et d'azote affectant fortement cette production. L'épuisement de ces sources nutritionnelles pourrait déclencher l'initiation de la synthèse d'antibiotiques en permettant de lever la régulation négative exercée par ces nutriments (Martin et Demain, 1980).

5.5.1.1. Effet de la source de carbone

Le choix de la source de carbone utilisée par les microorganismes influence fortement la croissance bactérienne ainsi que la production de molécules actives (Martin et Demain, 1980; Spizek et Tichy, 1995). L'effet de la source carbonée est dépendant de la concentration, du temps d'addition, de la souche utilisée, de la composition du milieu (milieu synthétique ou complexe) et du nombre de sources de carbone employés (Bouras, 2005). La production spécifique de métabolites secondaires s'avère souvent meilleure avec une source de carbone complexe, plus difficilement métabolisable comme les polysaccharides (amidon, dextrans) (Lebrihi *et al.*, 1988; Lounès *et al.*, 1995), les oligosaccharides (fructose, galactose, lactose) (Basak and Majumdar, 1973) ou les huiles (méthyloléate, huile de soja) (Cortès *et al.*, 1986; Park *et al.*, 1994), que sur une source de carbone rapidement assimilable telle que le glucose ou le glycérol. En revanche, le glucose peut s'avérer être la meilleure source de carbone pour la production d'antibiotiques. C'est le cas des dithiopyrrolones produites par *Saccharothrix algeriensis* (Lamari *et al.*, 2002).

5.5.1.2. Effet de la source d'azote

L'azote est indispensable pour la biosynthèse des acides aminés, des bases azotés, ainsi que d'un grand nombre de biomolécules essentielles. Beaucoup d'antibiotiques comptent au moins un atome d'azote dans leur structure. La forme sous laquelle l'azote est apporté aux cultures productrices d'antibiotiques influe et contrôle fortement le taux de croissance et les rendements de production (Lebrihi *et al.*, 1992). L'azote est apporté sous forme minérale (ions ammonium, nitrates ou nitrites) ou organique (acides aminés, peptides ou protéines).

Dans le cas de nombreux métabolites la production est meilleure lorsque la source d'azote est organique. Les sources les plus favorables à la production de métabolites secondaires sont les acides aminés et les sources complexes d'azote qui supportent une croissance lente et une assimilation progressive de l'azote (Larpen-Gourgand et Sanglier, 1992; Spizek et Tichy, 1995).

5.5.1.3. Effet des éléments minéraux et des oligoéléments

Outre l'importance de la nature des sources de carbone et d'azote, plusieurs travaux ont montré l'implication d'autres nutriments dans la production de biomolécules par les microorganismes. Il s'agit des éléments minéraux comme le phosphore, le magnésium et le potassium et les oligoéléments essentiellement le fer, le cobalt, le nickel, le cuivre, le zinc, le molybdène, et le manganèse (Larpent et Sanglier, 1989; Larpent-Gourgaud et Sanglier, 1992).

5.5.2. Facteurs physico-chimiques et environnementaux

Les conditions de culture comme le pH, la température et le temps d'incubation affectant énormément la production des métabolites secondaires (Smaoui, 2010).

- **Influence du pH:** la plupart des actinobactéries se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7-8, mais on peut observer une croissance à des valeurs de pH inférieures à 4. Les conditions de pH peuvent intervenir sur la production des métabolites secondaires (McKinney, 2004).
- **L'aération:** L'oxygène dissous est un facteur clé lors de la fermentation des micro-organismes filamenteux, car il affecte la croissance, la morphologie et le métabolisme secondaire (Olmos *et al.*, 2012). Il a été montré que la production de métabolites secondaires est généralement favorisée par une concentration importante en oxygène dissous (Rollins *et al.*, 1988; Yegneswaran *et al.*, 1991; Shioya *et al.*, 1999; Martins *et al.*, 2004; Yin *et al.*, 2008).
- **Influence de la température:** La température a également un impact sur d'autres paramètres environnementaux, ainsi la solubilité de l'oxygène dans l'eau diminue lorsque la température augmente (Papagianni, 2004).
- **Influence de l'agitation:** l'agitation représente un paramètre très important dans la culture en milieu liquide; Mellouli *et al.* (2004) ont signalé l'optimum de la production des métabolites entre 200 et 250 rpm, pour des agitations plus faibles ou plus fortes, la production chute énormément.

La figure 4 ci-dessous montre l'interconnexion des paramètres cités précédemment.

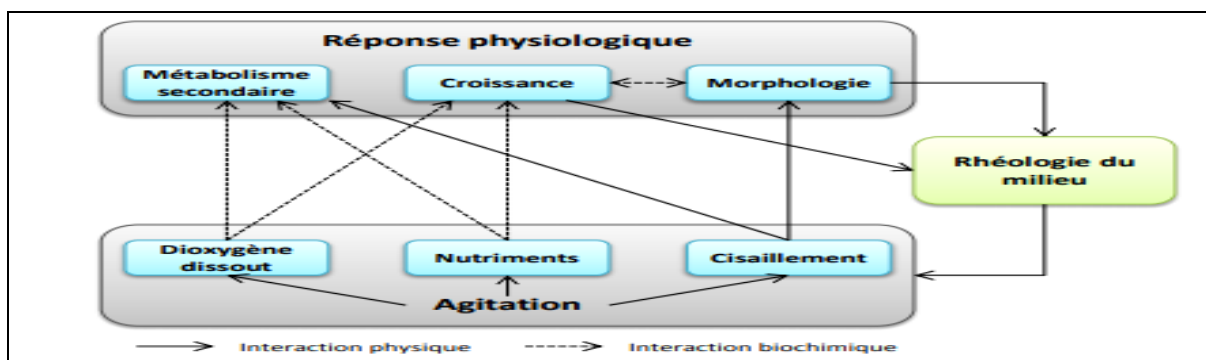


Figure 4: Interconnexion des paramètres relatifs à l'hydrodynamique du fermenteur, d'après Olmos *et al.* (2012).

Milieux de culture

1. **Milieu Mueller-Hinton** : milieu de culture pour déterminer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.
 - Extrait de viande: 3g ;
 - hydrolysate de caséine : 17,5 g ;
 - amidon : 1,5 g ;
 - agar : 17,0 g ;
 - eau distillée : 1000 ml;
 - pH = 7,2.

2. **Milieu PDA** (Potato Dextrose Agar) (Rappilly, 1968).
 - Filtrat de pomme de terre: 500 ml;
 - glucose: 20 g;
 - agar: 20 g;
 - eau distillée: 500 ml;
 - pH= 7,2.

Le filtrat est préparé en mettant à bouillir 200 à 250 g de pomme de terre épluchée dans 500 ml d'eau distillée.



Synthèse bibliographique



Matériel et méthodes



Résultats et discussion



Références bibliographiques



Liste des figures



Liste des tableaux



Conclusion



Introduction