

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

MESSALI Hind

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Microbiologie Appliquée

THÈME

**Évaluation du potentiel antimicrobien de
métabolites d'actinobactéries provenant de
l'environnement marin.**

Soutenu le 30/06/2026

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président	ARABI Abed	MCA	U. Mostaganem
Examineur	HAMOUM Hakim	MCB	U. Mostaganem
Encadrant	DJIBAOUI Rachid	Pr	U. Mostaganem

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À la mémoire de mon cher grand-père, que Dieu ait son âme en Sa sainte miséricorde.

À celui qui restera toujours présent dans mon cœur et dans mes pensées, et dont le souvenir demeure une source de force, de fierté et d'inspiration.

À mes chers parents, ma mère et mon père,

Pour leur amour, leur tendresse infinie, leurs sacrifices, leur soutien et leurs encouragements qui m'ont accompagnée tout au long de mon parcours.

Aucun mot ne saurait exprimer ma reconnaissance envers eux pour tout ce qu'ils ont fait pour moi.

À mon cher frère,

Pour son soutien, sa présence, son affection et ses encouragements qui m'ont donné la force d'avancer et de poursuivre ce chemin avec confiance.

À mes chers chats, Évouche et Enzo,

Pour leur douce présence, leur compagnie silencieuse et les petits moments de bonheur qu'ils m'ont offerts durant ce parcours.

À ma chère amie Nourhane et à sa petite famille,

Pour leur affection, leur soutien, leur bienveillance et tous les beaux moments partagés.

À mes chères amies : Yamina, Sanaa, Imane, Ismahane et Faten,

Pour leur amitié sincère, leur présence précieuse, leurs encouragements et leur soutien moral tout au long de ce chemin.

À tous les membres des familles Messali et Ghali,

À toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à ma réussite et m'ont accompagnée par une parole, un geste ou une pensée bienveillante.

MESSALI Hind

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à mon encadrant, le **Professeur DJIBAOUI**

Rachid. Les mots de remerciement ne sauraient lui rendre pleinement justice. Je le remercie sincèrement pour sa présence constante, sa patience, son soutien, ses précieux conseils ainsi que pour l'aide qu'il m'a apportée tout au long de ce travail. Travailler à ses côtés a véritablement été un rêve, et une fois devenu réalité, il restera pour moi un très beau souvenir.

J'adresse également mes sincères remerciements à Monsieur le Président **Dr. ARABI Abed**, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce jury. Je le remercie aussi pour sa disponibilité, ses conseils et ses encouragements tout au long de la réalisation de ce travail. Sa présence au laboratoire a contribué à créer un cadre de travail favorable et motivant.

J'exprime également mes sincères remerciements à monsieur l'examineur, **Dr. HAMOUM Hakim**, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Je le remercie pour ses conseils, sa bienveillance, ainsi que pour l'atmosphère agréable qu'il a contribué à instaurer au laboratoire, sans oublier son accompagnement durant toutes mes années d'études.

Je tiens à adresser des remerciements à **Mme Amina TAHLAITI**, technicienne de laboratoire LMBV, pour sa disponibilité, sa gentillesse et l'aide précieuse qu'elle m'a apportée.

Je remercie également **Mme Fatima DAMENE**, technicienne de laboratoire, pour son aide.

Je tiens également à remercier Monsieur **SOUANE Abdelkader**, magasinier de l'Université de Mostaganem, pour sa disponibilité et l'aide qu'il m'a apportée.

Mes remerciements vont également à mes honorables enseignants : **M. BOUZNAD Ahcene**, **M. CHIBANI Abdelwaheb**, **M. MEKHALDI Abdelkader**, **Mme DALACHE Fatiha**, **Mme BENGUENEB Asma**, **Mme BOUABSA Foufa**, **Mme BENSLIMANE Sabria** et **Mme AIT CHABANE Ouiza**, pour leurs enseignements, leurs conseils, leur accompagnement et pour tout ce qu'ils m'ont apporté tout au long de mon parcours universitaire.

الملخص

تمثل المقاومة المتزايدة للكائنات الحية الدقيقة للمضادات الحيوية تحديًا كبيرًا للصحة العمومية، مما يستدعي البحث عن عوامل جديدة مضادة للميكروبات. وتُعدّ الأكتينوبكتيريا البحرية، ولا سيما التابعة لجنس *Streptomyces*، مصدرًا واعدًا للمستقلبات الثانوية ذات النشاط الحيوي. هدفت هذه الدراسة إلى عزل الأكتينوبكتيريا البحرية وتوصيفها، وتقييم قدرتها المضادة للميكروبات وخصائصها البيوتكنولوجية، بهدف تحديد السلالات القادرة على إنتاج مركبات جديدة ذات أهمية صيدلانية بالدرجة الأولى.

تم عزل الأكتينوبكتيريا البحرية من الطحالب والرواسب البحرية المجمعة من الساحل البحري لولاية مستغانم (الجزائر). وخضعت العزلات للتنقية ثم التوصيف المورفولوجي والفسولوجي والكيميائي الحيوي. كما تم تقييم إمكاناتها البيوتكنولوجية من خلال دراسة الأنشطة الإنزيمية، وخصائص تعزيز نمو النباتات، والنشاط المضاد للميكروبات. بعد ذلك، زُرعت السلالات الأكثر كفاءة لإنتاج مستقلباتها الثانوية واستخلصها وتركيزها، ثم اختُبرت فعاليتها بطريقة الانتشار بالأقراص ضد عدد من البكتيريا الممرضة والفطريات.

أسفرت الدراسة عن عزل ثماني عزلات من الأكتينوبكتيريا البحرية، منها عزلتان من الطحالب وست عزلات من الرواسب البحرية، تنتمي أساسًا إلى الأجناس *Streptomyces* و *Nocardiopsis* و *Micromonospora* و *Microellobosporia*. أظهرت جميع العزلات نموًا عند تركيز 3% من كلوريد الصوديوم، في حين حافظت العزلة I₃ وحدها على نمو غزير عند تركيز 10%، مما يدل على قدرتها العالية على تحمل الملوحة. ومن بين جميع العزلات، تميزت السلالتان I₁ و I₃ بأفضل نشاط مضاد للميكروبات. فقد حققنا، باستخدام طريقة اللمة المركزية، تثبيطًا كليًا (30 مم) لعدة بكتيريا ممرضة، منها *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae*. كما أكدت طريقة الخطوط المتقاطعة تفوق العزلة I₃، حيث تراوحت مناطق التثبيط بين 45 و 61 مم، مقابل 3 إلى 21 مم للعزلة I₁، مما يدل على امتلاكها نشاطًا واسع الطيف ضد البكتيريا موجبة الغرام وسالبة الغرام، إضافة إلى الفطر *Candida albicans*. وأظهرت المستخلصات الخام، التي اختُبرت بطريقة الانتشار بالأقراص، مناطق تثبيط تراوحت بين 7 و 13.5 مم، مع بقاء العزلة I₃ الأكثر فعالية، رغم أن نشاطها كان أقل من نشاط السيبروفلوكساسين (29-37 مم). وفيما يخص الفطريات المسببة لأمراض النبات، أظهرت مستخلصات العزلتين I₁ و I₃ نشاطًا ضد السلالتين المختبرتين *Alternaria alternata* و *Alternaria sp*. فبالنسبة لـ *Alternaria alternata*، بلغت أقطار التثبيط 19 مم للعزلة I₁ و 33 مم للعزلة I₃، مقابل 30 مم للإيكونازول. أما بالنسبة لـ *Alternaria sp*، فكانت 32 مم للعزلة I₁ و 50 مم للعزلة I₃، مقابل 28 مم للإيكونازول بالإضافة إلى ذلك، أظهرت العزلات أنشطة إنزيمية متباينة، شملت الأميلاز والبكتيناز والسليلاز والبروتياز والليباز، إلى جانب بعض الصفات الوظيفية التكميلية مثل تثبيط الأزوت وإذابة الزنك أو الفوسفات. تبرز هذه النتائج الإمكانات البيوتكنولوجية الكبيرة للأكتينوبكتيريا البحرية المعزولة من ساحل مستغانم، ولا سيما العزلة I₃، التي تُعد مرشحًا واعدًا لإنتاج مستقلبات ثانوية جديدة ذات نشاط مضاد للبكتيريا والفطريات.

الكلمات المفتاحية: الأكتينوبكتيريا البحرية، *Streptomyces*، المستقلبات الثانوية، النشاط المضاد للميكروبات.

Abstract

The increasing resistance of microorganisms to antibiotics has become a major public health concern, highlighting the urgent need to discover new antimicrobial agents. Marine actinobacteria, particularly those belonging to the genus *Streptomyces*, represent a promising source of bioactive secondary metabolites. This study aimed to isolate and characterize marine actinobacteria, evaluate their antimicrobial and biotechnological potential, and identify strains capable of producing novel compounds of primary pharmaceutical interest.

Marine actinobacteria were isolated from algae and marine sediments collected along the coast of Mostaganem, Algeria. The isolates were purified and characterized using morphological, physiological, and biochemical approaches. Their biotechnological potential was assessed through enzymatic activities, plant growth-promoting rhizobacteria traits, and antimicrobial activities. The most promising strains were subsequently cultivated for the production, extraction, and concentration of secondary metabolites, whose antimicrobial activity was evaluated using the disk diffusion method against several pathogenic bacteria and fungi.

Eight marine actinobacterial isolates were obtained, including two from algae and six from marine sediments, belonging mainly to the genera *Streptomyces*, *Nocardopsis*, *Micromonospora*, *Microellbosporia*, and *Streptosporangium*. All isolates grew at 3% NaCl, whereas only isolate I₃ maintained abundant growth at 10% NaCl, demonstrating high halotolerance. Among the isolates, strains I₁ and I₃ exhibited the strongest antimicrobial activity. Using the central streak method, they produced complete inhibition (30 mm) against several pathogenic bacteria, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae*. The cross-streak method confirmed the superior performance of isolate I₃, with inhibition zones ranging from 45 to 61 mm, compared with 3 to 21 mm for I₁, indicating broad-spectrum activity against Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, and *Candida albicans*. Crude extracts tested by the disk diffusion method produced inhibition zones ranging from 7 to 13.5 mm, with isolate I₃ remaining the most active, although less effective than ciprofloxacin (29–37 mm). Regarding phytopathogenic fungi, extracts from isolates I₁ and I₃ showed activity against the tested strains *Alternaria alternata* and *Alternaria* sp. For *Alternaria alternata*, inhibition diameters were 19 mm for I₁ and 33 mm for I₃, compared to 30 mm for econazole. For *Alternaria* sp., they were 32 mm for I₁ and 50 mm for I₃, compared to 28 mm for econazole. Furthermore, the isolates showed variable enzymatic activities, including amylolytic, pectinolytic, cellulolytic, proteolytic, and lipolytic activities, as well as some complementary functional traits such as nitrogen fixation and zinc or phosphate solubilization.

These findings demonstrate the considerable biotechnological potential of marine actinobacteria isolated from the Mostaganem coastline, particularly isolate I₃, which represents a promising candidate for the production of novel antibacterial and antifungal secondary metabolites.

Keywords: Marine actinobacteria; *Streptomyces*; secondary metabolites; antimicrobial activity.

Résumé

La résistance croissante des microorganismes aux antibiotiques constitue un enjeu majeur de santé publique, rendant indispensable la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. Les actinobactéries marines, en particulier celles du genre *Streptomyces*, représentent une source prometteuse de métabolites secondaires bioactifs. Cette étude vise à isoler et caractériser des actinobactéries marines, à évaluer leur potentiel antimicrobien et leurs propriétés biotechnologiques, afin d'identifier des souches susceptibles de produire de nouveaux composés d'intérêt principalement pharmaceutique.

Des actinobactéries marines ont été isolées à partir d'algues et de sédiments prélevés sur le littoral de Mostaganem (Algérie). Les isolats ont été purifiés puis caractérisés sur les plans morphologique, physiologique et biochimique. Leur potentiel biotechnologique a été évalué à travers la recherche d'activités enzymatiques, de caractères de promotion de la croissance des plantes et d'activités antimicrobiennes. Les souches les plus prometteuses ont ensuite été cultivées pour la production, l'extraction et la concentration de leurs métabolites secondaires, dont l'activité a été testée par diffusion sur disque contre plusieurs bactéries pathogènes et des champignons.

L'étude a permis d'isoler **huit actinobactéries marines**, dont deux issues d'algues et six de sédiments, appartenant principalement aux genres *Streptomyces*, *Nocardiopsis*, *Micromonospora*, *Microelloboporia* et *Streptosporangium*. Tous les isolats ont présenté une croissance à 3 % de NaCl, tandis que seul l'isolat **I₃** a conservé une croissance abondante à 10 % de NaCl, témoignant d'une forte halotolérance. Parmi les huit isolats, les souches **I₁** et **I₃** se sont distinguées par leur activité antimicrobienne. Par la méthode de la touche centrale, elles ont provoqué une inhibition totale (30 mm) de plusieurs bactéries pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. La méthode des stries croisées a confirmé la performance de l'isolat **I₃**, avec des zones d'inhibition comprises entre **45 et 61 mm**, contre **3 à 21 mm** pour **I₁**, traduisant un large spectre d'activité contre les bactéries à Gram positif, à Gram négatif et *Candida albicans*. Les extraits bruts testés par diffusion sur disque ont généré des zones d'inhibition variant de **7 à 13,5 mm**, l'isolat **I₃** demeurant le plus actif, bien que son activité soit inférieure à celle de la ciprofloxacine (**29 à 37 mm**). Concernant les champignons phytopathogènes, les extraits des isolats **I₁** et **I₃** ont montré une activité contre les souches testées *Alternaria alternata* et *Alternaria sp.* Chez *Alternaria alternata*, les diamètres d'inhibition étaient de 19 mm pour **I₁** et de 33 mm pour **I₃**, contre 30 mm pour l'éconazole. Chez *Alternaria sp.*, ils étaient de 32 mm pour **I₁** et de 50 mm pour **I₃**, contre 28 mm pour l'éconazole.

Par ailleurs, les isolats ont montré des activités enzymatiques variables, notamment amylolytiques, pectinolytiques, cellulolytiques, protéolytiques et lipolytiques, ainsi que certains traits fonctionnels complémentaires tels que la fixation de l'azote et la solubilisation du zinc ou du phosphate. Ces résultats mettent en évidence le fort potentiel biotechnologique des actinobactéries marines du littoral de Mostaganem, en particulier de l'isolat **I₃**, qui constitue un candidat prometteur pour la production de nouveaux métabolites antibactériens et antifongiques.

Mots-clés : Actinobactéries marines, *Streptomyces*, métabolites secondaires.

Liste des Abréviations

A ₁ -A ₁₂	Échantillons d'algues
aac	Gène codant une enzyme d'acétylation des aminosides
ABC	ATP-Binding Cassette
ACC	1-aminocyclopropane-1-carboxylate
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMEs	Aminoglycoside-Modifying Enzymes / Enzymes modifiant les aminosides
ant	Gène codant une enzyme d'adénylation des aminosides
anti-SMASH	Antibiotics and Secondary Metabolite Analysis Shell
aph	Gène codant une enzyme de phosphorylation des aminosides
ARN	Acide ribonucléique
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique
ARNr 16S	Acide ribonucléique ribosomique 16S
ARNr 23S	Acide ribonucléique ribosomique 23S
ATCC	American Type Culture Collection
BAGEL	Bacteriocin Genome Mining Tool
BLSE	Bêta-lactamases à spectre étendu
C1-C2	Codes des champignons phytopathogènes testés
Cata	Catalase
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
ClustScan	Outil bioinformatique d'analyse des clusters biosynthétiques
CTX-M	Céfotaximase-Munich
D-Ala	D-Alanine
D-Ala-D-Ala	D-Alanine-D-Alanine
DAP	Acide 2,6-diaminopimélique
dDDH	Digital DNA-DNA Hybridization / Hybridation ADN-ADN numérique
DHPS	Dihydroptéroate synthase
DMSO	Diméthylsulfoxyde
erm	Gène codant une méthyltransférase de l'ARNr 23S
ESBL	Extended-Spectrum β -Lactamases
ESKAPE	Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa et Enterobacter spp.
folP	Gène codant la dihydroptéroate synthase

G + C	Guanine + Cytosine
GBL	γ -butyrolactones
GES	β -lactamase de type GES
gyrA / gyrB	Gènes codant des sous-unités de l'ADN gyrase
HGT	Horizontal Gene Transfer / Transfert horizontal des gènes
I1-I8	Isolats d'actinobactéries
ISP-2 / ISP2	International Streptomyces Project 2
LL-DAP	Acide LL-2,6-diaminopimélique
m/m	Masse/Masse
m/v	Masse/Volume
MA	Mycélium aérien
MATE	Multidrug And Toxic Compound Extrusion
MCA	Maître de Conférences Classe A
MCB	Maître de Conférences Classe B
mcr-1	Mobilized Colistin Resistance Gene 1
MDR	Multidrug Resistance / Multirésistance
mecA	Gène de résistance à la méticilline
MFS	Major Facilitator Superfamily
MH	Mueller-Hinton
MLSB	Macrolides, lincosamides et streptogramines B
Mob	Mobilité
MRSA	Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus
MS	Mycélium du substrat
murA	Gène impliqué dans la biosynthèse du peptidoglycane
NDM-1	New Delhi Metallo- β -lactamase 1
Ox	Oxydase
p/p	Poids/Poids
PACE	Proteobacterial Antimicrobial Compound Efflux
parC / parE	Gènes codant des sous-unités de la topoisomérase IV
PBP2a	Penicillin-Binding Protein 2a
PDA	Potato Dextrose Agar
PER	Pseudomonas Extended Resistance
PGPR	Plant Growth-Promoting Rhizobacteria
PRISM	Prediction Informatics for Secondary Metabolomes
RND	Resistance-Nodulation-Division

S1-S9	Souches microbiennes de référence
SARM	Staphylococcus aureus résistant à la méticilline
SARP	Streptomyces Antibiotic Regulatory Proteins
SCA	Starch Casein Agar / Gélose amidon-caséine
Sid1-Sid3	Échantillons de sédiments
SMR	Small Multidrug Resistance
sp.	Species / Espèce non déterminée
spp.	Species pluralis / Plusieurs espèces
TetR	Famille de répresseurs transcriptionnels TetR
tr/min	Tours par minute
TSI	Triple Sugar Iron
UFC	Unité Formant Colonie
UFC/mL	Unité Formant Colonie par millilitre
vanA / vanB / vanD / vanM	Gènes de résistance à la vancomycine
VEB	Vietnam Extended-Spectrum β -Lactamase
VRE	Vancomycin-Resistant Enterococci
WHO	World Health Organization
XDR	Extensively Drug Resistant / Ultrarésistance

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Caractérisation comparative des actinobactéries marines et terrestres	30
Tableau 02	Métabolites antibactériens issus des actinobactéries marines durant la période 2016–2023	37
Tableau 03	Métabolites antifongiques issus des actinobactéries marines durant la période 2016–2023	39
Tableau 04	Métabolites antitumoraux issus des actinobactéries marines durant la période 2016–2023	41
Tableau 05	Liste des souches microbiennes utilisées	45
Tableau 06	Caractéristiques des échantillons collectés lors de la campagne d'échantillonnage.	46
Tableau 07	Caractères macromorphologiques des isolats.	59
Tableau 08	Caractéristiques biochimiques des isolats d'actinobactéries marines étudiés.	64
Tableau 09	Identification présomptive des isolats d'actinobactéries marines sur la base des caractères micromorphologiques	65
Tableau 10	Test de la tolérance des isolats d'actinobactéries à la salinité.	66
Tableau 11	Évaluation des activités PGPR des isolats d'actinobactéries marines.	67
Tableau 12	Profil phénotypique des souches microbiennes de référence utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.	68
Tableau 13	Effet antagoniste des isolats I ₁ et I ₃ sur les souches bactériennes de référence.	71
Tableau 14	Activité antagoniste des isolats d'actinobactéries (I ₁ et I ₃) contre différentes bactéries pathogènes évaluée par la méthode de la touche centrale.	73
Tableau 15	Résultats de la diffusion sur disque des extraits des isolats d'actinobactéries contre des souches pathogènes	77

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Divers mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques, principalement médiés par la paroi cellulaire, les acides nucléiques et les protéines	7
Figure 02	Représentations schématiques des divers types de chaînes sporales chez les actinobactéries	23
Figure 03	Chaînes de spores chez les <i>Streptomyces</i>	24
Figure 04	Arbre phylogénétique des Actinobactéries basé sur le gène de l'ARNr 16S	26
Figure 05	Cycle de vie des actinobactéries sporulantes	27
Figure 06	Répartition écologique des actinobactéries	28
Figure 07	Stations de prélèvement le long du littoral de Mostaganem : (A) Aïn Brahim, (B) Diancy et (C) 2 ^{ème} Plage.	47
Figure 08	Prélèvements des échantillons d'algues et de sédiments marins.	47
Figure 09	Schéma présentant la culture sur lame	50
Figure 10	Schéma présentant la culture sur lamelle	50
Figure 11	Représentation schématique du test de stries croisées (Cross-streak assay) sur milieu Mueller-Hinton.	54
Figure 12	Représentation schématique de la méthode de la touche centrale utilisée pour évaluer l'activité antagoniste des actinobactéries	55
Figure 13	Aspect macroscopique des deux algues A ₁ et A ₂ .	58
Figure 14	Morphotypes de colonie d'actinobactéries marines isolées après la purification.	60
Figure 15	Aspect microscopique des isolats d'actinobactéries révélé par la coloration de Gram	62
Figure 16	Aspect microscopique des isolats d'actinobactéries après culture sur lame aux grossissements x 40 et x 100.	63
Figure 17	Activités PGPR des isolats d'actinobactéries marines.	67
Figure 18	Aspect macroscopique des souches de référence testées.	69
Figure 19	Aspect microscopique des souches de référence testées.	70
Figure 20	Interaction entre les isolats d'actinobactéries et les souches cibles	72
Figure 21	Interaction entre les isolats d'actinobactéries et les souches cibles évaluée par la méthode de la touche centrale.	73
Figure 22	Activité antibactérienne des métabolites d'actinobactéries I ₁ (MH ₁) et I ₃ (H ₁)	78
Figure 23	Activité antifongique des métabolites d'actinobactéries I ₁ (MH ₁) et I ₃ (H ₁)	78

Table des Matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Partie Bibliographique

Chapitre 1. État actuel des connaissances sur la multirésistance microbienne et les métabolites bioactifs prometteurs.

1.1. Généralités sur les agents pathogènes microbiens	5
1.2. La multirésistance microbienne : définition et importance	6
1.3. Mécanismes moléculaires de la multirésistance microbienne	7
1.3.1. Mécanismes médiés par la paroi cellulaire	7
1.3.2. Production de β -lactamases	7
1.3.3. Résistance aux glycopeptides	8
1.3.4. Mécanismes médiés par les acides nucléiques	8
1.3.4.1. Mutations chromosomiques	8
1.3.5. Pompes d'efflux	8
1.3.6. Altération des porines	9
1.3.7. Transfert horizontal des gènes (HGT)	9
1.3.8. Mécanismes médiés par les protéines	9
1.3.9. Modification des ribosomes	9
1.3.10. Rôle des biofilms dans la multirésistance	10
1.4. Principaux agents pathogènes multirésistants	10
1.4.1. Multirésistance des pathogènes ESKAPE	12
1.5. Stratégies actuelles de lutte contre la multirésistance	12
1.5.1. Découverte de nouveaux antibiotiques et de nouvelles cibles bactériennes	12
1.5.2. Thérapies antivirulence	12
1.5.3. Utilisation du microbiome comme source thérapeutique	13
1.5.4. Repositionnement de médicaments existants	13
1.5.5. Nanotechnologies et systèmes innovants de délivrance des antibiotiques	13
1.5.6. Thérapie par bactériophages	14
1.5.7. Peptides antimicrobiens et enzymes antibactériennes	14
1.6. Programmes de bon usage des antibiotiques (Antibiotic Stewardship)	14
1.7. Métabolites bioactifs prometteurs contre les pathogènes multirésistants	15
1.7.1. Composés phénoliques et flavonoïdes	15
1.7.2. Alcaloïdes antibactériens	15
1.7.3. Terpénoïdes et huiles essentielles	16
1.7.4. Composés organosulfurés	16
1.7.5. Coumarines	17
1.7.6. Métabolites fongiques	17
1.7.7. Peptides antimicrobiens (AMPs)	17
1.8. Métabolites d'origine actinobactérienne : une source majeure de nouveaux Antimicrobiens	17

2.1. Généralité sur les actinobactéries	21
2.2. Classification taxonomique des actinobactéries	21
2.2.1. Classification morphologique	21
2.2.1.1. Morphologie du mycélium	22
2.2.1.2. Morphologie des chaînes sporales	22
2.2.1.3. Longueur de la chaîne de spores	24
2.2.1.4. Pigments mélanoides	25
2.2.2. Classification chimio-taxonomique	25
2.2.3. Classification moléculaire	25
2.3. Cycle de développement des actinobactéries	27
2.4. Écologie et distribution des actinobactéries	28
2.4.1. Actinobactéries terrestres	28
2.4.2. Actinobactéries marines	29
2.5. Rôle et intérêt des actinobactéries	31

3.1. Régulation des métabolites secondaires des actinobactéries	35
3.2. Activités biologiques des métabolites secondaires	36
3.2.1. Métabolites antibactériens	36
3.2.2. Métabolites antifongiques	38
3.2.3. Métabolites Antiviraux	40
3.2.4. Métabolites anticancéreux	40

Chapitre 4. Matériel et méthodes

4.1. Objectif du travail	45
4.2. Lieu du travail	45
4.3. Matériel	45
4.3.1. Matériel biologique	45
4.3.2. Matériel non biologique	46
4.4. Isolement des actinobactéries marines	46
4.4.1. Cadre d'échantillonnage	46
4.4.2. Isolement à partir des algues	48
4.4.3. Isolement à partir des sédiments	48
4.5. Purification des isolats	49
4.6. Conservation des souches	49
4.7. Caractérisation morphologique, physiologique et biochimique d'isolats d'actinobactéries marines	49
4.7.1. Caractérisation morphologique	49
4.7.1.1. Étude macromorphologique	49
4.7.1.2. Étude micromorphologique	50
4.7.1.2.1. Observation microscopique après culture sur lame (technique du sandwich gélosé)	50
4.7.1.2.2. Observation microscopique après Culture sur lamelle	50

4.7.1.2.3. Après coloration de Gram	51
4.7.2. Caractérisations physiologiques et biochimiques	51
4.7.2.1. Test de la catalase	51
4.7.2.2. Test de l'oxydase	51
4.7.2.3. Test du citrate	51
4.7.2.4. Recherche de l'uréase	51
4.7.2.5. Recherche de la tryptophane désaminase	52
4.7.2.6. Production de sulfure d'hydrogène	52
4.7.3. Tolérance à différentes concentrations de NaCl	52
4.7.4. Recherche de traits PGP complémentaires	52
4.8. Réactivation et confirmation des souches microbiennes	53
4.8.1. Réactivation des souches	53
4.8.2. Confirmation des souches	53
4.8.2.1. Étude des caractères morphologiques	53
4.8.2.2. Tests biochimiques	54
4.9. Activité antimicrobienne	54
4.9.1. Criblage primaire de l'activité antimicrobienne	54
4.9.1.1. Méthode des stries croisées	54
4.9.1.2. Méthode de la touche centrale (central spot assay)	54
4.9.2. Criblage secondaire de l'activité antimicrobienne	55
4.9.2.1. Fermentation, extraction et concentration des métabolites secondaires à potentiel antimicrobien	55
4.9.2.1.1. Fermentation sur milieu solide	55
4.9.2.1.2. Fermentation sur milieu liquide	56
4.9.2.2. Méthode de diffusion sur gélose	56

Chapitre 5. Résultats et discussion

5.1. Isolement et purification des actinobactéries marines	58
5.1.1. À partir des algues	58
5.1.2. À partir des sédiments	58
5.2. Identification des actinobactéries	59
5.2.1. Aspect macroscopique	59
5.2.2. Aspect microscopique	61
5.2.3. Tests biochimiques (complémentaires)	64
5.2.4. Test de tolérance à la salinité	65
5.2.5. Activité PGP	66
5.3. Activité antagoniste des actinobactéries	67
5.3.1. Confirmation des souches testées	67
5.3.2. Test d'antagonisme	71
5.3.2.1. Méthode des stries croisées	71
5.3.2.2. Méthode de la touche centrale (central spot assay)	72
5.3.3. Activité antimicrobienne des métabolites actinobactériens	73
5.3.3.1. En milieu liquide	73
5.3.3.2. En milieu solide	74
Conclusion	80
Références bibliographiques	
Annexes	



Introduction

La résistance aux agents antimicrobiens constitue aujourd'hui l'un des défis les plus préoccupants de la santé publique mondiale. L'émergence et la propagation rapide de microorganismes pathogènes multirésistants (MDR) et ultrarésistants (XDR) compromettent l'efficacité des antibiotiques conventionnels, limitant considérablement les options thérapeutiques disponibles et entraînant une augmentation de la morbidité, de la mortalité ainsi que des coûts liés aux soins de santé. Parmi les bactéries les plus préoccupantes figurent notamment les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) et les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), dont la prévalence ne cesse d'augmenter à l'échelle mondiale. Cette situation préoccupante souligne l'urgence de découvrir de nouveaux agents antimicrobiens capables de contourner les différents mécanismes de résistance bactérienne (Yi *et al.*, 2025 ; Ibrahim *et al.*, 2025).

Dans cette perspective, les produits naturels demeurent une source privilégiée pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques. Parmi les microorganismes producteurs de métabolites bioactifs, les actinobactéries, et plus particulièrement les espèces du genre *Streptomyces*, occupent une place prépondérante. Elles sont à l'origine de plus des deux tiers des antibiotiques d'origine naturelle utilisés en médecine et continuent de représenter un réservoir exceptionnel de métabolites secondaires présentant une grande diversité structurale et des mécanismes d'action innovants. Les travaux récents rapportent qu'entre 2020 et 2024, près de 170 nouveaux métabolites antibactériens ont été isolés à partir d'actinobactéries terrestres et marines, plusieurs d'entre eux présentant une activité remarquable contre des bactéries multirésistantes, parfois supérieure à celle des antibiotiques de référence. Par ailleurs, les progrès réalisés en génomique, et en bio-informatique permettent aujourd'hui d'exploiter des clusters biosynthétiques auparavant silencieux, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour la découverte d'antimicrobiens originaux (Yi *et al.*, 2025).

Ainsi, les actinobactéries marines se sont imposées comme une source particulièrement prometteuse de microorganismes producteurs de métabolites originaux. Soumises à des conditions écologiques extrêmes telles que la salinité élevée, la pression hydrostatique, les variations de température ou encore une forte compétition microbienne, les actinobactéries marines ont développé des voies métaboliques spécifiques conduisant à la biosynthèse de molécules inédites. Contrairement à leurs homologues terrestres, largement exploitées depuis plusieurs décennies, elles demeurent encore relativement peu étudiées et représentent ainsi un réservoir largement inexploité de nouvelles structures chimiques. De nombreuses études ont démontré leur capacité à produire des métabolites présentant des activités antibactériennes, antifongiques, antivirales, anticancéreuses, anti-inflammatoires et antioxydantes, confirmant

leur intérêt majeur pour les domaines biotechnologique et pharmaceutique (**Begani *et al.*, 2018 ; Arulprakasam et Dharumadurai, 2021 ; Liu *et al.*, 2023 ; Wang *et al.*, 2024**).

Dans ce contexte, la recherche de nouvelles molécules antimicrobiennes issues des actinobactéries marines constitue une stratégie particulièrement prometteuse pour répondre à la menace croissante de la multirésistance bactérienne. Le présent manuscrit s'inscrit dans cette démarche et vise à explorer le potentiel antibactérien des métabolites secondaires produits par des actinobactéries isolées à partir d'un environnement marin.

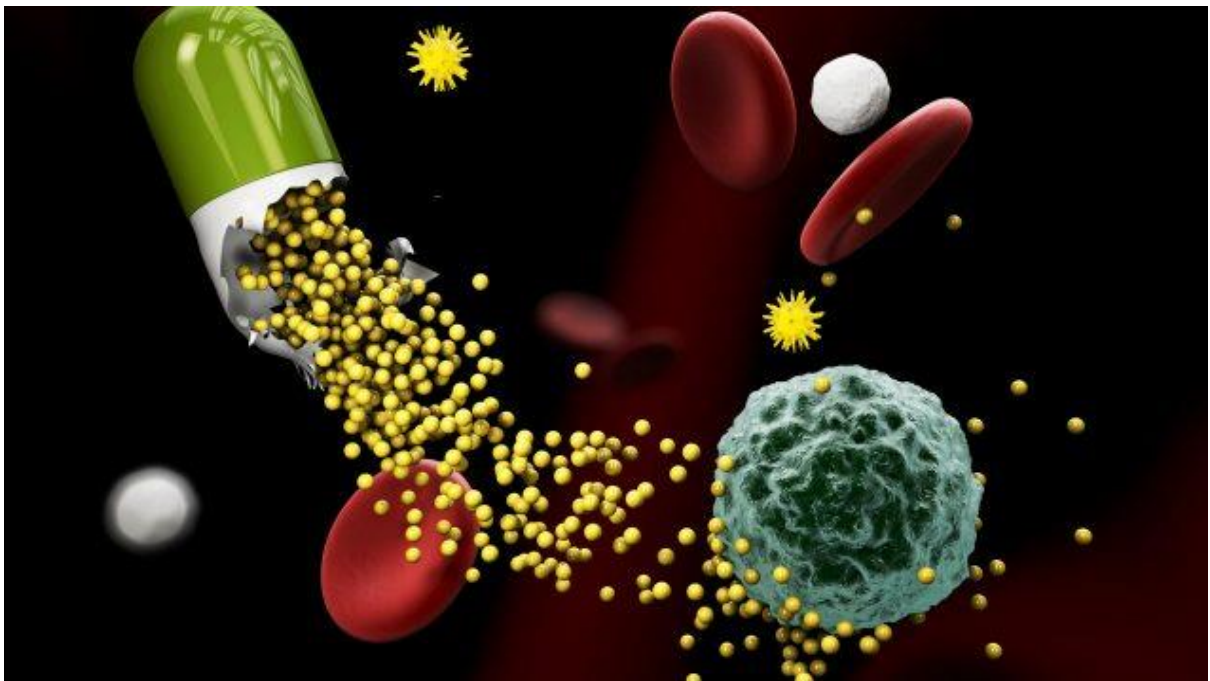
Ce travail porte sur l'isolement et la caractérisation de ces microorganismes, l'évaluation de leur activité antimicrobienne contre des bactéries et une levure d'intérêt clinique, ainsi que l'identification de souches présentant un fort potentiel biotechnologique pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens. À titre complémentaire, certaines activités enzymatiques et quelques traits fonctionnels associés au potentiel biotechnologique des isolats ont été recherchés afin de compléter leur caractérisation, sans que cela constitue l'axe central de l'étude.

Ce manuscrit est organisé en deux parties. La première présente une synthèse bibliographique consacrée à la multirésistance microbienne, aux actinobactéries et à leurs métabolites secondaires. La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes expérimentales utilisés pour l'isolement des actinobactéries, leur caractérisation et l'évaluation de leur activité biologique expose les résultats obtenus et leur discussion. Enfin, une conclusion récapitule les principaux acquis de cette étude et propose des perspectives de recherche visant à valoriser les actinobactéries marines comme source de nouveaux métabolites bioactifs.

**Partie
Bibliographique**

Chapitre 1

État actuel des connaissances sur la multirésistance microbienne et les métabolites bioactifs prometteurs.



1.1. Généralités sur les agents pathogènes microbiens

Les agents pathogènes microbiens sont des organismes capables de provoquer des maladies chez leurs hôtes. Ils présentent une grande diversité taxonomique et comprennent les bactéries, les virus, les champignons, les protozoaires ainsi que certains parasites multicellulaires (**Balloux et van Dorp, 2017**). Ces microorganismes sont largement répandus dans l'environnement et peuvent être transmis à l'être humain par différentes voies, notamment l'eau, les aliments contaminés, l'air, les aérosols, les poussières ou encore le contact direct avec des animaux ou des personnes infectés (**Yildiz, 2007 ; Janik et al., 2020**). Ces agents constituent une menace majeure pour la santé publique en raison de leur capacité à provoquer des épidémies et des pandémies. Tout au long de l'histoire, plusieurs maladies infectieuses ont profondément affecté les populations humaines. Parmi les exemples les plus marquants figurent la peste noire du XIV^e siècle, responsable de la mort d'environ 30–60 % de la population européenne, ainsi que la variole, qui fut l'une des maladies les plus meurtrières avant son éradication grâce à la vaccination (**Kekic et al., 2025**).

Les agents infectieux sont présents dans de nombreux réservoirs environnementaux. Certaines bactéries, telles que *Vibrio cholerae*, vivent naturellement dans les milieux aquatiques et se transmettent par l'eau ou les aliments contaminés. D'autres, comme *Legionella pneumophila*, colonisent les systèmes d'approvisionnement en eau et provoquent des infections par inhalation d'aérosols contaminés. Le sol constitue également un important réservoir de microorganismes pathogènes, notamment *Bacillus anthracis*, dont les spores peuvent survivre pendant plusieurs décennies (**Yildiz, 2007**). La transmission des agents pathogènes peut être directe ou indirecte. Les zoonoses nécessitent généralement un contact entre l'homme et un animal réservoir, tandis que d'autres maladies se transmettent d'une personne à une autre par les gouttelettes respiratoires, les fluides biologiques ou les surfaces contaminées (**Balloux et van Dorp, 2017**). Une fois introduits dans l'organisme, ils provoquent la maladie par différents mécanismes, notamment la production de toxines, la multiplication rapide dans les tissus de l'hôte ou l'activation excessive du système immunitaire, entraînant des lésions cellulaires et tissulaires (**Balloux et van Dorp, 2017**). À l'échelle mondiale, les maladies infectieuses demeurent une cause importante de morbidité et de mortalité. Les bactéries multirésistantes aux antibiotiques, telles que les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (MRSA), représentent aujourd'hui un problème majeur de santé publique. Par ailleurs, l'émergence et la réémergence de virus hautement pathogènes, tels que les virus Ebola, les virus influenza et le SARS-CoV-2, soulignent l'importance de la surveillance épidémiologique, du

développement de nouvelles thérapies et de l'amélioration des stratégies de prévention et de contrôle des infections (Janik *et al.*, 2020).

1.2. La multirésistance microbienne : définition et importance

La multirésistance microbienne (MDR, *Multidrug Resistance*) désigne la capacité des microorganismes à résister simultanément à plusieurs agents antimicrobiens appartenant à différentes classes thérapeutiques. Cette résistance peut être intrinsèque, lorsqu'elle est naturellement présente chez certaines espèces microbiennes, ou acquise à la suite de mutations génétiques et du transfert horizontal de gènes de résistance entre microorganismes. La multirésistance microbienne constitue aujourd'hui l'une des menaces les plus importantes pour la santé publique mondiale. L'Organisation mondiale de la Santé considère l'antibiorésistance parmi les dix principales menaces pesant sur la santé humaine. L'augmentation du nombre de microorganismes résistants compromet l'efficacité des traitements disponibles et réduit considérablement les options thérapeutiques pour les infections bactériennes, fongiques et parasitaires (World Health Organization [WHO], 2023).

L'émergence de souches multirésistantes entraîne de nombreuses conséquences cliniques et économiques. Elle est associée à une augmentation des échecs thérapeutiques, à un allongement de la durée des hospitalisations, à une augmentation des coûts de prise en charge ainsi qu'à une hausse de la mortalité liée aux maladies infectieuses. Des agents pathogènes responsables d'infections graves, notamment les pneumonies, les septicémies, les infections urinaires et les infections nosocomiales, présentent désormais une résistance à plusieurs antibiotiques couramment utilisés (CDC, 2024). Selon Temesgen et Shiferaw (2025), la propagation rapide de la résistance est principalement favorisée par les mutations chromosomiques ainsi que par le transfert horizontal de gènes via les plasmides, les transposons et les intégrons. Ces mécanismes favorisent l'émergence de microorganismes hautement résistants, souvent appelés « superbactéries », tels que le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et certaines souches résistantes aux carbapénèmes.

D'après les estimations récentes, la résistance aux antimicrobiens est responsable de plusieurs millions de décès associés chaque année dans le monde et pourrait devenir l'une des principales causes de mortalité à l'échelle mondiale si aucune mesure efficace n'est mise en œuvre (WHO, 2023 ; CDC, 2024). Cette situation souligne l'importance du développement de nouveaux antimicrobiens, de l'utilisation rationnelle des antibiotiques et du renforcement des programmes de surveillance de la résistance microbienne.

1.3. Mécanismes moléculaires de la multirésistance microbienne

La multirésistance (MDR, Multidrug Resistance) correspond à la capacité des microorganismes à résister simultanément à plusieurs classes d'agents antimicrobiens. Cette résistance résulte principalement de mécanismes acquis (fig.1) impliquant des modifications de la paroi cellulaire, des altérations génétiques et la production de protéines de résistance (Kekic *et al.*, 2025).

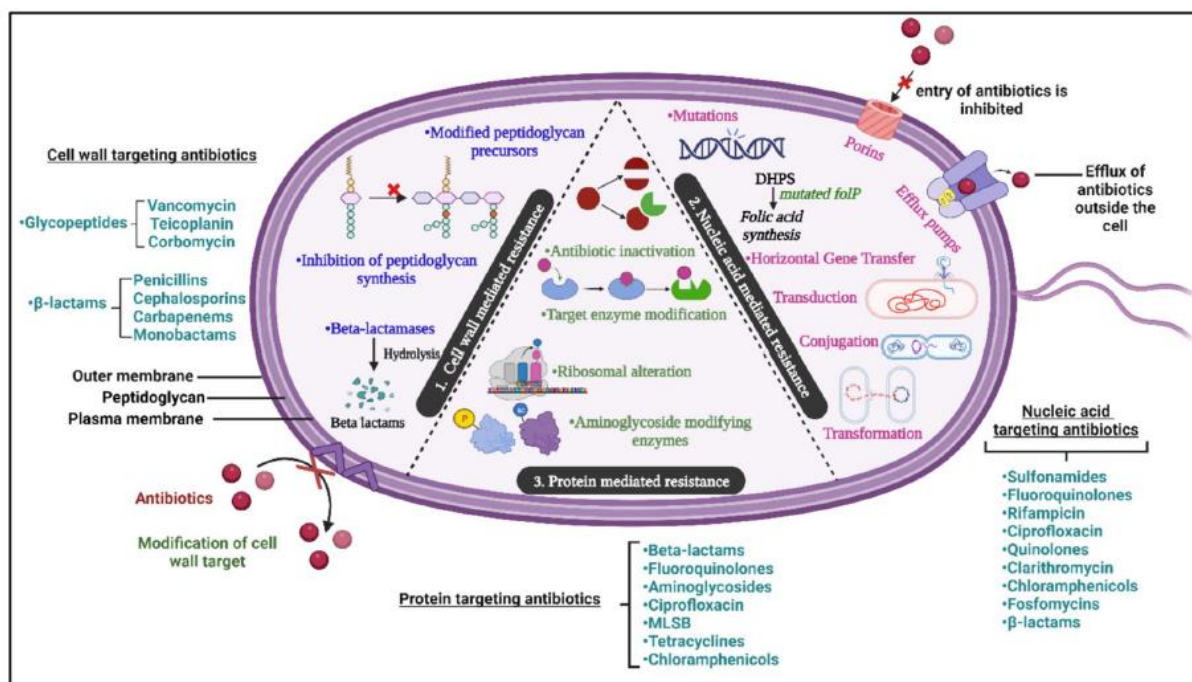


Figure 1. Divers mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques, principalement médiés par la paroi cellulaire, les acides nucléiques et les protéines (Jhalora et Bist, 2025).

1.3.1. Mécanismes médiés par la paroi cellulaire

La paroi bactérienne constitue une cible majeure de nombreux antibiotiques, notamment les β -lactamines et les glycopeptides. Les bactéries peuvent développer une résistance en modifiant la structure de leur paroi ou en produisant des enzymes capables d'inactiver les antibiotiques (Jhalora et Bist, 2025).

1.3.2. Production de β -lactamases

Les β -lactamases sont des enzymes capables d'hydrolyser l'anneau β -lactame des pénicillines, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes, rendant ces molécules inefficaces. Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE ou ESBL) telles que CTX-M, VEB et PER, ainsi que certaines variantes de GES représentent aujourd'hui l'un des principaux mécanismes de résistance chez les bactéries Gram négatif (Davidova-Gerzova *et al.*, 2023).

Parmi elles, la métallo- β -lactamase NDM-1 (New Delhi Metallo- β -lactamase) est particulièrement préoccupante en raison de sa capacité à être transférée par des éléments génétiques mobiles et à conférer une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques (**Khan et al., 2017 ; Akpaka et al., 2021**).

1.3.3. Résistance aux glycopeptides

Les glycopeptides, comme la vancomycine, ciblent normalement les précurseurs D-Ala-D-Ala du peptidoglycane. Les bactéries résistantes modifient cette cible en remplaçant D-Ala-D-Ala par D-Ala-D-Lactate ou D-Ala-D-Sérine grâce aux gènes de résistance *vanA*, *vanB*, *vanD* ou *vanM*. Cette modification réduit fortement l'affinité de la vancomycine pour sa cible (**Jhalora et Bist, 2025**).

1.3.4. Mécanismes médiés par les acides nucléiques

Les mécanismes génétiques jouent un rôle central dans l'apparition et la propagation de la multirésistance.

1.3.4.1. Mutations chromosomiques

Les mutations affectant les gènes cibles des antibiotiques modifient la structure des protéines ciblées et diminuent l'efficacité du traitement. Les mutations des gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE* entraînent par exemple une résistance aux fluoroquinolones en modifiant les topoisomérases bactériennes (**Kekic et al., 2025**).

De même, des mutations du gène *folP* provoquent une résistance aux sulfamides par modification de la dihydroptéroate synthase (DHPS), tandis que des mutations du gène *murA* diminuent la sensibilité à la fosfomycine (**Jhalora et Bist, 2025**).

1.3.5. Pompes d'efflux

Les pompes d'efflux expulsent activement les antibiotiques hors de la cellule bactérienne. Leur surexpression réduit la concentration intracellulaire des molécules antimicrobiennes et favorise l'apparition de phénotypes multirésistants. Les principales familles comprennent :

- RND (Resistance-Nodulation-Division)
- MFS (Major Facilitator Superfamily)
- ABC (ATP-Binding Cassette)
- MATE (Multidrug And Toxic Compound Extrusion)
- SMR (Small Multidrug Resistance)
- PACE (Proteobacterial Antimicrobial Compound Efflux)

Les systèmes AcrAB-TolC chez *Escherichia coli* et MexAB-OprM chez *Pseudomonas aeruginosa* sont parmi les plus étudiés (Akpaka et al., 2021).

1.3.6. Altération des porines

Les porines sont des protéines membranaires permettant l'entrée de nombreuses molécules hydrophiles. Une diminution de leur expression ou des mutations modifiant leur structure limitent la pénétration des antibiotiques, notamment les β -lactamines, les fluoroquinolones et les carbapénèmes (Akpaka et al., 2021).

1.3.7. Transfert horizontal des gènes (HGT)

Le transfert horizontal constitue l'un des mécanismes les plus importants de diffusion de la résistance bactérienne. Il se produit selon trois voies :

Transformation : Absorption d'ADN libre provenant de l'environnement.

Transduction : Transfert de gènes de résistance par des bactériophages.

Conjugaison : Transfert direct de plasmides entre bactéries par contact cellulaire.

Ces mécanismes assurent la diffusion rapide de gènes codant notamment les carbapénémases, les BLSE et les gènes de résistance à la colistine (*mcr-1*) (Liu et al., 2016 ; Kasanga et al., 2024).

1.3.8. Mécanismes médiés par les protéines

Chez *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA), le gène *mecA* code une protéine de liaison aux pénicillines modifiée (PBP2a) présentant une faible affinité pour les β -lactamines. Cette modification permet à la bactérie de poursuivre la synthèse de sa paroi malgré la présence de l'antibiotique (Lakhundi et Zhang, 2018).

Les enzymes modifiant les aminosides (AMEs) réalisent :

- L'acétylation,
- La phosphorylation
- L'adénylation

Des molécules antibiotiques, empêchant leur fixation sur les ribosomes bactériens. Ces enzymes sont codées par divers gènes tels que *aac*, *aph* et *ant* (Jhalora et Bist, 2025).

1.3.9. Modification des ribosomes

Les bactéries peuvent également modifier les ARN ribosomiques cibles des antibiotiques. Les méthyltransférases codées par les gènes *erm* méthylent l'ARNr 23S, réduisant ainsi la fixation des macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS_B). D'autres enzymes modifient l'ARNr 16S et confèrent une résistance aux aminosides (Jhalora et Bist, 2025).

1.3.10. Rôle des biofilms dans la multirésistance

Les biofilms sont des communautés microbiennes organisées au sein d'une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, protéines, lipides et ADN extracellulaire. Cette matrice agit comme une barrière physique limitant la pénétration des antibiotiques. Les biofilms favorisent également :

- Les transferts horizontaux de gènes
- L'accumulation de mutations
- La surexpression des pompes d'efflux
- La survie de cellules persistantes.

Ces caractéristiques augmentent considérablement la tolérance aux antimicrobiens présentes dans les biofilms beaucoup plus que les cellules planctoniques (**Wang et al., 2024**).

1.4. Principaux agents pathogènes multirésistants

Les agents pathogènes du groupe **ESKAPE** constituent les principaux microorganismes responsables des infections nosocomiales multirésistantes à l'échelle mondiale. Ce groupe comprend *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et les espèces du genre *Enterobacter* (**Khasapane et al., 2025**). Ces bactéries sont reconnues pour leur capacité à échapper à l'action des antibiotiques grâce à divers mécanismes de résistance, ce qui limite considérablement les options thérapeutiques disponibles (**WHO, 2024**).

Dans la méta-analyse réalisée sur les études africaines publiées entre 2014 et 2024, *Staphylococcus aureus* a été l'agent pathogène le plus fréquemment rapporté, avec une prévalence combinée de 23,1 %, suivi par *Klebsiella pneumoniae* (20,9 %), *Enterococcus faecium* (9,8 %) et les espèces d'*Enterobacter* (5,3 %) (**Benkő et al., 2020**). Ces microorganismes sont impliqués dans de nombreuses infections graves, notamment les bactériémies, les infections respiratoires, les infections urinaires et les infections du site opératoire.

a. *Staphylococcus aureus* multirésistant

Staphylococcus aureus, en particulier les souches résistantes à la méthicilline (SARM ou MRSA), représente l'un des principaux agents responsables d'infections hospitalières. Les isolats analysés présentaient des taux élevés de résistance à plusieurs antibiotiques, notamment la pénicilline (91,1 %), la cloxacilline (90,6 %) et l'amoxicilline (74,5 %) (**Khasapane et al., 2025**). La résistance à la méthicilline est principalement associée à la présence du gène *mecA*, détecté dans 31,5 % des isolats étudiés.

b. *Klebsiella pneumoniae* multirésistante

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste fréquemment associé aux infections urinaires, pulmonaires et septicémiques. Cette bactérie présente une résistance importante au triméthoprim-sulfaméthoxazole (40,7 %), au chloramphénicol (32,0 %) et à la gentamicine (30,3 %) (**Khasapane et al., 2025**). La dissémination de gènes codant pour des β -lactamases à spectre étendu (BLSE), notamment blaCTX-M et blaTEM, contribue largement à cette résistance.

c. *Enterococcus faecium* résistant

Enterococcus faecium est devenu un important pathogène nosocomial en raison de sa résistance naturelle et acquise à plusieurs classes d'antibiotiques. Dans cette étude, les plus fortes résistances concernaient la tétracycline (47,0 %), l'érythromycine (24,9 %) et la vancomycine (19,0 %) (**Benkó et al., 2025**). Les entérocoques résistants à la vancomycine constituent aujourd'hui une menace majeure pour la santé publique.

d. *Enterobacter* spp.

Les espèces d'*Enterobacter* sont fréquemment impliquées dans les infections hospitalières et possèdent de nombreux mécanismes de résistance. Les taux de résistance observés étaient particulièrement élevés pour l'amoxicilline-acide clavulanique (95,3 %), la gentamicine (77,5 %), le chloramphénicol (45,1 %) et la ciprofloxacine (36,7 %) (**Khasapane et al., 2025**). Ces bactéries agissent souvent comme réservoirs de gènes de résistance transmissibles.

e. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii est considéré par l'Organisation mondiale de la Santé comme l'un des agents pathogènes prioritaires critiques en raison de sa résistance croissante aux carbapénèmes et à d'autres antibiotiques de dernier recours (**WHO, 2024**). Bien que peu d'études africaines aient été recensées, cette bactérie est reconnue mondialement pour ses taux très élevés de multirésistance et sa capacité à survivre longtemps dans l'environnement hospitalier (**Bereanu et al., 2024**).

f. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène opportuniste fréquemment isolé chez les patients immunodéprimés ou hospitalisés. Plusieurs études ont signalé des niveaux élevés de multirésistance, notamment aux carbapénèmes, aux fluoroquinolones et aux aminoglycosides. La capacité de cette bactérie à former des biofilms et à acquérir rapidement des gènes de résistance contribue à sa persistance dans les établissements de santé (**Khasapane et al., 2025**).

1.4.1. Multirésistance des pathogènes ESKAPE

L'étude a montré que 64,1 % des isolats analysés présentaient une multirésistance, définie comme une résistance à au moins trois classes d'antibiotiques (**Bereanu *et al.*, 2024**). Parmi les gènes de résistance identifiés, blaCTX-M était le plus fréquent (37,6 %), suivi de mecA (31,5 %) et blaTEM (13,0 %). La propagation de ces déterminants génétiques favorise l'émergence de souches de plus en plus difficiles à traiter.

1.5. Stratégies actuelles de lutte contre la multirésistance

La lutte contre la multirésistance bactérienne constitue aujourd'hui une priorité mondiale en santé publique. Face à l'augmentation rapide des bactéries multirésistantes (MDR) et à la diminution de l'efficacité des antibiotiques conventionnels, plusieurs approches innovantes sont actuellement développées pour prévenir, contrôler et traiter les infections résistantes (**Mallari *et al.*, 2025**).

1.5.1. Découverte de nouveaux antibiotiques et de nouvelles cibles bactériennes

L'une des principales stratégies consiste à identifier de nouvelles cibles moléculaires essentielles à la survie bactérienne. Les recherches actuelles explorent notamment les voies métaboliques impliquées dans la biosynthèse de la lysine, les systèmes de régulation cellulaires et les mécanismes de division bactérienne, qui sont absents chez l'être humain et constituent ainsi des cibles thérapeutiques prometteuses (**Lewis, 2013 ; Hutton *et al.*, 2003 ; Mallari *et al.*, 2025**).

L'exploration de microorganismes difficilement cultivables a également conduit à la découverte de nouveaux antibiotiques tels que la teixobactine, capable d'agir contre plusieurs bactéries Gram positives sans développement détectable de résistance lors des premières études expérimentales (**Ling *et al.*, 2015 ; Gunjal *et al.*, 2020**).

1.5.2. Thérapies antivirulence

Contrairement aux antibiotiques classiques qui éliminent les bactéries, les thérapies antivirulence ciblent les facteurs responsables de la pathogénicité bactérienne sans affecter directement leur croissance. Cette approche réduit la pression de sélection favorisant l'émergence de résistances (**Clatworthy *et al.*, 2007 ; Dickey *et al.*, 2017**).

Les principales cibles comprennent :

- Les systèmes de communication bactérienne (quorum sensing)
- Les systèmes de sécrétion des toxines
- les facteurs d'adhésion ;
- La formation des biofilms.

Des inhibiteurs du quorum sensing ont montré une capacité à réduire significativement la virulence et la formation de biofilms chez *Pseudomonas aeruginosa* et d'autres pathogènes multirésistants (Vashistha *et al.*, 2023 ; García-Contreras, 2016 ; Maura et Rahme, 2017).

1.5.3. Utilisation du microbiome comme source thérapeutique

Le microbiote humain représente une source importante de molécules antimicrobiennes naturelles. Certaines bactéries commensales produisent des composés capables d'inhiber la colonisation par des agents pathogènes résistants (Zipperer *et al.*, 2016 ; Lloyd-Price *et al.*, 2016).

Les stratégies basées sur le microbiome incluent :

- L'administration de probiotiques
- La transplantation de microbiote fécal
- L'ingénierie du microbiome
- L'exploitation des métabolites antimicrobiens produits par les bactéries commensales.

Ces approches contribuent à restaurer l'équilibre microbien et à limiter la prolifération des bactéries résistantes (Pamer, 2016 ; Matzaras *et al.*, 2022).

1.5.4. Repositionnement de médicaments existants

Le repositionnement thérapeutique consiste à utiliser des médicaments déjà approuvés pour de nouvelles indications antimicrobiennes. Cette stratégie réduit considérablement les coûts et les délais de développement pharmaceutique (Law *et al.*, 2013).

Par exemple, la metformine, principalement utilisée dans le traitement du diabète de type 2, a démontré des effets synergiques avec certains antibiotiques contre des bactéries multirésistantes (Masadeh *et al.*, 2021). D'autres molécules non antibiotiques sont actuellement évaluées pour renforcer l'activité des traitements antimicrobiens existants.

1.5.5. Nanotechnologies et systèmes innovants de délivrance des antibiotiques

Les nanotechnologies offrent de nouvelles possibilités pour améliorer l'efficacité des antibiotiques. Les nanoparticules permettent :

- Une meilleure pénétration dans les biofilms
- Une augmentation de la concentration locale du médicament
- Une diminution de la toxicité systémique
- Une amélioration de la stabilité des molécules antimicrobiennes (Zong *et al.*, 2022 ; Ferreira *et al.*, 2021).

Les principaux systèmes étudiés comprennent les nanoparticules métalliques, les liposomes, les micelles polymériques et les nanosuspensions. Les nanoparticules d'argent présentent notamment une activité antimicrobienne importante contre plusieurs bactéries résistantes (Li *et al.*, 2010 ; Pardhi *et al.*, 2020).

1.5.6. Thérapie par bactériophages

La phagothérapie repose sur l'utilisation de virus bactériens spécifiques capables d'infecter et de détruire les bactéries pathogènes. Cette approche présente l'avantage d'une grande spécificité et d'une faible toxicité pour l'hôte (Nilsson, 2014).

Les bactériophages peuvent être utilisés seuls ou en combinaison avec les antibiotiques pour traiter des infections causées par des bactéries multirésistantes. Les progrès récents en génie génétique permettent également d'améliorer leur efficacité thérapeutique (Mallari *et al.*, 2025).

1.5.7. Peptides antimicrobiens et enzymes antibactériennes

Les peptides antimicrobiens constituent une famille de molécules naturelles capables de perturber l'intégrité membranaire des bactéries et d'exercer une activité contre de nombreux pathogènes résistants (Jenssen *et al.*, 2006).

Les endolysines dérivées des bactériophages représentent également une alternative prometteuse. Ces enzymes hydrolysent la paroi bactérienne et peuvent éliminer efficacement certaines bactéries Gram positives multirésistantes (Schmelcher *et al.*, 2012 ; Liu *et al.*, 2023).

1.6. Programmes de bon usage des antibiotiques (Antibiotic Stewardship)

L'utilisation rationnelle des antibiotiques demeure une mesure essentielle pour ralentir l'apparition des résistances. Les programmes d'antibiotic stewardship visent à :

- Optimiser la prescription des antibiotiques ;
- Réduire les traitements inutiles
- Limiter la durée des traitements

Surveiller l'émergence des résistances bactériennes (CDC, 2025 ; WHO, 2024).

Associés à des mesures rigoureuses de prévention et de contrôle des infections, ces programmes contribuent à préserver l'efficacité des antibiotiques disponibles.

1.7. Métabolites bioactifs prometteurs contre les pathogènes multirésistants

Face à l'augmentation rapide de la résistance aux antimicrobiens, les métabolites bioactifs d'origine naturelle représentent une source majeure de nouvelles molécules thérapeutiques capables de lutter contre les agents pathogènes multirésistants (MDR). Ces composés sont principalement issus des plantes, des champignons, des microorganismes et des animaux, et présentent des mécanismes d'action variés limitant l'émergence de résistances bactériennes (**Gajic et al., 2025**). Les métabolites bioactifs naturels constituent une source exceptionnelle de nouvelles molécules antibactériennes capables de lutter contre les pathogènes multirésistants. Les flavonoïdes, alcaloïde, terpénoïdes, composés organosulfurés, coumarines, métabolites fongiques et peptides antimicrobiens présentent des mécanismes d'action innovants, notamment l'inhibition des pompes d'efflux, la perturbation des membranes cellulaires, l'inhibition du quorum sensing et la destruction des biofilms. Ces propriétés en font des candidats particulièrement prometteurs pour le développement de futurs traitements contre les infections causées par les bactéries multirésistantes (**Gunaratnam et al., 2021**).

1.7.1. Composés phénoliques et flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent l'un des groupes de métabolites secondaires les plus abondants chez les plantes. Ils exercent leur activité antibactérienne par plusieurs mécanismes : inhibition de la formation des biofilms, perturbation de la synthèse des acides nucléiques et de l'enveloppe bactérienne, inhibition des enzymes bactériennes et des systèmes d'efflux impliqués dans la résistance aux antibiotiques (**Vaou et al., 2021**).

Parmi les molécules les plus prometteuses figurent :

- **La catéchine**, extraite du thé vert (*Camellia sinensis*), capable de restaurer l'activité de l'aztréonam contre *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant (**Li, et al., 2023**).
- **La quercétine**, présente dans les tomates, les raisins et les oignons, qui agit en synergie avec le méropénème contre *Acinetobacter baumannii* et *P. aeruginosa* résistants aux carbapénèmes, tout en inhibant les gènes de résistance blaNDM et AdeB (**Liu et al., 2023**).
- **Le kaempférol**, efficace contre des bactéries Gram négatives résistantes à la colistine telles que *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *A. baumannii* (**Wang et al., 2023**).

1.7.2. Alcaloïdes antibactériens

Les alcaloïdes représentent une autre famille importante de métabolites bioactifs. La berbérine, extraite des espèces du genre *Berberis*, possède une activité contre plusieurs bactéries multirésistantes, notamment le MRSA, *Clostridioides difficile* et certaines mycobactéries. Son

activité est liée à l'inhibition des pompes d'efflux bactériennes, à la perturbation des biofilms et à la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte. La pipérine, issue du poivre noir (*Piper nigrum*), potentialise l'activité de l'imipénème contre *P. aeruginosa* résistant aux carbapénèmes grâce à l'inhibition du système d'efflux MexAB-OprM (Gajic *et al.*, 2025).

1.7.3. Terpénoïdes et huiles essentielles

Les huiles essentielles constituent une source riche en terpènes et terpénoïdes possédant des propriétés antimicrobiennes remarquables. Leur mode d'action repose principalement sur la perturbation de l'intégrité membranaire bactérienne et l'altération des voies métaboliques cellulaires (Gajic *et al.*, 2025).

Parmi les composés les plus étudiés :

- **Le thymol**, extrait du thym (*Thymus capitatus*), agit contre des souches résistantes à la colistine de *P. aeruginosa*, *E. coli* et *K. pneumoniae*.
- **L'eugénol**, principal constituant de l'huile essentielle de clou de girofle, provoque des dommages membranaires et inhibe les gènes impliqués dans la formation des biofilms chez le MRSA.
- **Le farnésol**, présent dans diverses huiles essentielles, présente une activité synergique avec la colistine contre plusieurs bactéries Gram négatif résistantes.
- **La curcumine**, extraite du curcuma (*Curcuma longa*), inhibe les systèmes de quorum sensing et la formation des biofilms chez *P. aeruginosa*, *E. coli* et d'autres agents pathogènes opportunistes (Aljaafari *et al.*, 2021).

1.7.4. Composés organosulfurés

L'**ail** (*Allium sativum*) est une source importante de métabolites organosulfurés.

L'**allicine** présente une activité antibactérienne à large spectre contre *E. coli*, *P. aeruginosa* et le MRSA. Son action repose sur l'inhibition de l'ADN gyrase et la déstabilisation de la membrane bactérienne (Ankri et Mirelman, 1999).

L'**ajoène**, autre composé soufré de l'ail, inhibe les mécanismes de quorum sensing chez *P. aeruginosa*, réduisant ainsi la virulence bactérienne et la formation des biofilms (Jakobsen *et al.*, 2012).

1.7.5. Coumarines

Les coumarines sont reconnues pour leurs propriétés antibactériennes et leur capacité à potentialiser l'action des antibiotiques conventionnels.

L'**impératorine** et l'**isoimpératorine**, isolées de *Angelica dahurica*, inhibent la formation des biofilms de *P. aeruginosa* et augmentent l'efficacité de l'ampicilline et de la ceftazidime

L'**acide galbanique**, extrait de *Ferula szowitsiana*, agit comme inhibiteur des pompes d'efflux chez le MRSA, renforçant ainsi l'activité de la ciprofloxacine et de la tétracycline (Gajic *et al.*, 2025).

1.7.6. Métabolites fongiques

Les champignons supérieurs constituent un réservoir encore largement inexploité de molécules antibactériennes. Parmi les composés identifiés figurent les polysaccharides, terpènes, alcaloïdes, peptides et polykétides (Chun *et al.*, 2021).

Le coprinuslactone, isolé du champignon *Coprinus comatus*, inhibe l'enzyme MurA impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et présente une activité antibiofilm contre *P. aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Gajic *et al.*, 2025).

1.7.7. Peptides antimicrobiens (AMPs)

Les peptides antimicrobiens représentent une catégorie particulièrement prometteuse de métabolites naturels. Ces molécules cationiques exercent leur activité en perturbant directement les membranes bactériennes, entraînant une lyse rapide des cellules microbiennes. Leur mode d'action multiple réduit fortement le risque de développement de résistances. Plusieurs AMPs d'origine animale ont montré une activité contre les bactéries ESKAPE et d'autres pathogènes multirésistants, notamment les cathelicidines de serpents, la mélittine du venin d'abeille et différents peptides issus de scorpions, grenouilles et araignées (Gajic *et al.*, 2025).

1.8. Métabolites d'origine actinobactérienne : une source majeure de nouveaux antimicrobiens

Les actinobactéries constituent l'une des sources les plus importantes de métabolites secondaires bioactifs, notamment les antibiotiques. De nombreux antibiotiques majeurs utilisés en clinique, tels que la streptomycine, l'oxytétracycline et la tétracycline, sont issus de ces microorganismes. Ces composés exercent leurs effets antimicrobiens selon différents mécanismes, notamment l'inhibition de la synthèse protéique, de la synthèse des acides nucléiques ou encore de la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne. Depuis plusieurs

décennies, les actinobactéries jouent ainsi un rôle central dans la découverte de nouveaux agents anti-infectieux.

L'importance de ces microorganismes est devenue encore plus évidente avec l'augmentation mondiale des bactéries multirésistantes (MDR) et ultrarésistantes (XDR). L'émergence de ces pathogènes réduit progressivement l'efficacité des antibiotiques conventionnels et crée un besoin urgent de nouvelles molécules antimicrobiennes présentant des structures originales et des mécanismes d'action innovants (Yi *et al.*, 2025).

Dans leur revue publiée en 2025, Yi *et al.* ont recensé 170 métabolites secondaires antibactériens isolés à partir d'actinobactéries terrestres et marines au cours de la période 2020–2024. Ces composés ont montré une activité significative contre de nombreuses bactéries Gram positives telles que *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* et *Bacillus subtilis*, ainsi que contre plusieurs bactéries Gram négatives, notamment *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Certains métabolites ont même présenté une activité supérieure à celle des antibiotiques de référence, ce qui en fait des candidats prometteurs pour le développement de nouveaux médicaments antibactériens (Yi *et al.*, 2025).

L'analyse de ces métabolites montre que les polykétides représentent la classe chimique dominante (44,7 %), suivis par les alcaloïdes (15,9 %), les peptides (15,3 %) et d'autres familles structurales (24,1 %). Cette diversité chimique remarquable reflète le potentiel biosynthétique exceptionnel des actinobactéries. Les espèces du genre *Streptomyces* demeurent les producteurs les plus importants, représentant environ les deux tiers des souches productrices de nouveaux composés antibactériens recensés dans la littérature récente (Yi *et al.*, 2025).

Les actinobactéries marines présentent un intérêt particulier dans la recherche actuelle. Vivant dans des environnements extrêmes et peu explorés, elles possèdent des voies métaboliques originales qui favorisent la production de molécules inédites. Les métabolites issus de ces microorganismes comprennent des peptides, alcaloïdes, terpènes, polykétides, pigments et autres composés présentant des activités antibactériennes, antifongiques, antivirales, anticancéreuses et anti-inflammatoires. Plusieurs de ces substances ont démontré une activité contre des bactéries multirésistantes, contribuant ainsi à la lutte contre la résistance aux antimicrobiens (Ibrahim *et al.*, 2025).

Les progrès récents de la génomique, du séquençage à haut débit, du « genome mining » et des outils bio-informatiques ont considérablement renforcé la capacité à découvrir de nouveaux métabolites. Ces approches permettent d'identifier des clusters de gènes biosynthétiques silencieux qui restent inexprimés dans les conditions de culture

conventionnelles. Leur activation offre aujourd'hui de nouvelles perspectives pour l'obtention de composés antimicrobiens encore inconnus (**Begani *et al.*, 2018 ; Arulprakasam et Dharumadurai, 2021**).

Ainsi, les actinobactéries demeurent un réservoir exceptionnel de nouveaux antimicrobiens. Face à l'augmentation rapide de la résistance bactérienne, l'exploration de leur diversité métabolique, associée aux approches modernes de biologie moléculaire et de génomique, constitue une stratégie essentielle pour la découverte de la prochaine génération d'antibiotiques (**Yi *et al.*, 2025**).

Chapitre 2

Diversité des actinobactéries marines : traits distinctifs et comparaison avec les formes terrestres.



Face à l'émergence et à la propagation croissantes des agents pathogènes multirésistants, présentées dans le chapitre précédent, l'intérêt scientifique s'est progressivement porté vers des écosystèmes encore peu explorés. Parmi eux, l'environnement marin constitue un réservoir exceptionnel de biodiversité microbienne, caractérisé par des conditions physicochimiques particulières telles que les variations de salinité, de température et de pression. Dans ce contexte, les actinobactéries marines suscitent un intérêt croissant en raison de leur remarquable capacité à produire une grande diversité de métabolites secondaires originaux, souvent différents de ceux synthétisés par leurs homologues terrestres.

2.1. Généralité sur les actinobactéries

Les actinobactéries sont des bactéries incluant des formes majoritairement filamenteuses à Gram positif, caractérisées par une grande diversité morphologique, fonctionnelle et métabolique. Elles sont principalement aérobies et jouent un rôle important dans la dégradation de la matière organique dans différents environnements. Leur ADN présente une teneur élevée en bases G + C, variant approximativement entre 60 % et 78 % (Ngamcharungchit *et al.*, 2023).

2.2. Classification taxonomique des actinobactéries

Les actinobactéries (anciennement actinomycètes), ont initialement été classées sur la base de caractères morphologiques, biochimiques et physiologiques. Cette approche phénotypique a rapidement montré ses limites en raison de la formation de taxons polyphylétiques regroupant des morphotypes similaires mais génétiquement distincts. L'intégration progressive des données chimio-taxonomiques, de la taxonomie numérique et de la systématique moléculaire a conduit au développement de la taxonomie polyphasique. Le gène de l'ARNr 16S s'est imposé comme marqueur phylogénétique central, bien que sa résolution soit insuffisante pour discriminer les taxons proches. Plus récemment, la phylogénomique basée sur les génomes complets, intégrant des paramètres tels que le contenu en G+C et l'hybridation ADN-ADN (dDDH), a profondément restructuré la systématique des actinobactéries (Nouioui *et al.*, 2018).

2.2.1. Classification morphologique

Les Actinobactéries se caractérisent par une grande diversité morphologique. Certaines espèces peuvent être coccoïdes ou irrégulières, tandis que d'autres, comme *Mycobacterium* et *Corynebacterium*, se présentent sous forme de bacilles. D'autres encore, comme *Streptomyces*, présentent une organisation filamenteuse et développent un réseau de filaments appelé

mycélium. On distingue généralement deux types de mycélium, aérien et du substrat (**Barka et al., 2016**).

2.2.1.1. Morphologie du mycélium

Le mycélium aérien est souvent plus épais que le mycélium du substrat. Son aspect permet de différencier les isolats et de les regrouper selon leurs caractères morphologiques, lorsqu'ils sont cultivés dans les mêmes conditions. Chez *Streptomyces*, ces caractères sont très importants pour distinguer les espèces. Ils concernent surtout l'aspect du mycélium, qui peut être cotonneux, velouté ou poudreux, la présence d'anneaux ou de zones concentriques, ainsi que la couleur (**Ranjani, 2016**).

Le mycélium du substrat chez les actinobactéries peut varier par sa taille, sa forme et son épaisseur. Sa couleur peut aussi être différente : il peut être blanc ou presque incolore, mais aussi jaune, brun, rouge, rose, orange, vert ou noir (**Ranjani, 2016**).

2.2.1.2. Morphologie des chaînes sporales

La morphologie des chaînes sporales constitue un critère important dans la classification des Actinobactéries (fig. 2). Les spores peuvent se former sur le mycélium du substrat, comme c'est le cas chez *Micromonospora*, *Micropolyspora* et *Thermoactinomyces*, ou sur le mycélium aérien comme chez *Streptomyces*. Elles peuvent être isolées ou organisées en chaînes de longueurs variables, tandis que chez certains genres elles sont entourées de structures spécialisées appelées sporanges. Certains genres présentent également des structures morphologiques particulières, telles que les sclérotés chez *Chainia*, les synnémas chez *Actinosynnema* et les vésicules porteuses de spores chez *Frankia*. Des genres tels que *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Planomonospora*, *Planobispora*, *Dactylosporangium* et *Streptosporangium* sont également classés en fonction de la morphologie de leurs sporanges. Enfin, la surface des spores, qui peut être lisse, verruqueuse, épineuse, poilue ou rugueuse, constitue également un critère de différenciation des espèces (**Barka et al., 2016**).

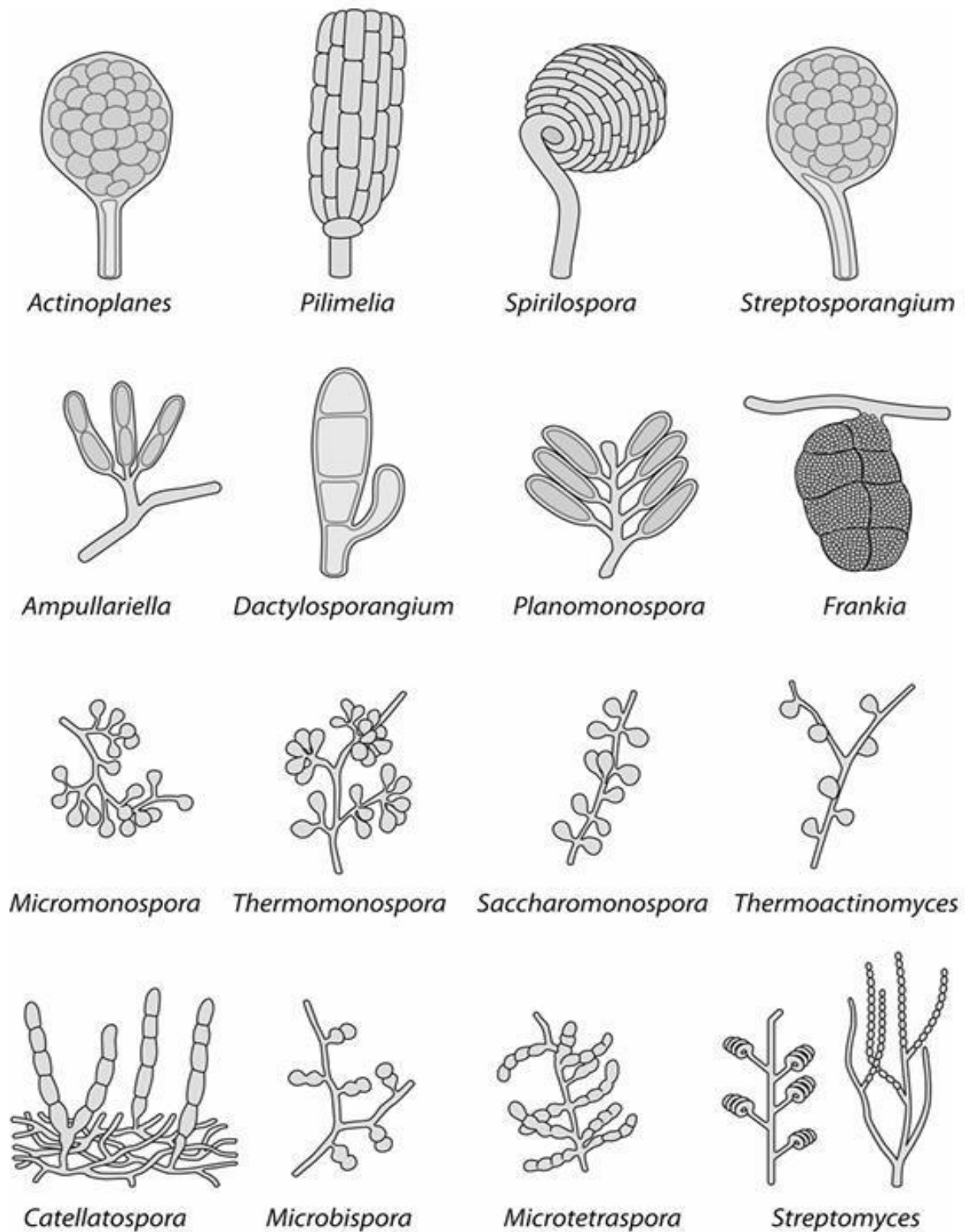


Figure 2. Représentations schématiques des divers types de chaînes sporales chez les actinobactéries (Ait Barka *et al.*, 2016).

2.2.1.3. Longueur de la chaîne de spores

La longueur des chaînes sporales varie fortement d'un genre à l'autre. Certains genres, tels que *Micromonospora*, *Salinispora*, *Thermomonospora*, *Saccharomonospora* et *Promicromonospora*, produisent des spores isolées, tandis que *Microbispora* forme des spores disposées en paires. Des genres comme *Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Sporichthya* et certaines espèces de *Nocardia* présentent des chaînes courtes, alors que les genres *Streptomyces*, *Nocardioides*, *Kitasatospora* et *Streptovercillium* produisent des chaînes longues pouvant atteindre environ 100 spores. En revanche, le genre *Frankia* forme des sporanges contenant les spores. Les chaînes de *Streptomyces* peuvent être classées selon leur forme (fig. 3) en droites ou flexueuses, en boucles ouvertes, en spirales ouvertes ou fermées, ou en disposition verticillée (Barka *et al.*, 2016).

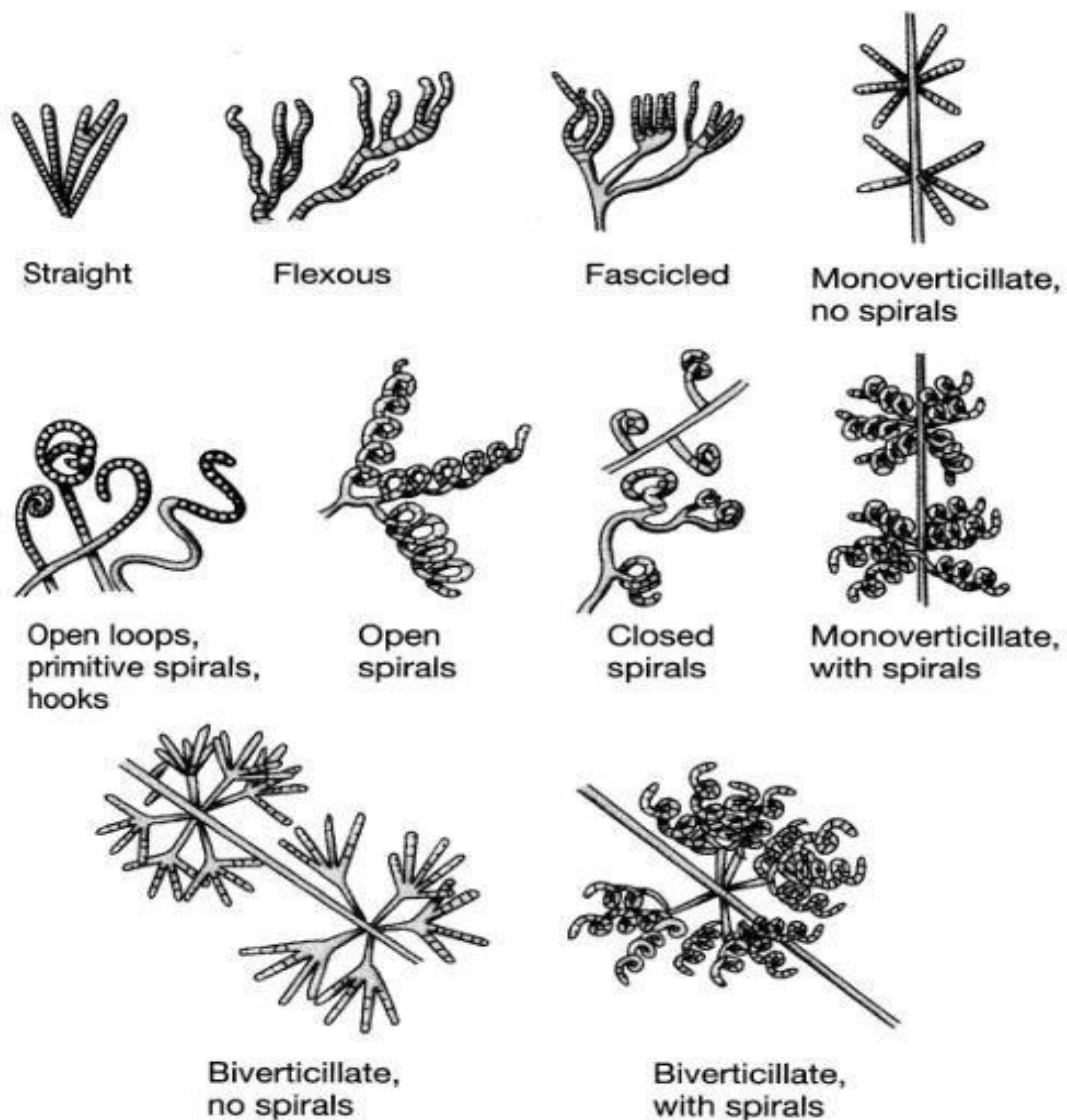


Figure 3. Chaînes de spores chez les *Streptomyces* (Ranjani *et al.*, 2016)

2.2.1.4. Pigments mélanoïdes

Selon **Barka *et al.* (2016)**, Les mélanines sont des polymères aux structures moléculaires variées, formés généralement par la polymérisation oxydative de composés phénoliques et indoliques. Elles sont produites par un large éventail d'organismes, allant des bactéries à l'homme. Elles ne sont pas essentielles à la croissance et au développement des organismes, mais jouent un rôle important dans l'amélioration de leur survie et de leur compétitivité. Les Actinobactéries sont depuis longtemps connues pour produire des pigments pouvant être rouges, jaunes, oranges, roses, bruns, brun foncé, vert-brun, bleus ou noirs, selon la souche, le milieu de culture et l'âge de la culture.

2.2.2. Classification chimio-taxonomique

La classification chimio-taxonomique est un système basé sur la répartition des composants chimiques des cellules afin de regrouper les organismes vivants selon leurs similarités, et comprend les acides aminés de la paroi cellulaire, les lipides, les protéines, les ménaquinones, les sucres et les bases de l'ADN, ainsi que les empreintes chimiques de l'organisme entier. La structure de la paroi cellulaire chez les Actinobactéries, en particulier le peptidoglycane, constitue un critère taxonomique important en raison de ses caractéristiques distinctives telles que le type d'acide aminé en position 3, la présence ou l'absence de glycine dans les ponts peptidiques et le type d'acide 2,6-diaminopimélique (LL-DAP ou meso-DAP). Malgré l'importance de ces marqueurs, certains genres peuvent partager le même profil chimique, ce qui nécessite de les combiner avec des données morphologiques et génétiques afin d'améliorer la précision de la classification, en plus de l'utilisation des acides gras, des ménaquinones, des phospholipides et de la composition en sucres comme marqueurs chimio-taxonomiques distinctifs (**Barka *et al.*, 2016**).

2.2.3. Classification moléculaire

La classification moléculaire a permis de réévaluer la taxonomie des actinobactéries, en montrant, grâce au séquençage du gène ARNr 16S et aux approches génomiques telles que le dDDH, l'inexactitude de certaines classifications antérieures, ce qui a conduit à la reclassification de plusieurs genres (fig. 4), comme la confirmation de l'indépendance du genre *Kitasatospora* par rapport à *Streptomyces*. Ce processus a également conduit à la réorganisation de l'ordre Actinomycetales en 14 sous-ordres, ainsi qu'à l'identification de 39 familles et 130 genres (**Barka *et al.*, 2016**).

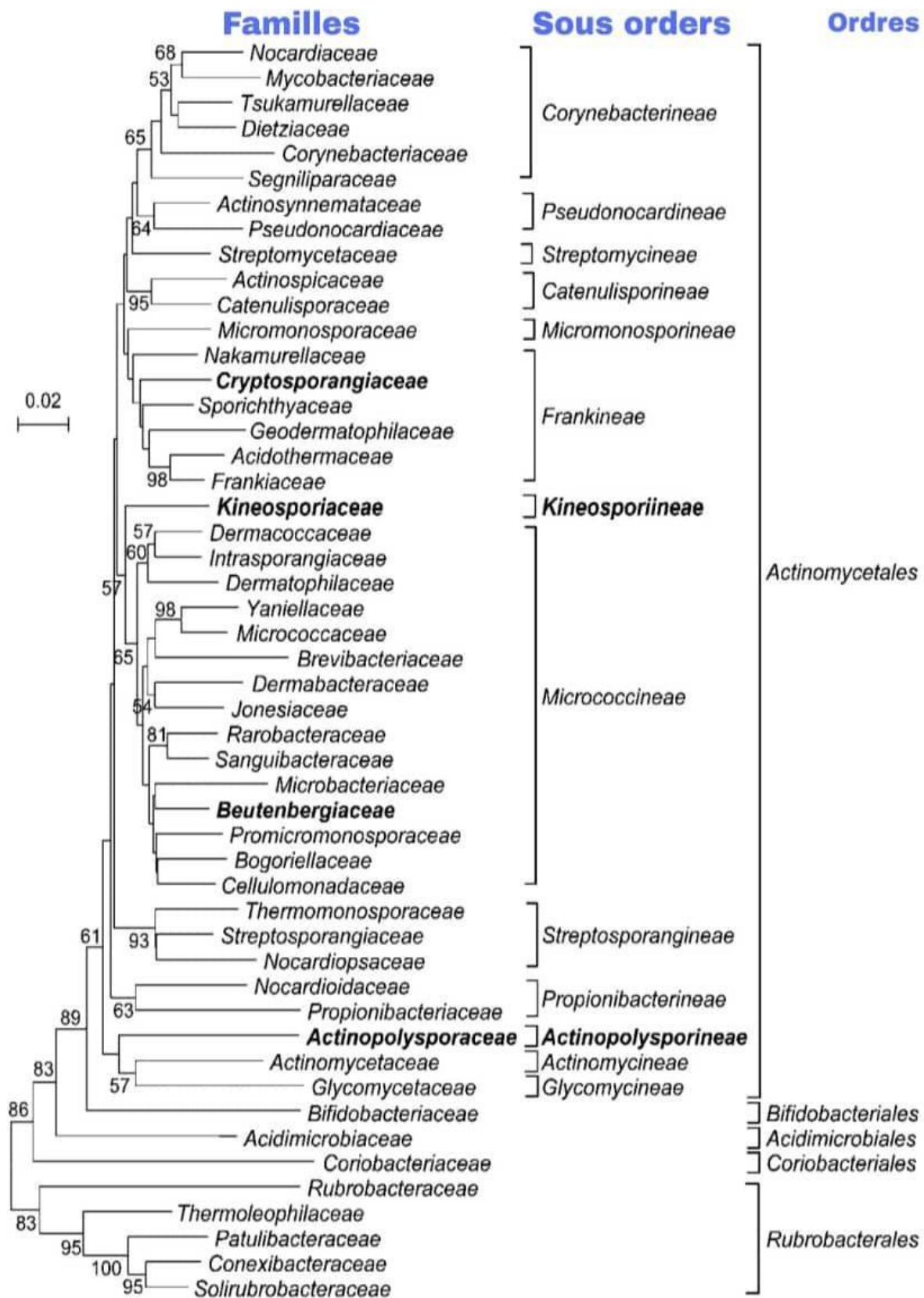


Figure 4. Arbre phylogénétique des Actinobactéries basé sur le gène de l'ARNr 16S (Zhi *et al.*, 2009).

2.3. Cycle de développement des actinobactéries

Les Actinobactéries se distinguent par un cycle de développement complexe, relativement atypique chez les procaryotes, caractérisé par la formation d'hyphes ramifiées qui s'organisent en un mycélium de substrat. À maturité, ce dernier donne naissance à des hyphes aériennes spécialisées portant des spores, assurant la dissémination de la bactérie. Cette organisation morphologique et développementale confère à leur cycle de vie de fortes similitudes avec celui des champignons filamenteux (fig. 5). Toutefois, ce schéma développemental n'est pas universel au sein du phylum. Chez *Thermobifida fusca*, bactérie cellulolytique, la formation de biofilms constitue une étape centrale du cycle de vie. Les aleuriospores germent sur le substrat cellulosique, germent et donnent naissance à un mycélium fonctionnel impliqué dans la dégradation de la cellulose, avant l'établissement d'un biofilm. Le cycle se conclut par la libération de spores ou de fragments mycéliens issus de cette structure. Par ailleurs, les espèces du genre *Rhodococcus* présentent un cycle de type « rod-coccus », caractérisé par des transitions morphologiques entre formes bacillaires, coccoïdes et parfois filamenteuses. La multiplication s'effectue ensuite par division cellulaire ou fragmentation, conduisant à la formation de nouvelles cellules (Hamedi *et al.*, 2017).

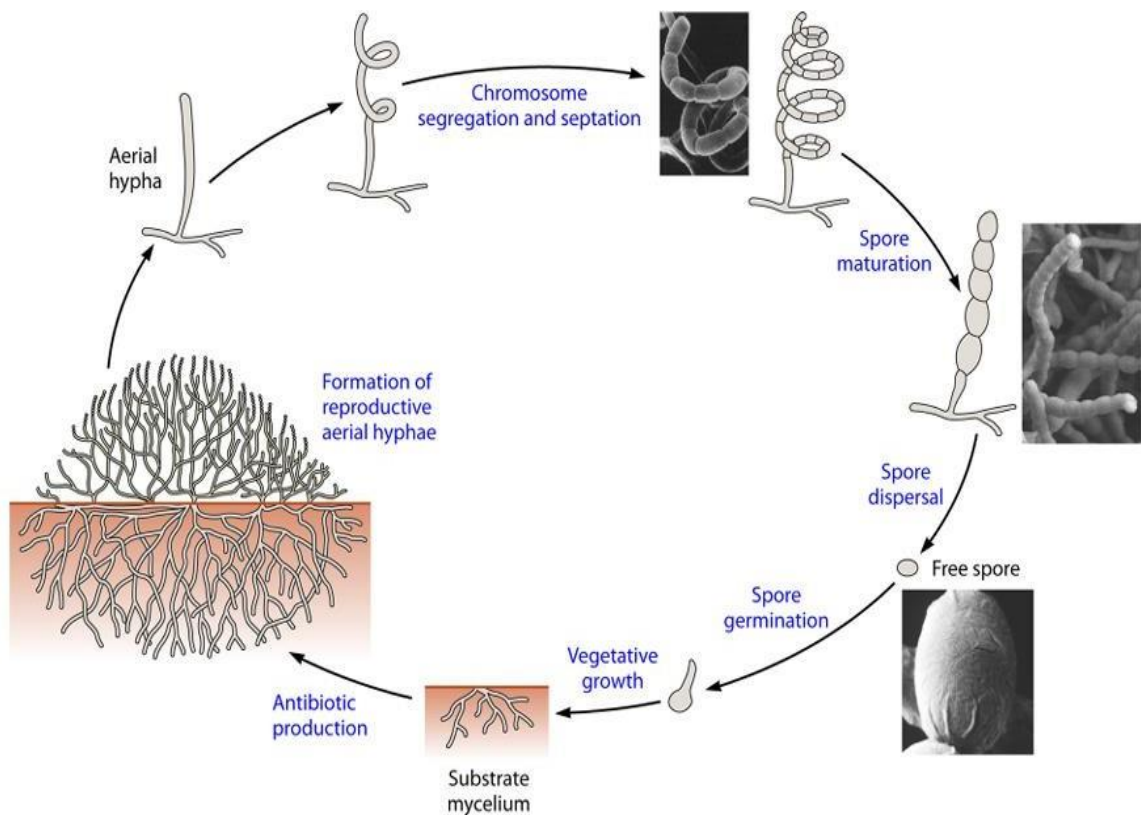


Figure 5. Cycle de vie des actinobactéries sporulantes (Ait Barka *et al.*, 2016).

2.4. Écologie et distribution des actinobactéries

Les actinobactéries sont des microorganismes ubiquitaires, largement répartis dans les écosystèmes terrestres et aquatiques (fig. 6), avec une prédominance dans les sols (**Ranjani et al., 2016**).

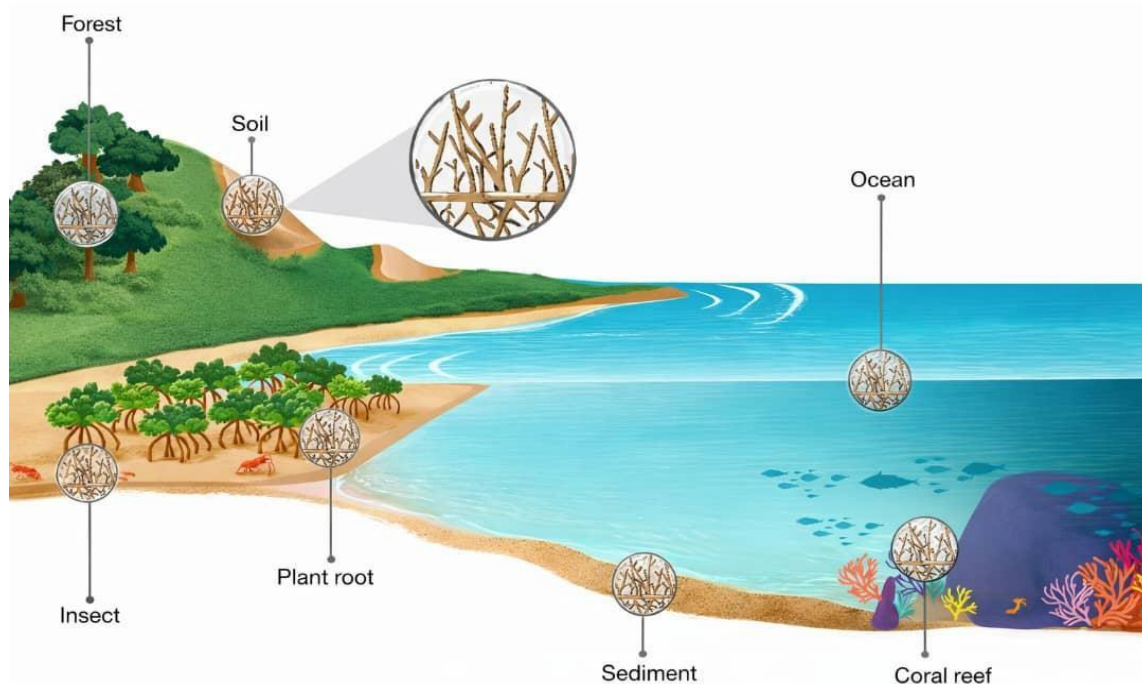


Figure 6. Répartition écologique des actinobactéries (**Ngamcharungchit et al., 2023**)

2.4.1. Actinobactéries terrestres

Le sol constitue l'habitat le plus important des Actinobactéries, où *Streptomyces* représente plus de 95 % des souches isolées, à des densités de 10^6 à 10^9 UFC/g de sol et jusqu'à plus de deux mètres de profondeur (**Barka et al., 2016**). Leur distribution dépend étroitement de facteurs environnementaux tels que le type de sol et le pH (**Zhang et al., 2019**). Certaines espèces survivent même dans les sols hyperarides du désert d'Atacama, considéré comme un analogue des sols martiens (**Idris et al., 2017**).

Dans les sols, d'autres genres actinobactériens (tableau 1) sont également présents aux côtés de *Streptomyces*, notamment *Nocardia*, *Micromonospora*, *Actinoplanes* et *Streptosporangium* (**Ranjani et al., 2016**).

Ces microorganismes sont principalement saprophytes et produisent des enzymes leur permettant de décomposer des polymères complexes comme la lignocellulose et la chitine, jouant ainsi un rôle important dans le recyclage du carbone, de l'azote, du phosphore et du potassium dans le sol (**Zhang et al., 2019**). Certaines espèces peuvent également coloniser les

tissus végétaux en tant qu'endophytes, participant ainsi à la protection de la plante hôte contre les pathogènes et les insectes (**Ranjani et al., 2016**). Par ailleurs, plus des deux tiers des métabolites secondaires d'origine microbienne connus à ce jour proviennent des Actinobactéries (**Javed et al., 2021**), c'est d'ailleurs la géosmine, produite par ces microorganismes, qui est responsable de l'odeur caractéristique des sols remués (**Gerber et Lechevalier, 1965**).

2.4.2. Actinobactéries marines

La capacité des actinobactéries marines à croître sur un milieu à base d'eau de mer ne prouve pas en soi qu'elles sont véritablement adaptées à cet environnement, car de nombreuses espèces non marines tolèrent également le sel (**Chinnathambi, 2023**), ce qui a longtemps alimenté un débat sur leur origine réellement marine ou simplement terrestre. Ce débat a été en grande partie tranché avec la découverte du genre *Salinispora*, premier taxon d'actinobactéries strictement marin dont la croissance dépend obligatoirement de l'eau de mer, persistant et largement répandu dans les sédiments marins tropicaux et subtropicaux à l'échelle mondiale (**Mincer et al., 2002 ; Chinnathambi, 2023**).

Les actinobactéries marines colonisent des habitats très divers (tableau 1), allant du sable et des sédiments côtiers aux sédiments de mangrove et des grands fonds marins, en passant par l'eau de mer, la neige marine, les suintements d'hydrocarbures, les sources hydrothermales et les sources froides, ainsi que des associations symbiotiques avec la faune marine, notamment les éponges (**Kamjam et al., 2017 ; Yaradoddi et al., 2021**).

Les environnements des grands fonds, caractérisés par des conditions extrêmes de pression, température, salinité et disponibilité en nutriments, ont contraint les actinobactéries marines à développer des capacités biochimiques et physiologiques uniques, favorisant la production de métabolites absents chez leurs homologues terrestres (**Kamjam et al., 2017**). Au niveau moléculaire, cette adaptation se traduit parfois par la perte de certains gènes, comme l'illustre *Salinispora*, qui ne possède pas le gène *mscL* codant un canal mécanosensible impliqué dans la régulation de la pression de turgescence, ce qui expliquerait son incapacité à se développer en l'absence d'eau de mer (**Bucarey et al., 2012**).

Plusieurs genres ont été isolés d'environnements marins, notamment *Dietzia*, *Rhodococcus* et *Streptomyces*, tandis que *Salinispora* est considéré comme un genre strictement marin, ainsi que les espèces *Aeromicrobium marinum*, *Williamsia maris* et *Verrucosispora* (**Ranjani et al., 2016**).

Tableau 1. Caractérisation comparative des actinobactéries marines et terrestres (**Kontro et Yaradoddi, 2021 ; Yaradoddi *et al.*, 2021 ; Hungund *et al.*, 2021**).

Critère	Actinobactéries marines	Actinobactéries terrestres
Habitat	<ul style="list-style-type: none"> - Neige marine - Sédiments - Profondeurs marines - Les suintements d'hydrocarbures - Les saumures saturées - Les suintements froids - Les cheminées hydrothermales - Faune marine 	<ul style="list-style-type: none"> - Sol - Les grottes volcaniques - L'air - La rhizosphère, - Association avec des plantes, insectes, fourmis et termites.
Répartition	<ul style="list-style-type: none"> - Sa distribution et son abondance restent encore mal connues. En raison d'un échantillonnage insuffisant et d'approches d'identification parfois biaisées. 	<ul style="list-style-type: none"> - Dominent les communautés microbiennes du sol, notamment dans les sols forestiers.
Conditions écologiques	<ul style="list-style-type: none"> - Adaptées à des conditions extrêmes : - Forte pression - Anaérobiose - pH très acide - Températures proches de 0 °C ou proches de 100 °C près des sources hydrothermales. 	<ul style="list-style-type: none"> - Leur présence dépend de : - La localisation géographique - Température du sol - Type de sol - pH - Matière organique - Aération - Humidité.
Genres	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Salinispora</i> - <i>Marinophilus</i> - <i>Nocardiopsis</i> - <i>Micromonospora</i> - <i>Streptomyces</i> - <i>Gordonia</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Streptomyces</i> - <i>Actinoplanes</i> - <i>Streptosporangium</i>
Rôle	<ul style="list-style-type: none"> - Effets antagonistes contre d'autres bactéries. 	<p>Participent au :</p> <p>Cycle du carbone</p> <p>Recyclage des nutriments</p> <p>La dégradation de la biomasse végétale</p> <p>La suppression des maladies des plantes</p> <ul style="list-style-type: none"> - La promotion de la croissance végétale (fixation de l'azote, solubilisation du phosphate, chélation du fer, hormones et ACC désaminase)
Métabolites secondaires	<ul style="list-style-type: none"> - Une source importante de métabolites secondaires - Nouveaux et de molécules bioactives. 	<ul style="list-style-type: none"> - Antibiotiques - Enzymes industrielles - Colorants - Pigments - Substances favorisant la croissance des plantes.

2.5. Rôle et intérêt des actinobactéries

Les actinobactéries constituent un groupe microbien d'un grand intérêt appliqué grâce à leur capacité à produire de nombreux composés bioactifs, notamment des antibiotiques, des antifongiques, des molécules antitumorales, des enzymes industrielles, des pigments et d'autres substances d'intérêt pharmaceutique. Elles jouent également un rôle important en agriculture en améliorant la fertilité du sol, en stimulant la croissance des plantes, en solubilisant le phosphate, en fixant l'azote, en produisant des phytohormones et des sidérophores, ainsi qu'en contribuant au biocontrôle des agents phytopathogènes et à l'induction des mécanismes de défense des plantes. Sur le plan environnemental, elles participent à la dégradation de la biomasse végétale, au recyclage du carbone et des éléments nutritifs, au compostage, ainsi qu'à la biodégradation des pesticides et des polluants, ce qui renforce leur intérêt en bioremédiation et dans la protection des écosystèmes. De manière générale, les applications récentes des actinobactéries en bio-ingénierie et en nanotechnologie ont élargi les possibilités de leur exploitation, notamment dans la production de molécules naturelles et de nanoparticules à valeur pharmaceutique, antimicrobienne et catalytique. Dans ce contexte, les actinobactéries marines occupent une place particulière, car leur adaptation à des environnements spécifiques ou extrêmes en fait une source prometteuse de nouveaux métabolites secondaires. Ainsi, les actinobactéries apparaissent comme une ressource biologique polyvalente, associant des intérêts agricoles, environnementaux, industriels et pharmaceutiques (**Kontro et Yaradoddi, 2021 ; Yaradoddi et al., 2021 ; Hungund et al., 2021**).

Les actinomycètes marins constituent une source exceptionnelle de métabolites secondaires bioactifs présentant un intérêt majeur pour les industries pharmaceutiques et biotechnologiques. Ces microorganismes, principalement représentés par les genres *Streptomyces*, *Salinispora*, *Micromonospora* et *Nocardiopsis*, sont capables de produire une grande variété de composés tels que les polykétides, peptides, alcaloïdes, terpènes, pigments et acides gras, possédant des activités antibactériennes, antifongiques, antivirales, antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Barka et al., 2016 ; Ibrahim et al., 2025**).

Les environnements marins, caractérisés par des conditions extrêmes de salinité, de pression, de température et de disponibilité en nutriments, favorisent l'apparition de voies métaboliques originales conduisant à la biosynthèse de molécules inédites (**Subramani et Aalbersberg, 2012 ; Pan et al., 2025**). Ces adaptations physiologiques expliquent pourquoi les actinomycètes marins produisent souvent des métabolites plus diversifiés que leurs homologues terrestres (**Sarkar et Suthindhiran, 2022a ; Dayanidhi et al., 2021**).

L'isolement de ces microorganismes repose sur l'utilisation de techniques de prétraitement des échantillons, de milieux de culture sélectifs et de méthodes d'enrichissement adaptées aux conditions marines (**Ezeobiora et al., 2022 ; Williams, 2009**). L'identification des souches combine des approches morphologiques, biochimiques et moléculaires, notamment le séquençage du gène de l'ARNr 16S, qui demeure l'outil de référence pour les études phylogénétiques des bactéries (**Bodilis et al., 2012 ; Rathore et al., 2022b**).

Les avancées récentes en génomique, métagénomique, transcriptomique, protéomique et métabolomique ont considérablement amélioré la découverte de nouveaux métabolites bioactifs. Des outils bioinformatiques tels qu'anti-SMASH, BAGEL, PRISM et ClustScan permettent désormais d'identifier les clusters de gènes impliqués dans la biosynthèse des métabolites secondaires et d'explorer le potentiel métabolique des souches non cultivables (**Belknap et al., 2020 ; Blin et al., 2023 ; Yao et al., 2023**).

Les actinomycètes marins jouent également un rôle important dans la lutte contre l'antibiorésistance. Plusieurs composés récemment découverts présentent une activité contre des agents pathogènes multirésistants, notamment le staphylocoque doré résistant à la méthicilline (MRSA), les entérocoques résistants à la vancomycine (VRE) et les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (**Igarashi et al., 2021 ; Kim et al., 2022 ; Rahman et al., 2022**). Cette capacité fait de ces microorganismes des candidats prometteurs pour le développement de nouveaux antibiotiques capables de répondre à la crise mondiale de la résistance aux antimicrobiens (**Rotter et al., 2021 ; Zhu et al., 2022**).

Par ailleurs, les métabolites produits par les actinomycètes marins possèdent un large éventail d'applications thérapeutiques. Des composés tels que la salinosporamide A, les anthraquinones, les macrolides, les alcaloïdes et divers polykétides ont démontré des activités anticancéreuses, antivirales, anti-inflammatoires, antiparasitaires et antioxydantes remarquables (**Chen et al., 2021 ; Chinnathambi et al., 2023 ; Barzkar et al., 2024**). Certains métabolites sont actuellement en cours d'évaluation préclinique ou clinique pour le traitement du cancer et d'autres maladies humaines (**Chinnathambi et al., 2023**).

En outre, les actinomycètes marins constituent une source importante d'enzymes et d'inhibiteurs enzymatiques présentant des applications en médecine, en agriculture, dans l'industrie alimentaire et dans la bioremédiation environnementale (**Manivasagan et al., 2015 ; Mukhtar et al., 2017 ; Rao et al., 2017**). Malgré les défis liés à la culture de nombreuses espèces marines et à la faible production de certains métabolites, les progrès continus des approches génomiques et biotechnologiques ouvrent de nouvelles perspectives pour

l'exploitation de ces microorganismes dans la découverte de médicaments innovants (**Karthik, 2024 ; Yao *et al.*, 2023**).

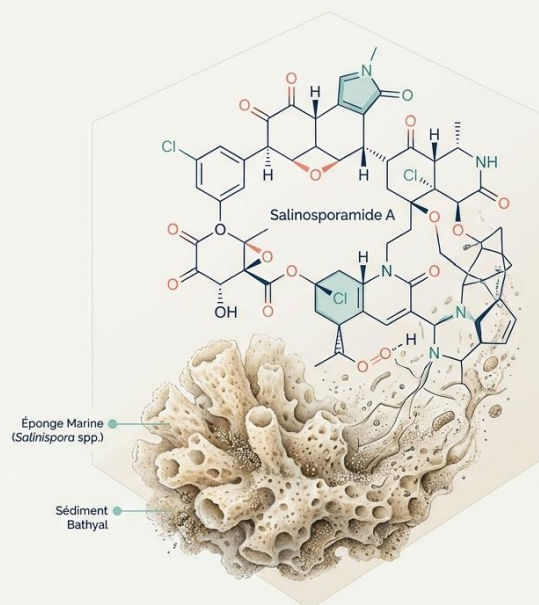
En conclusion, les actinomycètes marins représentent aujourd'hui l'un des réservoirs les plus prometteurs de molécules bioactives naturelles. Leur diversité taxonomique, leur richesse métabolique et les avancées technologiques récentes renforcent leur importance dans la recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques destinées à lutter contre les maladies infectieuses, le cancer et la résistance aux antimicrobiens (**Rotter *et al.*, 2021 ; Chinnathambi *et al.*, 2023 ; Ibrahim *et al.*, 2025**).

Chapitre 3

*Métabolites secondaires des actinobactéries marines
à activité biologique.*

L'Or Bleu

Métabolites
Secondaires des
Actinobactéries
Marines



Les actinobactéries sont considérées comme des bactéries d'un grand intérêt biotechnologique, largement exploitées pour leur capacité à produire une grande diversité de métabolites secondaires bioactifs. Historiquement, elles ont été à l'origine de plus de 10 000 métabolites bioactifs décrits, bien que ce nombre soit aujourd'hui largement dépassé grâce aux découvertes récentes représentant près de 45 % de l'ensemble des métabolites microbiens connus, en particulier au sein du genre *Streptomyces* (Ranjani *et al.*, 2016 ; Sathishkumar *et al.*, 2021). Cependant, la redécouverte fréquente des mêmes composés à partir des actinobactéries terrestres a réduit leur attractivité dans les programmes de criblage. Ainsi, les actinobactéries marines ont récemment suscité un intérêt croissant en raison de la diversité structurale et des activités biologiques particulières de leurs métabolites secondaires. Elles constituent une source prometteuse de nouveaux composés présentant diverses activités biologiques, notamment antibactériennes, antifongiques, anticancéreuses, antivirales, anti-inflammatoires, antiparasitaires, antioxydantes et anti-angiogéniques (Manivasagan *et al.*, 2014).

3.1. Régulation des métabolites secondaires des actinobactéries

Les métabolites secondaires microbiens sont des composés produits le plus souvent par différents microorganismes, notamment les actinobactéries et les champignons, généralement au cours des phases tardives du cycle de croissance, appelée idiophase. Ces métabolites se caractérisent par une grande diversité et par de multiples activités biologiques, ce qui leur confère une importance considérable dans plusieurs domaines, notamment pharmaceutique, cosmétique et agricole. Ils comprennent des composés à activité antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire, hypotensive, antitumorale et insecticide, ainsi que des régulateurs de croissance des plantes (Prabhurajeshwar *et al.*, 2022).

La production des métabolites secondaires chez les actinobactéries n'est pas un processus constant, mais une réponse régulée aux signaux de l'environnement. Lorsque les nutriments comme le phosphate, l'azote ou le carbone deviennent limitants, ceci peut favoriser la production de métabolites secondaires selon l'espèce et les conditions de culture. Dans ce cas la bactérie réoriente son métabolisme de la croissance vers la biosynthèse d'antibiotiques. Cette transition est orchestrée par de petites molécules signal, les γ -butyrolactones (GBL), qui s'accumulent progressivement dans la cellule jusqu'à atteindre une concentration critique (entre 1 et 1000 nM selon l'espèce). Une fois ce seuil franchi, elles se lient à des protéines répressives de type TetR et les inactivent, ce qui libère l'action de régulateurs spécifiques de voie,

notamment la famille des (*Streptomyces* Antibiotic Regulatory Proteins) qui participent à l'activation de l'expression des gènes biosynthétiques, directement ou indirectement selon les voies concernées. Ces régulateurs peuvent s'organiser en cascades hiérarchiques, un SARP central contrôlant l'expression d'autres SARP subordonnés. Certains antibiotiques produits agissent eux-mêmes en retour comme signaux, via des récepteurs dits « pseudo-GBL », ce qui constitue un mécanisme de rétrocontrôle. Enfin, de nombreux clusters de gènes biosynthétiques restent silencieux en laboratoire et ne peuvent être activés que par des interventions ciblées, comme la délétion des gènes répresseurs ou la surexpression des activateurs (**Wohlleben *et al.*, 2017**).

Plusieurs expériences ont montré qu'exposer les actinobactéries à des signaux ou conditions extérieures précises permet de réveiller ces clusters silencieux et de provoquer l'apparition de métabolites totalement nouveaux, jamais observés en culture classique. Cette stratégie, appelée élicitation, repose sur deux grandes approches. La première, dite biologique, consiste à mettre la bactérie en contact avec d'autres organismes ou avec des fragments de ceux-ci : co-culture avec d'autres actinobactéries, bactéries ou champignons, ajout de cellules lysées ou tuées, ou encore exposition à des composants pariétaux comme certains sucres ; la bactérie répond alors à des signaux environnementaux associés à la présence d'autres microorganismes et déclenche en réponse la production de nouveaux composés défensifs. La seconde approche, chimique et moléculaire, repose sur l'emploi de petites molécules capables de perturber une voie métabolique centrale, comme la biosynthèse des acides gras, détournant ainsi les précurseurs communs vers la synthèse de nouveaux métabolites secondaires, ou bien sur la surexpression ciblée d'un régulateur transcriptionnel propre à une voie biosynthétique donnée pour réactiver tout le cluster correspondant. Dans tous les cas, l'éliciteur agit selon l'un de ces deux mécanismes : soit en influençant directement la transcription du cluster de gènes visé, soit en activant un régulateur transcriptionnel intermédiaire qui en contrôle l'expression (**Prabhurajeshwar *et al.*, 2022**).

3.2. Activités biologiques des métabolites secondaires

3.2.1. Métabolites antibactériens

Une substance antibactérienne est un agent qui inhibe la croissance bactérienne ou qui détruit les bactéries. Dans ce contexte, les actinobactéries marines constituent une source importante de métabolites secondaires à activité antibactérienne. Plusieurs composés issus de ces microorganismes ont montré une activité contre des bactéries à Gram positives et à Gram

négatif (tableau 2), y compris des souches résistantes telles que *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine (**Manivasagan et al., 2014**).

Les molécules antibactériennes issues des actinobactéries n'agissent pas toutes sur la même cible cellulaire. Certaines inhibent la synthèse de la paroi bactérienne en bloquant l'assemblage du peptidoglycane, comme les glycopeptides tels que la teicoplanine. D'autres perturbent la synthèse protéique en se fixant sur le ribosome bactérien, ce qui empêche la formation de la chaîne peptidique ; c'est notamment le cas des streptogramines et de certains dérivés macrolides. Enfin, certaines molécules, comme la daptomycine, agissent directement sur la membrane plasmique en s'y insérant en présence de calcium, provoquant une fuite des ions potassium, une déstabilisation du potentiel membranaire et, par conséquent, une perturbation de la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines bactériennes (**Hamedi et al., 2017**).

Tableau 2. Métabolites antibactériens issus des actinobactéries marines durant la période 2016–2023 (**Ngamcharunghit et al., 2023**).

Organism(s)	Compound Name(s)
Kocuria marina CMG S2	Kocumarin
Micromonospora carbonacea LS276	Tetrocarcin Q
Micromonospora harpali SCSIO GJ089	Icrosporanate A, Tetrocarcin P, Microsporانات B–F
Micromonospora chalcea FIM 02	Rakicidins G–I
Micromonospora sp. UR56 + Actinokineospora sp. EG49	Phenazine-1-carboxylic acid, Aestivophoenin C, Methyl saphenate
Micromonospora sp. WMMB-235 + Rhodococcus sp. WMMA-185	Keyicin
Micromonospora sp. 5-297	Tetrocarcins N
Micromonospora sp. CA-214671	Phocoenamicin B
Micromonospora sp. RJA4480	Sporalactam B
Micromonospora sp. SCSIO 07395	Microechmycin A
Micromonospora sp. TP-A0468	16-demethylrifamycin S
Micromonospora yangpuensis DSM 45577	Yangpumicins F, G
Nocardiopsis sp. LX-1	Nocarpyrroline A, Isoflavonoid E
Nocardiopsis sp. SCA30	1-acetyl-4-(4-hydroxyphenyl)piperazine
Pseudonocardia carboxydivorans M227	Branimycins B, C
Streptomonospora sp. PA3	Persiamycin A
Streptomyces aculeolatus PTM-029	Napyradiomycins (3,7,9,10,12)
Streptomyces aculeolatus PTM-420	Napyradiomycins (1,2,4–6,8,11)
Streptomyces albus MAB56	12-methyltetradecanoic acid, Palmitic acid, Tridecanoic acid
Streptomyces bacillaris MBTC38	Lactoquinomycin A
Streptomyces coelicolor LY001	3-(3,5-dichloro-4-hydroxyphenyl) propanoic acid methyl ester, 3-(3-chloro-4-hydroxyphenyl) 3-(3-chloro-4-hydroxyphenyl) propanoic acid,
Streptomyces diacarni LHW51701	Chlocarbazomycins (CCBs) A–D
Streptomyces fradiae MM456M-mF7	Fradiamines B

Streptomyces hyaluromycini MB-PO13	Rubromycins CA1, CA2
Streptomyces koyangensis SCSIO 5802	Neoabyssomicins F, G
Streptomyces microflavus (MBTI36)	Chromomycin A9, Ap, A2, A3
Streptomyces lusitanus OUCT16-27	Grincamycin L
Streptomyces qinglanensis 172205	15R-17,18-dehydroxantholipin
Streptomyces zhaozhouensis 208DD-064	Streptopyrroles B, C
Streptomyces sp. 182SMY	N-acetyl-N-demethylmayamycin
Streptomyces sp. AD-3-6	Nybomycins D
Streptomyces sp. ADI91-18, ADI95-16	Linearmycins
Streptomyces sp. ADI97-07	Clavams
Streptomyces sp. ADI98-12	Griselimycin, Kirromycin
Streptomyces sp. B9173	Flaviogeranin B1, B, Flaviogeranin D, Flaviogeranin C2
Streptomyces sp. CA-271078	Napyradiomycins 2, D1
Streptomyces sp. GKU 220	Rakicidin F
Streptomyces sp. HZP-2216E	23-O-butyrylbafilomycin D
Streptomyces sp. ICN19	Ala-geninthiocin
Streptomyces sp. MUSC 125	Thiophene, 2-butyl-5-ethyl, 1-Heptyn-3-ol, 8-[N-Aziridylethylamino]-2-6, dimethyloctene-2, Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro, and 2,4-Dihydroxy-6-propylbenzoic acid
Streptomyces sp. PNM-9	2-methyl-N-(2'-phenylethyl)-butanamide 3-methyl-N-(2'-phenylethyl)-butanamide
Streptomyces sp. SBT345	Ageloline A
Streptomyces sp. SCSIO 41399	Isotirandamycin B
Streptomyces sp. XMA39	Strepoxepinmycins A-D
Streptomyces sp. ZZ1118	Streptoindoles A-D
Streptomyces sp. ZZ741	Streptoglutaramides A-J
Streptomyces clade MAR4 CNY-960, CNS-284	Marinocyanins A-F
Thermoactinomyces vulgaris ISCAR 2354	Thermoactinoamide A
Verrucosipora sp. FIM06-0036	2-ethylhexyl 1H-imidazole-4-carboxylate
Verrucosipora sp. SCSIO 07399	Kendomycins B-D

3.2.2. Métabolites antifongiques

L'activité antifongique désigne la capacité d'une substance à inhiber la croissance des champignons ou à provoquer leur destruction. Selon **Ngamcharungchit *et al.* (2023)**, les composés antifongiques peuvent être regroupés en cinq principales classes : les polyènes, les allylamines et les thiocarbamates, les dérivés azolés, les morpholines et les analogues nucléosidiques (tableau 3).

Les polyènes, notamment l'amphotéricine B et la nystatine, exercent leur activité en se liant aux stérols de la membrane fongique, en particulier à l'ergostérol, une molécule caractéristique de la membrane des champignons et absente chez l'humain. Cette interaction provoque la formation de pores, perturbe la perméabilité membranaire, notamment aux ions potassium, et entraîne la perte de constituants cytoplasmiques essentiels, conduisant ainsi à la mort de la cellule fongique. Cette spécificité pour l'ergostérol explique la sélectivité relative de

ces composés vis-à-vis des cellules fongiques, bien qu'une fixation résiduelle sur certains stérols humains puisse être à l'origine d'effets toxiques observés lors de leur usage clinique (Hamedi *et al.*, 2017).

Les dérivés azolés, les allylamines et les thiocarbamates agissent également au niveau de l'ergostérol, tandis que les morpholines bloquent la synthèse des stérols et que les analogues nucléosidiques ciblent la synthèse de l'ADN (Ngamcharungchit *et al.*, 2023).

Tableau 3. Métabolites antifongiques issus des actinobactéries marines durant la période 2016–2023 (Ngamcharungchit *et al.*, 2023)

Organism(s)	Compound Name(s)
Micromonospora sp. UR56 + Actinokineospora sp. EG49	Phenazine-1-carboxylic acid, Aestivophoenin c, Methyl saphenate
Nocardiosis sp. LX-1	Isoflavonoid E
Streptomyces caniferus GUA-06-05- 006A	PM100117, PM100118
Streptomyces hyaluromycini MB-PO13	Rubromycins CA1, CA2
Streptomyces sp. ADI91-18	Linearmycins
Streptomyces sp. ADI95-16	Linearmycins
Streptomyces sp. ADI96-02	Cycloheximide, Galbonolides
Streptomyces sp. ADI96-15	Candididin
Streptomyces sp. ADI97-07	Galbonolides
Streptomyces sp. ADI98-12	Candididin
Streptomyces sp. MUSC 125	Thiophene, 2-butyl-5-ethyl, 1-Heptyn-3-ol, Pyrrolo[1,2-a] pyrazine-1,4-dione, hexahydro, 9,9-Dimethyl-3, 7- diazabicyclo[3.3.1]nonane, 2,4-Dihydroxy-6-propylbenzoic acid
Streptomyces sp. SY1965	Streptothiazomycin A, Streptodiketopiperazines A, B, [2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]-2- methoxybenzamide, salicylamide, 4- hydroxymethyl benzoate, Spoxazomicin C
Streptomyces coelicolor LY001	diketopiperazine alkaloids cyclo (l-Phe-trans-4-OH-l- Pro), cyclo(l-Phe-cis-4-OH-d-Pro)
Streptomyces qinglanensis 172205	15R-17,18-dehydroxantholipin
Streptomycete clade MAR4 CNY-960 and CNS-284	Marinocyanins A

3.2.3. Métabolites Antiviraux

Les actinobactéries marines ont montré leur capacité à produire des métabolites secondaires à activité antivirale. Ces métabolites peuvent être exploités dans le contrôle et le traitement des infections virales humaines, ainsi que dans le contrôle des virus présents dans les eaux contaminées par les eaux usées (Elnahas *et al.*, 2021).

3.2.4. Métabolites anticancéreux

Le cancer regroupe plus d'une centaine de maladies caractérisées par un dérèglement des mécanismes physiologiques normaux, entraînant une prolifération incontrôlée des cellules. Il constitue aujourd'hui l'une des principales causes de mortalité dans les pays industrialisés, touchant environ une personne sur trois et étant responsable d'environ un décès sur cinq à l'échelle mondiale (Chinnathambi *et al.*, 2023).

Dans ce contexte, les actinobactéries marines suscitent un intérêt particulier en raison de leur capacité à produire une grande diversité de métabolites secondaires dotés d'un potentiel antitumoral (tableau 4). Ces composés appartiennent à différentes classes structurales, notamment les antimétabolites, les acides auréoliques, les énediynes, les quinones hétérocycliques, les indolocarbazoles et les polykétides. Leur activité anticancéreuse peut se manifester à travers l'altération de fonctions cellulaires essentielles, telles que la perméabilité mitochondriale, la transduction du signal, l'angiogenèse tumorale ou encore l'intégrité de l'ADN. Parmi ces mécanismes, l'interaction avec l'ADN représente une voie d'action majeure : l'actinomycine D bloque la transcription en s'intercalant entre les brins de l'ADN, les anthracyclines comme la daunorubicine inhibent la topoisomérase II, la bléomycine provoque des cassures de l'ADN après formation d'un complexe réactif avec un ion ferreux, tandis que la mitomycine C établit des liaisons chimiques entre les deux brins d'ADN, empêchant leur séparation et conduisant à l'arrêt de la prolifération cellulaire puis à la mort programmée de la cellule cancéreuse (Elnahas *et al.*, 2021 ; Hamedi *et al.*, 2017).

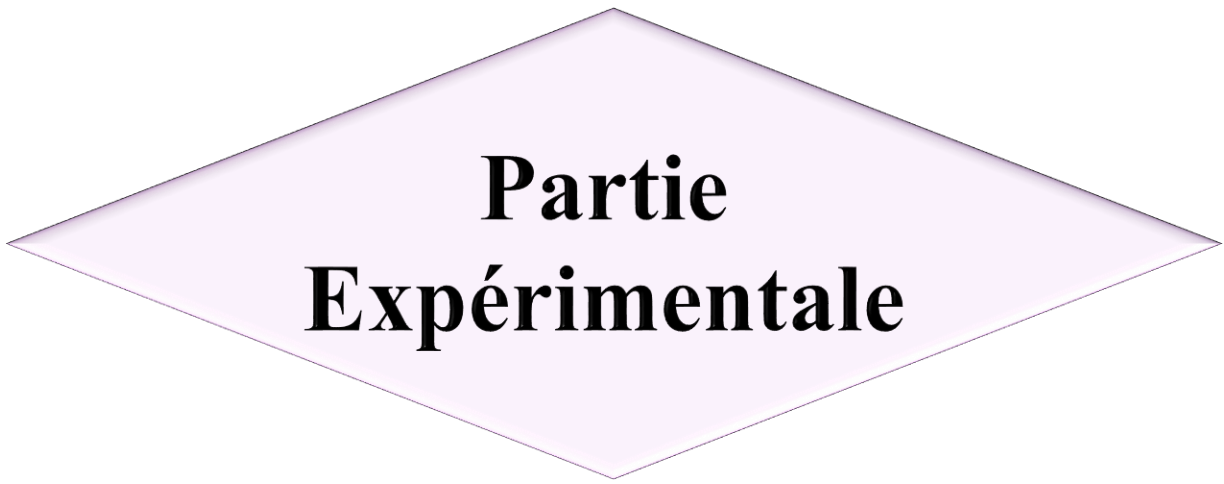
Tableau 4. Métabolites antitumoraux issus des actinobactéries marines durant la période 2016–2023 (Ngamcharunghit *et al.*, 2023)

Organism(s)	Compound Name(s)
Actinoalloteichus hymeniacidonis 179DD-027	Dokdolipid B
Micromonospora sp. UR56 + Actinokineospora sp. EG49	Phenazine-1-carboxylic acid, Aestivophoenin c, Methyl saphenate
Micromonospora carbonacea LS276	Tetrocarcin Q
Micromonospora zhangzhouensis HM134T	7E,11E)-6-hydroxy-1-isopropyl-11- (methoxycarbonyl)-4-methylene- 1,2,3,4,4a,5,6,9,10,12a- decahydrobenzo[10]annulene-7-carboxylic acid
Micromonospora matsumotoense M-412	Paulomycin G
Micromonospora aurantiaca 110B	Isoflavonoid glycosides 1-3
Micromonospora chalcea FIM 02-523	Rakicidins G–I
Micromonospora sp. FIM05328	FW05328-1
Micromonospora sp. HS-HM-036	Naphthalenepropanoic acid analog
Micromonospora yangpuensis DSM 45577	Yangpumicin A
Micromonospora yangpuensis DSM 45577	Yangpumicins F, G
Nocardiopsis alba KM6-1	Isomethoxyneihumicin
Nonomuraea sp. AKA32	Akazamicin
Saccharomonospora sp. UR22 + Dietzia sp. UR66	Saccharomonosporine A
Streptomonospora sp. PA3	Persiamycin A
Streptomyces ardesiacus 156VN-095	Urdamycins W, X, Grincamycin U
Streptomycete clade MAR4 CNY-960 and CNS-284	Marinocyanins A–F
Streptomyces qinglanensis 172205	15R-17,18-dehydroxantholipin, (3E,5E,7E)-3-methyldeca-3,5,7-triene-2,9- dione, Qinlactone A–B
Streptomyces caniferus GUA-06-05-006A	PM100117, PM100118
Streptomyces cyaneofuscatus M-157	3-Hydroxyquinaldic acid derivative 1
Streptomyces sp. 182SMLY	N-acetyl-N-demethylmayamycin, Streptoanthraquinone A
Streptomyces sp. ADI92-24	Tomaymycin
Streptomyces sp. ADI95-17	Naringenin
Streptomyces sp. ADI96-02	Echinomycin
Streptomyces sp. ADI96-15	Antimycin, Lobophorins
Streptomyces sp. ADI97-07	Neocarzilin, Antimycin
Streptomyces sp. ADI98-10	Actinomycin
Streptomyces sp. B9173	Flaviogeranin B1, B, C2, D
Streptomyces sp. DT-A61	9-hydroxy-K252c, 3-hydroxy-K252c, 3-hydroxy-7-methoxy-K252c, Nacetylholyrine A, 3-hydroxyholyrine A, 3'-O-demethyl-4'-N-demethyl-4'-N- acetyl-4'-epi-staurosporine, Streptocarbazoles D, E
Streptomyces sp. EGY1	Sharkquinone
Streptomyces sp. GIC10-1	Bafilomycin M
Streptomyces sp. GKU 220	Rakicidin F
Streptomyces sp. HF-11225	Nivelactam B
Streptomyces sp. HZP-2216E	23-O-butyrylbafilomycin D
Streptomyces sp. ICN19	Ala-geninthiocin
Streptomyces sp. M268	Kiamycin B
Streptomyces sp. MUSC 125	8-[N-Aziridylethylamino]-2-6,dimethyloctene-2

Chapitre 3. Métabolites secondaires des actinobactéries marines à activité biologique.

Streptomyces sp. OPMA00071	JBIR-150
Streptomyces sp. Q22	Bagremycins C
Streptomyces sp. SBT345	Strepoxazine A
Streptomyces sp. SCSIO 03032	Indimicins F, G, Spiroindimicins G, H
Streptomyces sp. SCSIO 1666/17C4 (engineered)	L-rhodinose-L-rhodinose-2-deoxy-L-fucose-10-decarbomethoxy-ε-rhodomycinone
Streptomyces sp. SCSIO 40063	Piericidins A5, G1
Streptomyces sp. SCSIO 41399	Aranciamycin K, Isotirandamycin B
Streptomyces sp. SS17F	Thioquinomycins A, C, D
Streptomyces sp. SSA28	Cytosaminomycin E
Streptomyces sp. XMA39	Strepoxepinmycins A–D
Streptomyces sp. ZZ741	Streptoglutarimides H
Streptomyces sp. shell-016	Shellmycin A–D
Verrucosipora sp. SCSIO 07399	Kendomycins B-D

Généralement, les actinobactéries marines constituent une source prometteuse de métabolites secondaires, caractérisés par des structures chimiques originales et un potentiel important pour le développement de nouvelles molécules thérapeutiques. Bien que leur exploitation soit encore à ses débuts, les résultats obtenus jusqu'à présent montrent que le taux de découverte de nouveaux métabolites secondaires issus des actinobactéries marines dépasse celui de leurs homologues terrestres. Cette richesse confirme l'intérêt de ces microorganismes dans la recherche de composés bioactifs. La découverte de ces métabolites repose principalement sur l'amélioration des techniques d'isolement et de culture, permettant d'élargir la diversité des souches cultivables, ainsi que sur les approches génomiques, qui offrent une exploration plus large de leur potentiel biosynthétique. Ainsi, l'association des méthodes classiques et modernes pourrait renforcer la valorisation des actinobactéries marines dans les futurs programmes de découverte de médicaments (Chinnathambi *et al.*, 2023 ; Manivasagan *et al.*, 2014).



Partie Expérimentale

Chapitre 4

Matériel et Méthodes



4.1. Objectif du travail

L'objectif de ce travail est de rechercher des souches d'actinobactéries dans les sédiments et les algues marins, afin de découvrir de nouvelles molécules ayant une activité antimicrobienne. Ces molécules pourraient agir contre les bactéries et champignons résistants aux agents antimicrobiens conventionnels. Pour répondre au problème croissant de la résistance aux antimicrobiens, cette étude vise à isoler et caractériser ces isolats, à extraire leurs métabolites secondaires, et à tester leur activité contre des micro-organismes, dans le but d'évaluer leur potentiel comme source naturelle de nouveaux agents antimicrobiens.

4.2. Lieu du travail

Ce travail a été mené au sein du Laboratoire de Recherche en Microbiologie et Biologie Végétale de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, durant la période allant de février à juin 2026.

4.3. Matériel

4.3.1. Matériel biologique

Afin d'évaluer le potentiel antimicrobien des métabolites produits par les actinobactéries d'origine marine, huit souches bactériennes de référence ainsi que trois souches fongiques, dont une levure, deux champignons phytopathogènes, ont été utilisées comme microorganismes cibles (tableau 5).

Tableau 5. Liste des souches microbiennes utilisées

	Code	Microorganismes
Bactéries	S ₁	<i>Bacillus cereus</i> ATCC10876
	S ₂	<i>Bacillus cereus</i> ATCC11778
	S ₃	<i>Citrobacter freundii</i> ATCC13316
	S ₄	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922
	S ₅	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC70603
	S ₆	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC35659
	S ₇	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853
	S ₈	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923
Champignons	S ₉	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
	C ₁	<i>Alternaria alternata</i>
	C ₂	<i>Alternaria sp.</i>

4.3.2. Matériel non biologique

La réalisation de cette étude a nécessité l'utilisation de divers équipements, matériel, verreries, produits chimiques et milieux de culture, dont la liste détaillée est présentée en (Annexe).

4.4. Isolement des actinobactéries marines

4.4.1. Cadre d'échantillonnage

Des échantillons d'algues et de sédiments marins ont été collectés en février et mars 2026 le long du littoral méditerranéen nord-ouest de la wilaya de Mostaganem, au niveau de trois stations. Les stations d'échantillonnage étaient localisées aux coordonnées suivantes : Aïn Brahim (36,2205°N ; 0,4483°E), Deuxième Plage – Le Petit Port (36,2101°N ; 0,4036°E) et Diancy (36,2112°N ; 0,3838°E), ces trois dernières relevant de la commune de Sidi Lakhdar (fig. 7).

Au total, 12 échantillons d'algues (A₁ – A₁₂) et 3 échantillons de sédiments (Sid₁, Sid₂ et Sid₃) ont été prélevés à différentes dates et conditions météorologiques (tableau 6). Les sédiments ont été collectés à une profondeur de 10 cm. L'ensemble des prélèvements (fig. 8) a été conditionné immédiatement dans des bocaux en verre stérilisés contenant de l'eau de mer non filtrée prélevée *in situ*, puis acheminé au laboratoire sous réfrigération et traité dans les plus brefs délais. Mise en garde : Avant le prélèvement des algues, il est impératif de vérifier qu'elles ne portent pas de petites coquilles ou toute forme de vie marine, afin de préserver l'intégrité de l'écosystème marin.

Tableau 6. Caractéristiques des échantillons collectés lors de la campagne d'échantillonnage.

		Site géographique	Date	Heure	Etat de la mer
Algues	A ₁	Diancy	18/02/2026	15 h 54	Peu agitée
	A ₂				
	A ₃				
	A ₄				
	A ₅		29/03/2026	08 h 33	Agitée
	A ₆				
	A ₇				
	A ₈				
	A ₉				
	A ₁₀				
	A ₁₁	Ain Brahim	29/03/2026	07 h 55	Agitée
	A ₁₂				
Sédiments	Sid ₁	Ain Brahim	13/03/2026	15 h 08	Calme
	Sid ₂	2 ^{ème} plage	13/03/2026	15 h 31	Calme
	Sid ₃	Diancy	13/03/2026	15 h 44	Calme

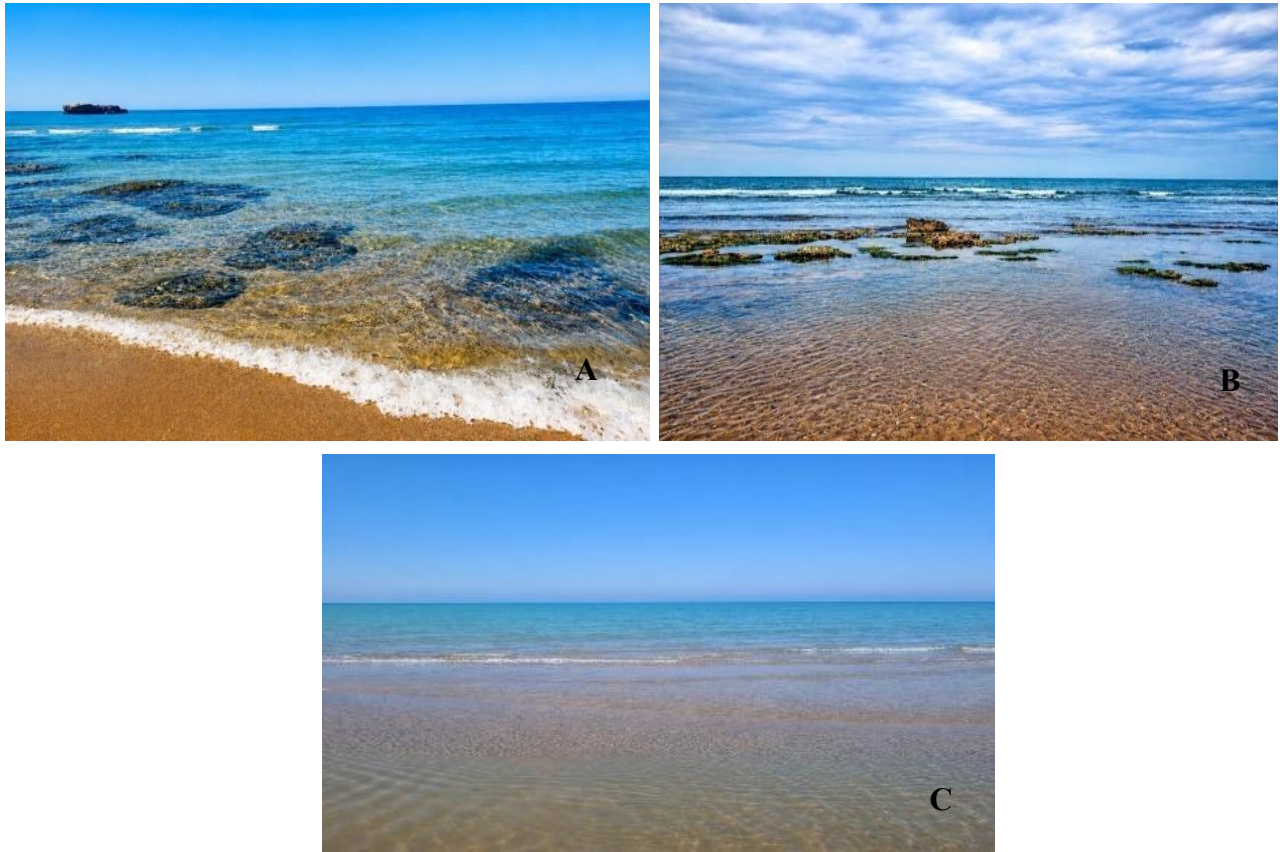


Figure 7. Stations de prélèvement le long du littoral de Mostaganem : (A) Aïn Brahim, (B) Diancy et (C) 2^{ème} Plage.

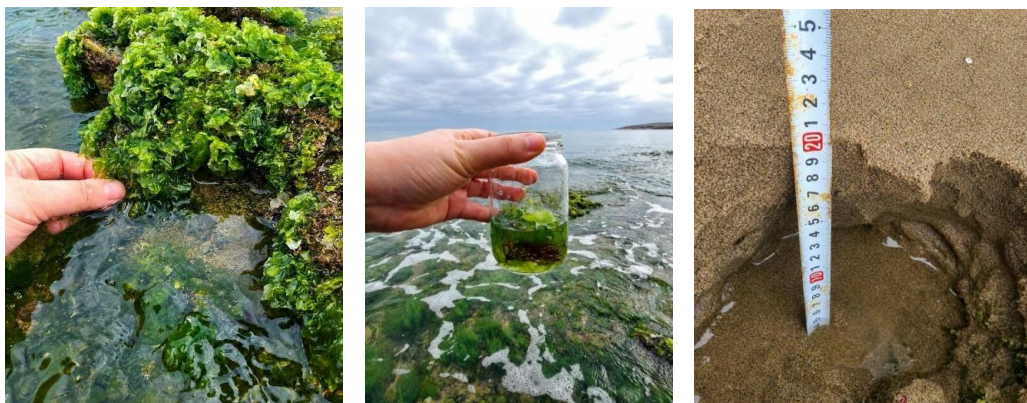


Figure 8. Prélèvements des échantillons d'algues et de sédiments marins.

4.4.2. Isolement à partir des algues

Deux protocoles ont été testés pour optimiser l'isolement des actinobactéries endophytes.

a. Isolement à partir des fragments de thalle

Les algues collectées sont d'abord rincées à l'eau de mer stérile afin d'éliminer les débris et la faune associée. La stérilisation de surface est réalisée selon le protocole décrit par **Kamat *et al.* (2020)**, selon la séquence suivante :

- Immersion dans l'éthanol à 70 % (préparé selon l'annexe) pendant 60 secondes
- Immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium à 0,4 % (préparée selon l'annexe) pendant 30 secondes
- Deux rinçages successifs à l'eau de mer stérile, de 60 secondes chacun.

Les algues sont ensuite séchées par tamponnement sur papier absorbant stérile, puis découpées aseptiquement en fragments d'environ 1 cm à l'aide d'un scalpel stérile. Cinq fragments sont déposés par boîte de Pétri contenant le milieu ISP-2 préparé à base d'eau de mer.

Afin de vérifier l'efficacité de la stérilisation de surface et de confirmer le caractère endophyte des isolats, les dernières gouttes du rinçage final sont étalées sur le même milieu (témoin négatif). Les boîtes sont incubées à 30 °C, à l'obscurité, pendant 7 à 14 jours.

b. Isolement à partir de l'extrait tissulaire

Les algues sont d'abord lavées à l'eau de mer pour éliminer les impuretés, puis rincées à l'eau de mer stérile. La stérilisation de surface consiste en une immersion dans l'éthanol à 70 % pendant 3 minutes, suivie de cinq rinçages à l'eau de mer stérile. Une masse de 0,5 g d'algue est introduite dans un mortier stérile avec 2 mL d'eau de mer stérile, puis broyée soigneusement. Un volume de 0,1 mL du broyat est prélevé et étalé sur du milieu ISP-2 préparé avec de l'eau de mer. L'incubation est réalisée à 30 °C pendant 7 à 14 jours (**Sangeetha *et al.*, 2020**).

4.4.3. Isolement à partir des sédiments

Un prétraitement par séchage a été appliqué à l'ensemble des échantillons, à l'air libre pendant 7 jours, afin de réduire leur teneur en humidité et d'éliminer une partie de la flore bactérienne à Gram négatif (**Jeffrey, 2008**).

Après le séchage, chaque échantillon a subi deux prétraitements. Le premier consistait en un traitement thermique à 110 °C pendant 10 minutes dans une étuve, afin d'éliminer les formes végétatives résiduelles tout en préservant les spores des actinobactéries (**Belabed, 2014**). Le second consistait à ajouter du carbonate de calcium (CaCO₃) aux échantillons

préalablement séchés à l'air, selon un rapport de 1:10 (p/p). Les mélanges ont ensuite été incubés à 30 °C dans une atmosphère humidifiée pendant 7 à 9 jours. Ce traitement repose sur la capacité des actinobactéries à résister aux conditions sèches et alcalines, ce qui favorise leur enrichissement au détriment d'autres groupes microbiens (**Kämpfer, 2006**).

1g de chacun des échantillons de sédiments a été suspendu dans 9 mL d'eau de mer stérile. Des dilutions décimales successives ont été réalisées jusqu'à la dilution 10^{-4} . Des aliquotes de 0,1 ml des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} ont été étalées sur des milieux d'isolement contenant de l'agar amidon-caséine et de ISP-2. Les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 7 à 14 jours.

4.5. Purification des isolats

Les cultures d'actinobactéries ont été sélectionnées sur la base de leur morphologie, puis purifiées sur milieu ISP-2 (**Arasu *et al.*, 2009**).

4.6. Conservation des souches

Après confirmation de leur pureté, l'ensemble des isolats d'actinobactéries a été codifié puis conservé à court terme sur gélose ISP-2 inclinée. Les cultures, obtenues après 14 jours d'incubation à 30 °C, ont été maintenues à 4 °C.

4.7. Caractérisation morphologique, physiologique et biochimique d'isolats d'actinobactéries marines

4.7.1. Caractérisation morphologique

L'étude de la morphologie bactérienne constitue un critère important permettant une orientation préliminaire en vue de l'identification. Elle repose sur des observations macro et microscopiques (**Beichi *et al.*, 2021**).

4.7.1.1. Étude macromorphologique

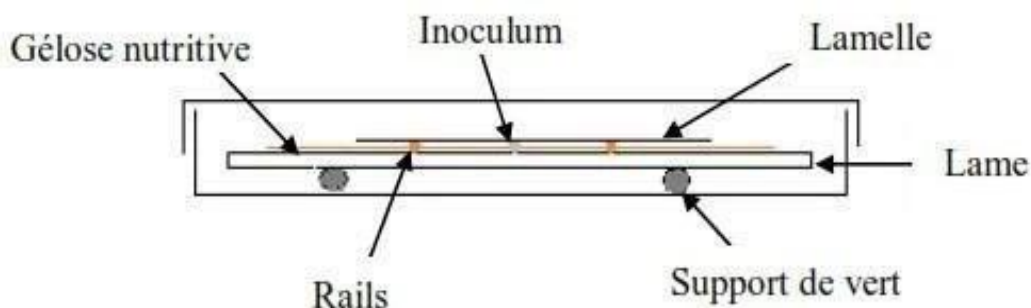
La caractérisation macromorphologique des isolats d'actinobactéries a inclus la pigmentation du mycélium de substrat et du mycélium aérien, de même que l'aspect, la forme et les dimensions des colonies (**Kpoda *et al.*, 2024**).

4.7.1.2. Étude micromorphologique

La morphologie des mycéliums est observée par les techniques suivantes :

4.7.1.2.1. Observation microscopique après culture sur lame (technique du sandwich gélosé)

Chaque isolat a été ensemencé sur un carré de gélose ISP-2 (1 cm², 2 mm d'épaisseur), intercalé entre une lame et lamelle stériles (fig. 9). Les montages ont été déposés dans des boîtes de Pétri stériles, puis incubés à 30 °C pendant 7 jours (Zaitlin *et al.*, 2003).



Figure

9. Schéma présentant la culture sur lame (Hassimi *et al.*, 2017)

4.7.1.2.2. Observation microscopique après Culture sur lamelle

Une lamelle stérile est insérée délicatement dans le milieu solide ISP-2 en formant un angle de 45° avec celui-ci (fig. 10). Une goutte de suspension d'actinobactérie est ensuite déposée sur la lamelle en contact direct avec le milieu. Après une incubation d'une semaine à 30 °C, la lamelle est extraite avec précaution, emportant le mycélium aérien, puis montée sur lame et examinée sous microscope optique (Ibrahimi, 2020).

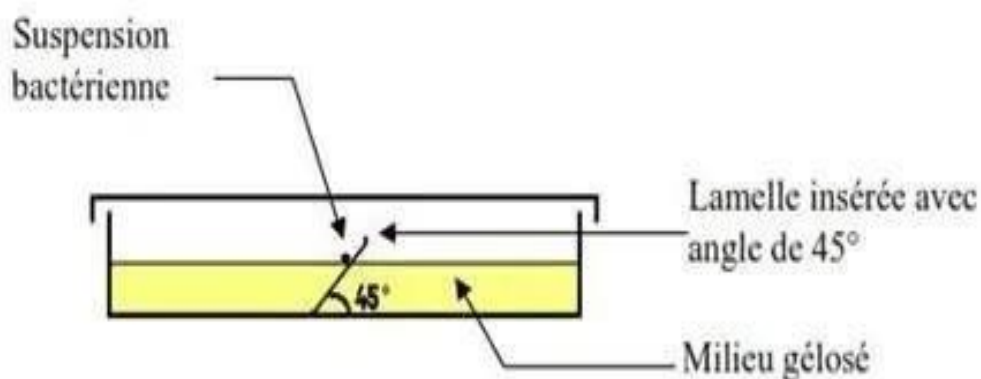


Figure 10. Schéma présentant la culture sur lamelle (Hassimi *et al.*, 2017)

4.7.1.2.3. Après coloration de Gram

Déposer le frottis sur un support de coloration placé au-dessus d'un évier et appliquer le violet de gentiane pendant 1 minute. Rincer délicatement à l'eau courante, puis ajouter le Lugol pendant 1 minute. Après un nouveau rinçage, appliquer le décolorant (éthanol 95%) pendant moins de 10 secondes. Rincer à l'eau courante et ajouter le contre colorant (fuchsine) pendant 1 minute. Rincer une dernière fois à l'eau courante et laisser sécher à l'air libre (**Paray *et al.*, 2023**). Les lames préparées ont été par la suite examinées sous microscope optique aux grossissements x 40 et x 100.

4.7.2. Caractérisations physiologiques et biochimiques

4.7.2.1. Test de la catalase

L'activité catalasique a été évaluée en exposant une colonie de chaque isolat à une goutte de solution de peroxyde d'hydrogène à 10% déposée sur une lame de verre. L'apparition de bulles gazeuses à la surface de la colonie, résultant de la dégradation du peroxyde d'hydrogène et de la libération d'oxygène moléculaire, a indiqué la présence de l'enzyme catalase (**Smati *et al.*, 2025**).

4.7.2.2. Test de l'oxydase

L'activité de la cytochrome c oxydase a été évaluée par le test d'oxydase sur l'ensemble des isolats d'actinobactéries à partir de cultures jeunes. La biomasse bactérienne a été prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile, puis déposée sur du papier filtre imprégné de tétraméthyl-para-phénylènediamine dihydrochloride. L'interprétation des résultats a été réalisée selon les critères de **Steel (1961)** : une coloration violette apparaissant en moins de 10 secondes a été considérée comme positive ; entre 10 et 60 secondes, comme positive retardée ; et au-delà de 60 secondes ou en l'absence de coloration, comme négative.

4.7.2.3. Test du citrate

L'aptitude à utiliser le citrate comme seule source de carbone a été testée sur milieu de Simmons (Annexe). Une colonie issue d'une culture pure a été striée à la surface d'une gélose en pente ; les bouchons des tubes desserrés, ont été incubés à 30 °C pendant 7 jours, condition indispensable au caractère strictement aérobic de cette réaction (**MacWilliams, 2009**).

4.7.2.4. Recherche de l'uréase

Un volume de 0,5 mL de la suspension microbienne estensemencé dans 4,5 mL d'eau physiologique additionnée de 4 gouttes de milieu Urée Indole. Après incubation à 30 °C pendant

24 heures, la lecture est directe : un virage au rouge indique une uréase positive (alcalinisation), tandis que le maintien de la couleur jaune signe une uréase négative (**Kitouni, 2007**).

4.7.2.5. Recherche de la tryptophane désaminase

Les actinobactéries sont ensemencés sur milieu Urée-Indole. Après 24 heures de culture à 30°C, la recherche de la tryptophane désaminase est réalisée par ajout d'une goutte d'acide chlorhydrique N/5 et d'une goutte de perchlorure de fer à 10 %. L'apparition d'une couleur brune traduit un test positif, tandis qu'une couleur jaune indique un test négatif (**Boughachiche, 2012**).

4.7.2.6. Production de sulfure d'hydrogène

Des tubes de milieu TSI (Triple Sugar Iron) ont été ensemencés avec les isolats, puis incubés à 30 °C pendant 18 heures. La production d'hydrogène sulfuré (H₂S) a été mise en évidence par l'apparition d'une coloration noire, due à la réaction entre le H₂S produit et les sels de fer du milieu (**Boughachiche, 2012**).

4.7.3. Tolérance à différentes concentrations de NaCl

Des isolats d'actinobactéries ont été ensemencés sur le milieu ISP-2 supplémenté de chlorure de sodium (NaCl) à des concentrations variables : 1%, 3%, 10%, 15% et 20%. La croissance des actinobactéries a été observée après 7 jours d'incubation à une température de 30 °C (**Ibrahimi, 2020**).

4.7.4. Recherche de traits PGP complémentaires

Selon **Taoussi et al. (2026)**, les activités enzymatiques et de promotion de la croissance végétale ont été criblées par dépôt de 5 µl d'une suspension de spores standardisée (1×10^8 spores/mL) au centre de chaque milieu sélectif, suivi d'une incubation à 30°C pendant 7 jours.

Les activités amylasique, cellulasique et pectinasique ont été révélées par l'inondation des boîtes avec une solution de Lugol, la présence d'un halo clair autour des colonies étant considérée comme un résultat positif. L'activité protéolytique a été mise en évidence par la formation d'un halo translucide sur un milieu contenant de la caséine. La solubilisation du phosphate a été évaluée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies sur un milieu sélectif. La capacité de fixation de l'azote a été déterminée par la croissance des souches sur un milieu dépourvu d'azote combiné, éventuellement accompagnée d'un virage colorimétrique de l'indicateur de pH lorsque le milieu en contenait un. En complément, l'activité lipolytique a été mise en évidence par la formation d'un précipité blanc autour des colonies (**Mengstie et al.,**

2024), tandis que la solubilisation du zinc a été évaluée par l'apparition d'un halo transparent sur un milieu sélectif (Shreshtha *et al.*, 2025).

4.8. Réactivation et confirmation des souches microbiennes

4.8.1. Réactivation des souches

La réactivation des souches microbiennes a été effectuée à partir des cultures conservées au froid, chaque souche a étéensemencée dans un bouillon nutritif, puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Les cultures obtenues ont étéensemencées par stries sur des milieux spécifiques à chaque genre microbien : Gélose Chapman pour *Staphylococcus aureus* ; Gélose King A pour *Pseudomonas aeruginosa*, Gélose Mossel pour *Bacillus cereus*, Gélose Sabouraud pour *Candida albicans*, Gélose MacConkey pour les entérobactéries : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* et *Proteus mirabilis*. Les boîtesensemencées ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

4.8.2. Confirmation des souches

4.8.2.1. Étude des caractères morphologiques

a. Examen macroscopique

L'examen macroscopique consiste à analyser, à l'œil nu et sous lumière naturelle ou artificielle, l'aspect des colonies. Leur taille, forme, couleur et consistance sont souvent typiques de chaque espèce (Arabi, 2018).

b. Examen microscopique

L'observation microscopique constitue une méthode essentielle pour l'étude de la morphologie cellulaire des microorganismes. Elle repose sur deux approches complémentaires : l'examen à l'état frais, qui permet d'observer des bactéries vivantes directement entre lame et lamelle, et l'examen après coloration, effectué le plus souvent sur des frottis préalablement séchés et fixés (Arabi, 2018).

c. Examen à l'état frais

Ce test permet d'étudier la morphologie, la disposition et surtout la mobilité des bactéries. Pour ce faire, on dépose une goutte d'une suspension bactérienne préparée dans une solution saline physiologique entre une lame et une lamelle, puis on observe l'échantillon au microscope optique (Boussena, 2020).

4.8.2.2. Tests biochimiques

Pour la vérification biochimique des souches de référence. Des tests de base ont été effectués : catalase, oxydase et coagulase.

4.9. Activité antimicrobienne

4.9.1. Criblage primaire de l'activité antimicrobienne

4.9.1.1. Méthode des stries croisées

Selon la méthode de **Hossain (2024)**, le test d'antagonisme a été réalisé sur gélose Mueller-Hinton (MH) et sur gélose Mueller-Hinton supplémentée en 2 % de NaCl, afin de simuler un environnement marin favorable au développement des actinobactéries marines tout en assurant une croissance optimale des microorganismes cibles.

Les isolats d'actinobactéries ont été ensemencés sous forme d'une ligne unique à l'extrémité de chaque boîte de Pétri contenant le milieu de culture. L'activité antagoniste a été évaluée après 7 jours puis après 14 jours d'incubation à 28 °C en inoculant les microorganismes cibles sous forme de stries perpendiculaires à la culture d'actinobactérie. L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant la longueur de la zone d'inhibition située entre le front de croissance d'actinobactérie et celui des microorganismes cibles, après 24 heures d'incubation (fig.11).

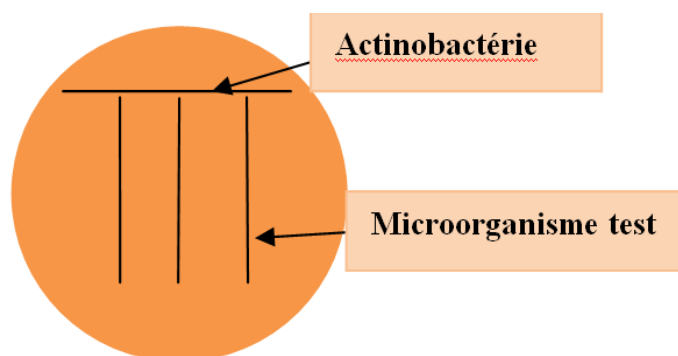


Figure 11. Représentation schématique du test de stries croisées (Cross-streak assay) sur milieu Mueller-Hinton.

4.9.1.2. Méthode de la touche centrale (central spot assay)

L'activité antagoniste des isolats d'actinobactéries a été évaluée par la méthode de la touche centrale. Dans cette technique, l'isolat d'actinobactérie est inoculé sous forme d'une touche unique au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu gélosé Mueller-Hinton, puis incubé pendant 14 jours afin de permettre sa croissance et la diffusion de ses métabolites antimicrobiens dans le milieu. Après cette période d'incubation, les microorganismes tests sont

ensemencés en stries radiales, à partir de la périphérie de la boîte en direction du centre, sans entrer en contact avec la colonie de l'actinobactérie. Après une nouvelle incubation, l'activité antagoniste est déterminée par l'observation de l'inhibition de la croissance des microorganismes tests à proximité de la colonie centrale. La présence d'une zone d'inhibition entre l'actinobactérie et les microorganismes tests traduit la production de composés antimicrobiens, tandis que son absence indique un manque d'activité antagoniste (fig.12).

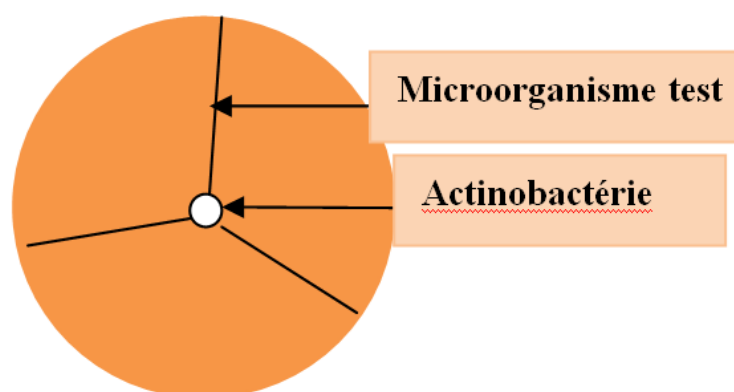


Figure 12. Représentation schématique de la méthode de la touche centrale utilisée pour évaluer l'activité antagoniste des actinobactéries

4.9.2. Criblage secondaire de l'activité antimicrobienne

4.9.2.1. Fermentation, extraction et concentration des métabolites secondaires à potentiel antimicrobien

Sur la base des résultats obtenus lors du premier criblage de l'activité antimicrobienne, plusieurs souches potentielles ont été sélectionnées pour un second criblage évaluant leur activité antagoniste.

4.9.2.1.1. Fermentation sur milieu solide

Les isolats d'actinobactéries ont été cultivés sur milieu ISP-2 solide pendant 14 jours à 30 °C. Après incubation, le milieu gélosé a été découpé en petits fragments, puis les morceaux ont été soumis à une extraction par macération dans l'acétate d'éthyle, avec un rapport solide/solvant de 1 :1 (v/v), sous agitation continue à 180 tr/min pendant 24 heures. Le mélange a ensuite été filtré sur papier Whatman n°1 pour éliminer les débris cellulaires. Enfin, le filtrat a été concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C jusqu'à l'obtention d'un résidu sec contenant les métabolites secondaires (Sedjati *et al.*, 2022).

4.9.2.1.2. Fermentation sur milieu liquide

Pour chaque souche d'actinobactérie, un inoculum a été préparé par repiquage d'une anse de culture en bouillon ISP2 dans des flacons de 250 mL contenant 50 mL de milieu, puis incubé 3 jours à 30 °C sous agitation orbitale à 180 tr/min.

La fermentation a été réalisée en inoculant 50 mL de bouillon ISP2 frais avec un inoculum représentant 5 % (v/v) du volume final. Les cultures ont ensuite été incubées à 28 °C sous agitation à 180 tr/min pendant 7 jours. À l'issue de l'incubation, les cultures ont été centrifugées à $12\,000 \times g$ pendant 10 min à 4 °C, et le surnageant acellulaire a été récupéré pour les analyses ultérieures.

L'extraction des métabolites secondaires a été réalisée à partir de 300 mL de surnageant par deux extractions successives à l'acétate d'éthyle (rapport 1 :1, v/v) à température ambiante pendant 6 heures. Les phases organiques combinées ont été concentrées par un rota vapeur à 40 °C, et l'extrait sec résultant a été récupéré et pesé avant toute analyse ultérieure (**Oskay, 2024**).

4.9.2.2. Méthode de diffusion sur gélose

Les milieux de culture ont étéensemencés avec des inoculums microbiens standardisés. Les suspensions bactériennes ont été ajustées à une densité d'environ 10^8 UFC/mL (équivalente à un étalon 0,5 McFarland) avant leur ensemencement sur gélose Mueller-Hinton (MH). Pour *Candida albicans*, la suspension cellulaire a également été standardisée à une concentration appropriée ($\approx 10^6$ UFC/mL) puis ensemencée sur gélose Sabouraud. Les champignons phytopathogènes filamenteux ont été cultivés sur gélose Potato Dextrose Agar (PDA). Les inoculums ont été répartis uniformément à la surface des géloses à l'aide d'un écouvillon stérile.

Des disques de papier stériles (diamètre : 6 mm), imprégnés de 10 μ L des extraits dilués dans le DMSO (0,2%) à tester, ont ensuite été déposés sur les boîtes ensemencées. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et 5 jours pour les champignons, l'activité antimicrobienne a été évaluée par mesure du diamètre des zones d'inhibition (mm). La ciprofloxacine et l'éconazole ont été utilisés comme témoins positifs et le DMSO comme témoin négatif. Cette méthode est basée sur celle décrite par **Mohseni et al. (2013)**, avec quelques modifications.

Chapitre 5

Résultats et Discussion



Cette étude a porté sur huit isolats d'actinobactéries obtenus à partir de six points de prélèvement, comprenant trois échantillons d'algues et trois échantillons de sédiments, collectés dans trois sites différents du littoral de Mostaganem : Aïn Brahim, Diancy et Deuxième Plage. Parmi ces isolats, deux provenaient des algues et six des sédiments.

5.1. Isolement et purification des actinobactéries marins

5.1.1. À partir des algues

Parmi les deux techniques d'isolement utilisées, seule l'extraction tissulaire a donné des résultats positifs sur le milieu de culture ISP2 préparé à base d'eau de mer. Ainsi, deux isolats d'actinobactéries, I₁ et I₂, ont été obtenus respectivement à partir des algues A₁ et A₇ (fig. 13).



Figure 13. Aspect macroscopique des deux algues A₁ et A₇.

5.1.2. À partir des sédiments

Concernant l'isolement à partir des sédiments, les échantillons Sid₁, Sid₂ et Sid₃ ont été préalablement soumis à un traitement thermique (110 °C, 10 min). Cette méthode a permis d'obtenir cinq isolats d'actinobactéries, notés I₃ à I₇, sur deux milieux de culture différents : ISP-2 et SCA. En revanche, le traitement chimique des échantillons au CaCO₃ n'a permis d'obtenir qu'un seul isolat d'actinobactérie, noté I₈. Ces résultats montrent l'efficacité du prétraitement thermique pour l'isolement des actinobactéries à partir des sédiments marins. Le faible rendement obtenu après le traitement au CaCO₃ indique que cette méthode était moins adaptée aux sédiments marins étudiés que le traitement thermique, qui a permis d'isoler un plus grand nombre d'actinobactéries. Cette observation est cohérente avec les travaux de **Hayakawa et Nonomura (1989)**, qui ont montré que le prétraitement au carbonate de calcium favorise l'isolement de certains groupes d'actinomycètes du sol, mais que son efficacité varie selon le

type d'échantillon et les conditions environnementales. De même, **Tiwari et Gupta (2012)** ont souligné qu'aucune méthode de prétraitement n'est universellement efficace et qu'il est souvent nécessaire de combiner plusieurs techniques (traitement thermique, traitement au CaCO_3 et utilisation de milieux sélectifs) afin d'augmenter la diversité des actinobactéries isolées.

5.2. Identification des actinobactéries

5.2.1. Aspect macroscopique

L'étude des caractéristiques culturelles des huit isolats cultivés sur le milieu ISP-2 a révélé une diversité morphologique remarquable entre les différentes colonies observées (fig. 14). Les résultats de ces observations sont présentés dans le tableau 7.

Les actinobactéries isolées présentent des caractéristiques macroscopiques typiques des bactéries filamenteuses à croissance lente. Après plusieurs jours d'incubation, les colonies apparaissent généralement sèches, compactes et adhérentes au milieu de culture, avec une surface rugueuse à poudreuse. Cet aspect est principalement lié au développement d'un mycélium aérien et à la production de spores, caractéristiques des genres tels que *Streptomyces*. Les colonies peuvent également présenter une pigmentation variable allant du blanc au jaune, orange ou brun selon les espèces, ce qui constitue un critère d'orientation taxonomique important. Dans certains cas, une odeur caractéristique de géosmine, évoquant la terre humide, peut être observée, renforçant l'identification présomptive des actinobactéries. Ces caractéristiques sont conformes aux descriptions classiques rapportées dans la littérature, confirmant la nature actinobactérienne des isolats étudiés (**Kämpfer, 2015**)

Tableau 7. Caractères macromorphologiques des isolats.

code	Aspect	Couleur du MA	Couleur du MS	Pigments diffusibles	Odeur
I₁	Poudreuse	Gris avec blanc du côté	Gris verdâtre	-	De la terre
I₂	Cotonneuse	Abondant blanc	Jaune foncé	-	De la terre
I₃	Sec crayeux	Blanc grisâtre	Gris verdâtre	Beige	De la terre
I₄	Dure	Blanc beige	Marron jaunâtre	-	De la terre
I₅	Dure	Blanc beige	Blanc jaunâtre	-	-
I₆	Dure	Blanc	Orange clair	-	-
I₇	Granulaire	Blanc velouté	Jaune beige	-	-
I₈	Dure	Blanc orangé	Orange claire	-	-
(MA : mycélium aérien, MS : mycélium du substrat, - : absence)					

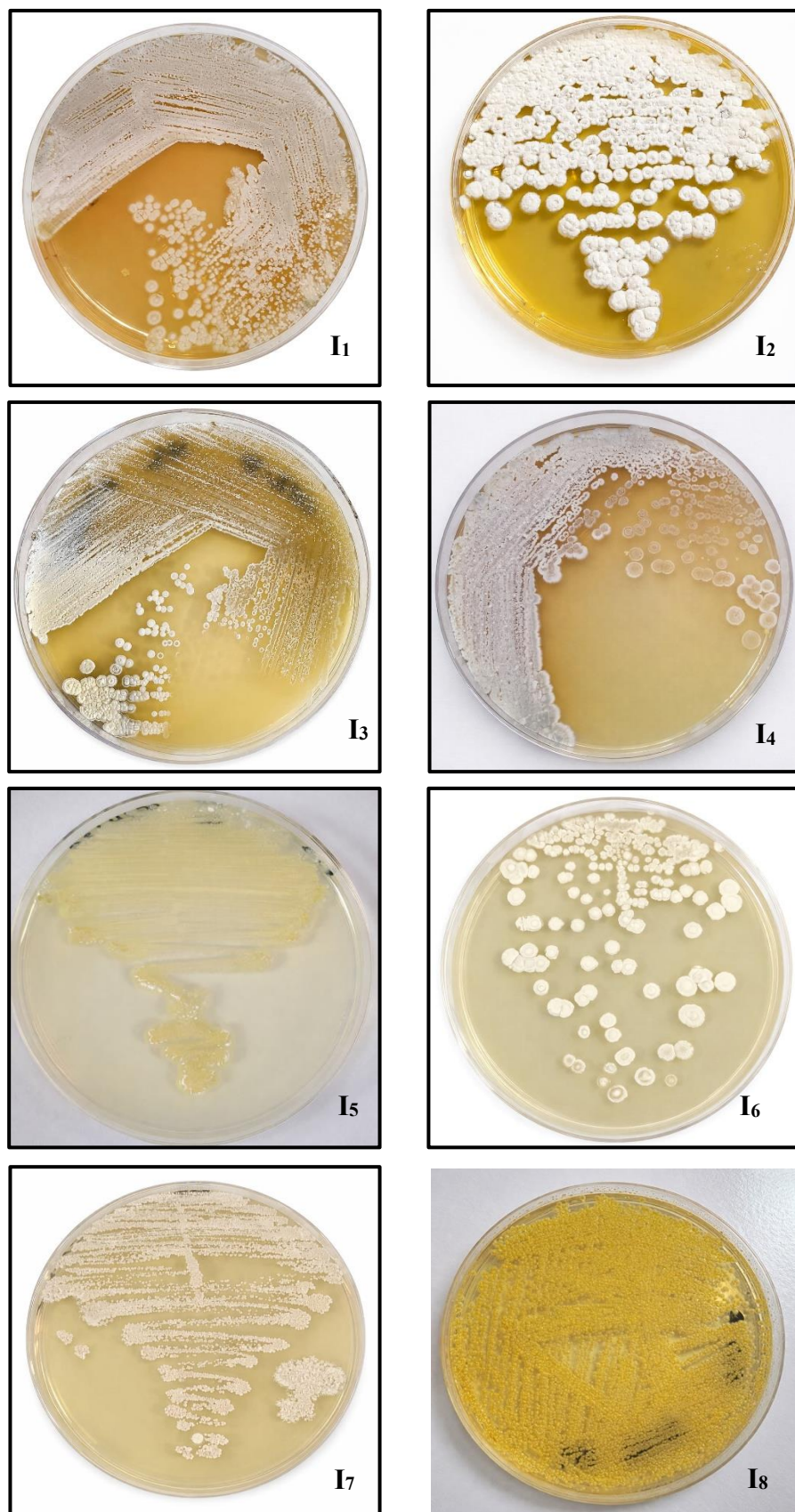


Figure 14. Morphotypes de colonie d'actinobactéries marines isolées après la purification.

5.2.2. Aspect microscopique

Les actinobactéries ont présenté, au microscope optique, un aspect typique de bactéries Gram positives filamenteuses. Après coloration de Gram, elles ont été observées violettes (fig. 15), en raison de leur paroi riche en peptidoglycane. L'examen microscopique a révélé des structures en filaments ramifiés, parfois fragmentés en formes bacillaires ou coccoïdes selon les conditions de culture. Certaines espèces, notamment du genre *Streptomyces*, ont également montré la formation de chaînes de spores sur les hyphes aériens. Ces caractéristiques microscopiques ont permis une orientation préliminaire vers le groupe des actinobactéries. Ces résultats sont conformes aux descriptions classiques des actinobactéries rapportées dans la littérature, confirmant leur appartenance au groupe des bactéries Gram positives à organisation filamenteuse (**Goodfellow, 2012**).

La culture sur lame a permis d'observer clairement le développement morphologique des isolats actinobactériens. Nos résultats ont montré la formation de filaments ramifiés bien développés, accompagnés d'un mycélium aérien progressif et, chez certains isolats, d'une fragmentation des hyphes en structures plus courtes pouvant évoluer vers des éléments sporulés (fig. 16). Cette organisation confirme le comportement typique des actinobactéries en conditions de culture non perturbées, mettant en évidence leur différenciation morphologique caractéristique. Ces observations sont en accord avec les données rapportées par **El Othmany et al. (2021)**.

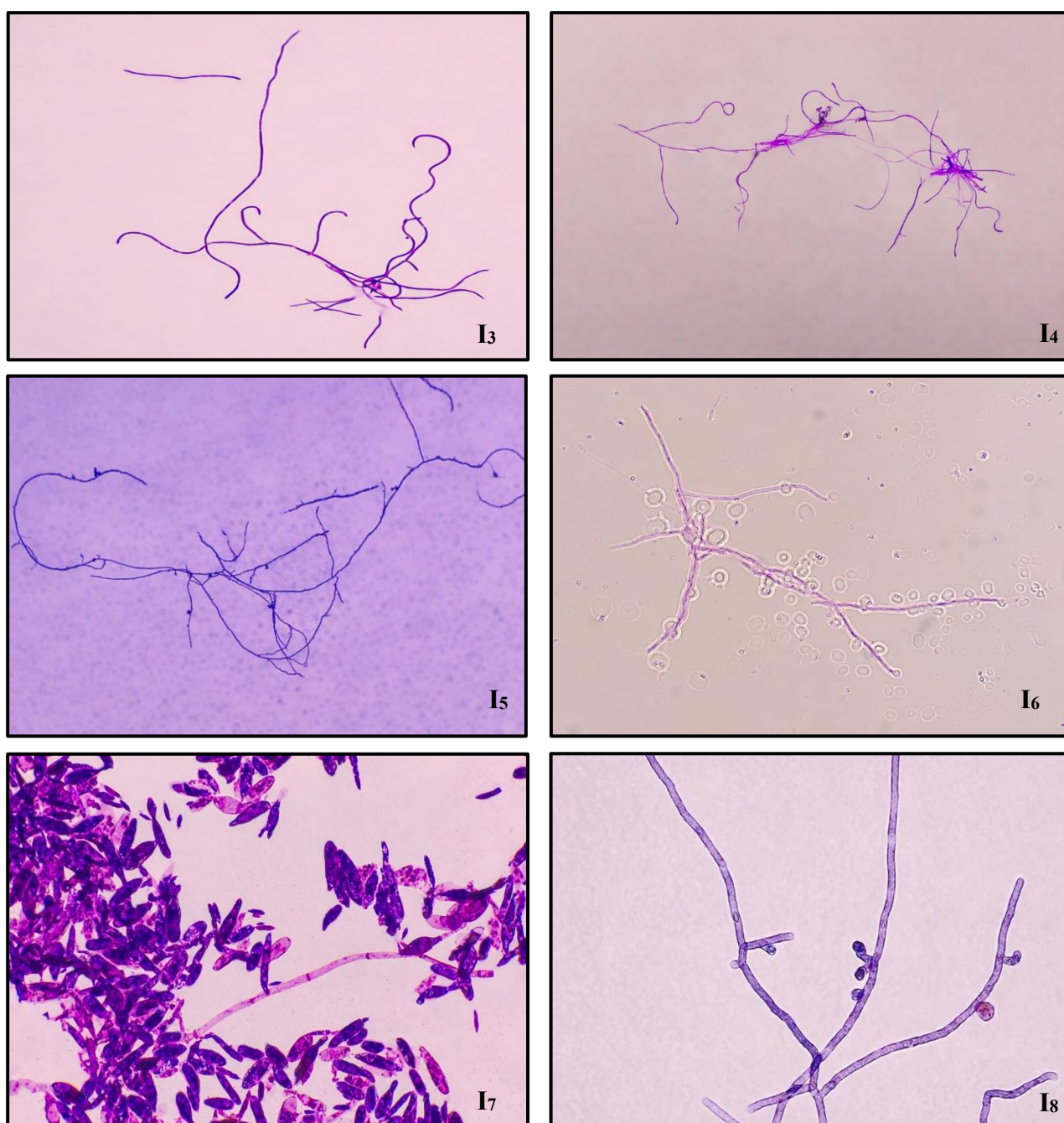


Figure 15. Aspect microscopique des isolats d'actinobactéries révélé par la coloration de Gram au grossissement x 100.

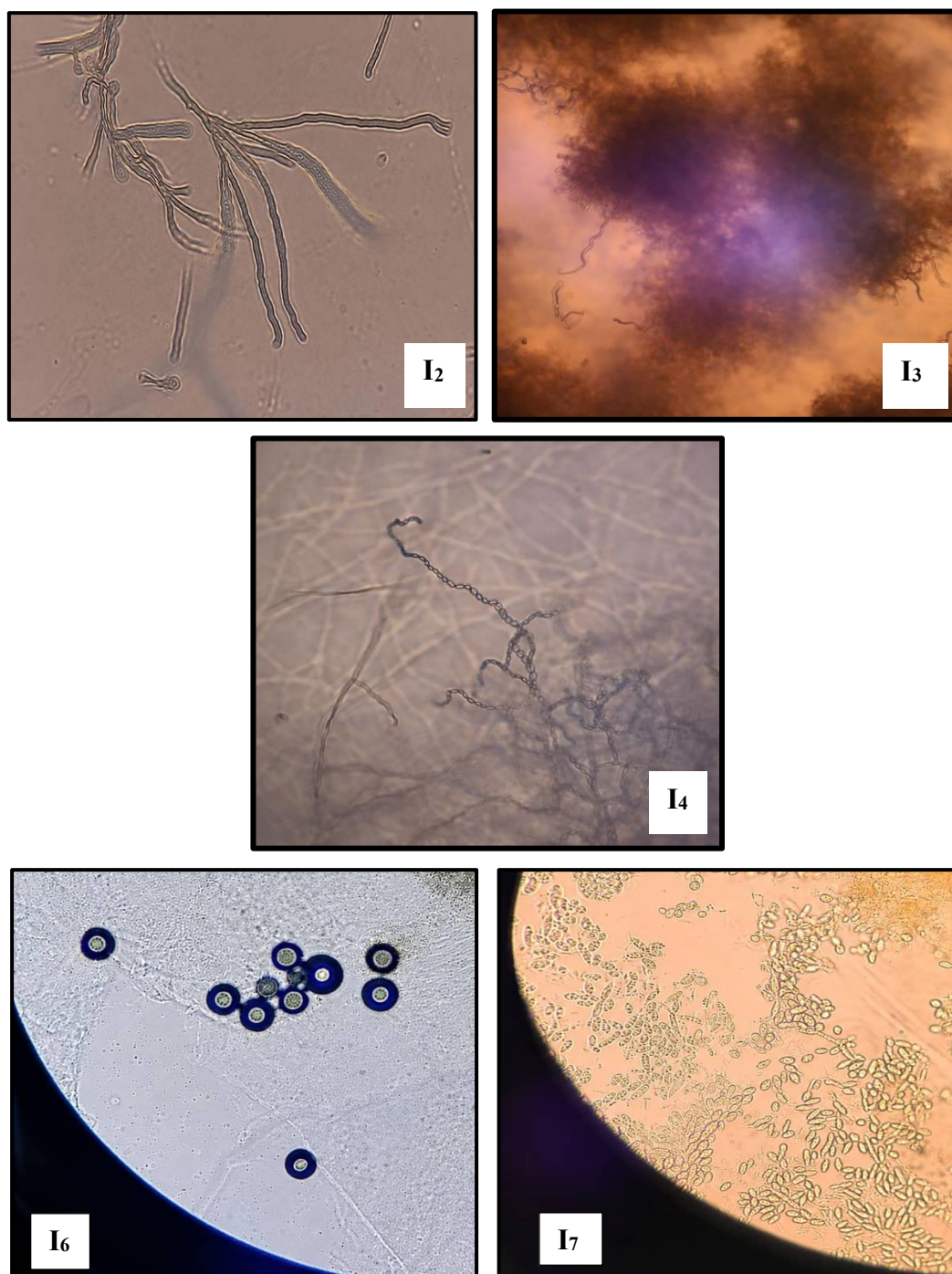


Figure 16. Aspect microscopique des isolats d'actinobactéries après culture sur lame aux grossissements x 40 et x 100.

5.2.3. Tests biochimiques (complémentaires)

Les tests biochimiques réalisés ont montré un profil global compatible avec les actinobactéries, notamment par la positivité de la catalase et la variabilité de l'utilisation du citrate et de l'urée selon les isolats. En revanche, l'oxydase est généralement négative et les tests tels que la production d'H₂S ou la tryptophane désaminase ne sont pas caractéristiques de ce groupe, ce qui confirme leur faible valeur discriminante pour l'identification des actinobactéries. Ces résultats (tableau 8) sont en accord avec les données récentes de la littérature, qui montrent que l'identification des actinobactéries repose généralement sur une combinaison de caractères phénotypiques (morphologie des colonies, caractéristiques microscopiques et quelques tests enzymatiques), les tests biochimiques seuls étant insuffisants pour une identification fiable au niveau de l'espèce (Arbefeville *et al.*, 2024). En effet, la forte variabilité phénotypique et la proximité des profils biochimiques entre de nombreuses espèces d'actinobactéries limitent le pouvoir discriminant des méthodes conventionnelles. Pour cette raison, les approches de biologie moléculaire, en particulier le séquençage du gène de l'ARNr 16S, sont désormais considérées comme la référence pour l'identification taxonomique des actinobactéries et la confirmation de leur affiliation phylogénétique. Lorsque cela est nécessaire, elles peuvent être complétées par des approches à plus haute résolution, telles que le séquençage du génome entier (WGS) ou l'analyse multilocus (MLSA), afin de distinguer des espèces très proches (Goodfellow et Fiedler, 2010 ; Nouioui et al., 2018 ; Gupta et al., 2018 ; Arbefeville et al., 2024).

Tableau 8. Caractéristiques biochimiques des isolats d'actinobactéries marines étudiés.

Caractéristiques	Isolats							
	I ₁	I ₂	I ₃	I ₄	I ₅	I ₆	I ₇	I ₈
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydase	+	+	-	+	-	-	-	-
Test Du Citrate	+	+	+	-	+	-	+	+
Recherche De L'uréase	+	+	+	+	-	-	-	-
Recherche De La Tryptophane Désaminase	-	+	+	-	-	-	-	-
Production De Sulfure D'hydrogene	-	-	-	-	-	-	-	-
+ : positif , - : négatif								

Les tests phénotypiques réalisés ont permis de rapprocher les isolats à plusieurs genres appartenant aux actinobactéries, caractérisés essentiellement par une morphologie filamenteuse et des profils biochimiques variables. Suivant les travaux de **Goodfellow *et al.*, (2012)** et **Williams *et al.* (1983)**, les isolats identifiés ont été rapprochés aux genres *Streptomyces*, *Nocardiopsis*, *Microellobosporia*, *Micromonospora* et *Streptosporangium* (tableau 9). Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature, qui indiquent que ces genres dominent parmi les actinobactéries cultivables des environnements marins, grâce à leur capacité d'adaptation aux conditions oligotrophes et à la salinité élevée (**Barka *et al.*, 2016**).

Tableau 9. Identification présomptive des isolats d'actinobactéries marines sur la base des caractères micromorphologiques selon **Williams *et al.* (1983)**.

Code	Genre	Micromorphologie
I ₁	<i>Streptomyces</i>	Chaînes de spores de type Rectus flexibilis
I ₂	<i>Streptomyces</i>	Chaînes de spores de type Rectus flexibilis
I ₃	<i>Streptomyces</i>	Chaînes de spores de type Spira
I ₄	<i>Streptomyces</i>	Chaînes de spores de type Retinaculum apertum
I ₅	<i>Nocardiopsis</i>	/
I ₆	<i>Streptosporangium</i>	Présence de Sporangie
I ₇	<i>Micromonospora</i>	Chaines de spores isolées
I ₈	<i>Microellobosporia</i>	/

5.2.4. Test de tolérance à la salinité

Les tests de tolérance à la salinité ont montré une croissance des huit isolats à 3 % de NaCl, indiquant leur caractère halotolérant. À 10 % de NaCl, seule la souche I₃ a présenté une croissance abondante, tandis que I₄ a montré une croissance faible (tableau 10). Aucune croissance n'a été observée à 15 % et 20 % de NaCl, ce qui suggère une limite supérieure de tolérance à la salinité comprise entre 10 % et 15 %. Ces résultats indiquent une adaptation variable des isolats aux conditions salines, avec une meilleure performance de I₃ par rapport aux autres souches. Ce comportement est cohérent avec les données récentes de la littérature, qui montrent que les actinobactéries halotolérantes présentent généralement une croissance optimale entre 5 % et 10 % de NaCl, tandis que seules certaines souches spécialisées peuvent tolérer des concentrations supérieures à 15 % grâce à des mécanismes d'adaptation osmotiques tels que l'accumulation de solutés compatibles et la régulation ionique (**Subramani et Aalbersberg, 2012**).

Tableau 10. Test de la tolérance des isolats d'actinobactéries à la salinité.

Isolats		I ₁	I ₂	I ₃	I ₄	I ₅	I ₆	I ₇	I ₈
NaCl	1%	+	+	+	+	+	+	+	+
	3%	+	+	+	+	+	+	+	+
	10%	-	-	+	+	-	-	-	-
	15%	-	-	-	-	-	-	-	-
	20%	-	-	-	-	-	-	-	-
+ : positif, - : négatif									

5.2.5. Activité PGP

Les résultats obtenus (tableau 11), montrent que les isolats d'actinobactéries présentent des degrés variables de caractéristiques associées au potentiel de promotion de la croissance des plantes (PGPR). Tous les isolats se sont révélés capables de fixer l'azote atmosphérique, ce qui suggère leur contribution potentielle à l'amélioration de la nutrition azotée des plantes.

Concernant les activités enzymatiques, la production d'amylases a été observée chez les isolats I₁, I₂, I₅ et I₆, tandis que l'activité pectinolytique a été détectée chez tous les isolats à l'exception de I₇. L'activité cellulasique a été mise en évidence chez les isolats I₁, I₂, I₃, I₄, I₅, I₇ et I₈, alors que l'isolat I₆ n'a présenté aucune activité de ce type. De même, une activité lipolytique a été observée chez les isolats I₁, I₂, I₃, I₄, I₅, I₇ et I₈, tandis qu'elle était absente chez I₆. La production de protéases a été détectée chez les isolats I₁ à I₅, mais n'a pas été observée chez les isolats I₆, I₇ et I₈.

Par ailleurs, la capacité de solubilisation du zinc n'a été mise en évidence que chez les isolats I₁, I₃ et I₄, alors que la solubilisation du phosphate a été observée uniquement chez les isolats I₆ et I₈.

Dans l'ensemble, ces résultats (fig. 17) mettent en évidence un potentiel PGPR variable selon les isolats. Les souches I₁, I₃ et I₄ se distinguent par la combinaison de plusieurs traits fonctionnels, notamment la production de différentes enzymes hydrolytiques, la fixation de l'azote et, pour certaines, la solubilisation du zinc, suggérant leur intérêt potentiel pour des applications en agriculture durable et en biotechnologie végétale.

Ces observations sont en accord avec les données de la littérature, qui indiquent que de nombreuses actinobactéries, notamment les genres *Streptomyces* et *Nocardiopsis*, possèdent des propriétés PGPR et jouent un rôle important dans la promotion de la croissance et la protection des plantes (Jog *et al.*, 2014; Hamed et Mohammadipanah, 2015).

Tableau 11. Évaluation des activités PGP des isolats d'actinobactéries marines.

Activité PGP	I ₁	I ₂	I ₃	I ₄	I ₅	I ₆	I ₇	I ₈
Production d'amylases	+	+	-	-	+	+	-	-
Production de pectinases	+	+	+	+	+	+	-	+
Production de cellulases	+	+	+	+	+	-	+	+
Production de lipases	+	+	+	+	+	-	+	+
Production de protéases	+	+	+	+	+	-	-	-
Fixation de l'azote	+	+	+	+	+	+	+	+
Solubilisation de Zinc	+	-	+	+	-	-	-	-
Solubilisation de phosphate	-	-	-	-	-	+	-	+

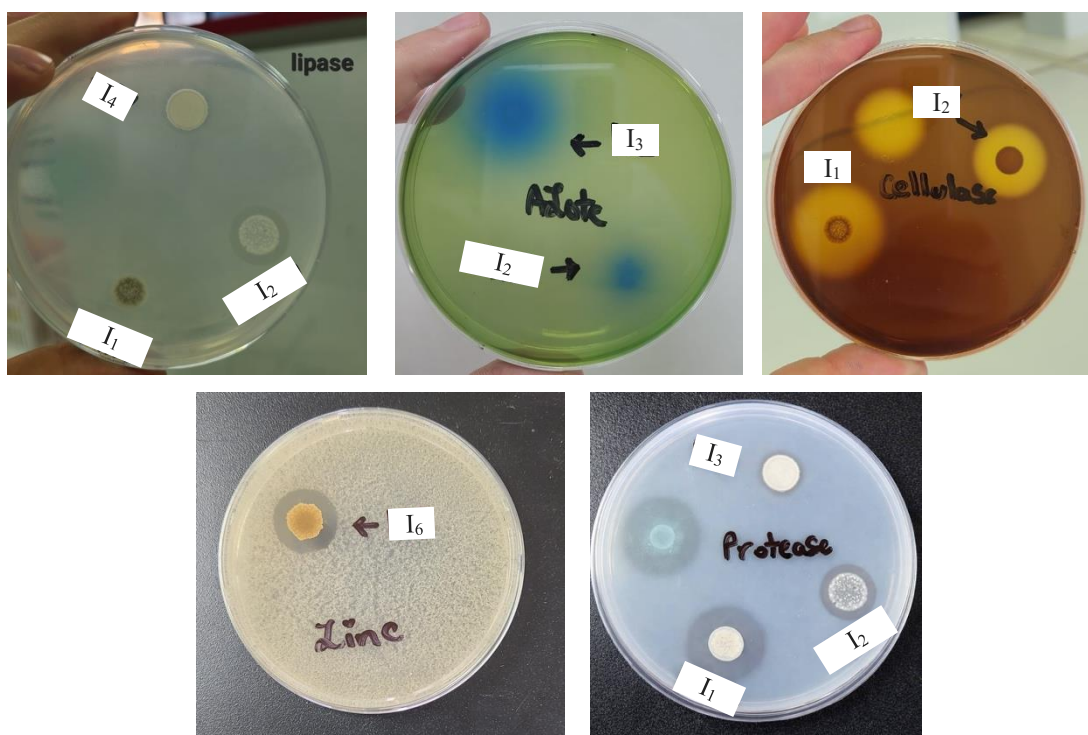


Figure 17. Activités PGP des isolats d'actinobactéries marines.

5.3. Activité antagoniste des actinobactéries

5.3.1. Confirmation des souches testées

Les tests de confirmation réalisés sur les souches de référence ATCC ont permis de vérifier leur identité à travers une approche polyphasique combinant les caractéristiques macroscopiques, microscopiques et biochimiques. L'examen macroscopique (fig. 18) a montré des colonies présentant les caractéristiques attendues pour chaque souche de référence, tandis que l'observation à l'état frais et après coloration de Gram (fig. 19) a confirmé la morphologie

et le type Gram correspondant à chaque espèce. Les tests biochimiques ont révélé une activité catalase généralement positive, une oxydase variable selon les souches, ainsi qu'une absence d'activité coagulase pour les espèces non staphylococciques. La mobilité a également permis de distinguer les souches mobiles des souches immobiles, confirmant les profils phénotypiques attendus. L'ensemble de ces résultats (tableau 12), est conforme aux caractéristiques décrites pour les souches ATCC dans la littérature, validant ainsi la fiabilité des méthodes d'identification utilisées (Tille, 2017).

Tableau 12. Profil phénotypique des souches microbiennes de référence utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

	Souches Bactériennes	Gram	Forme	Mob	Cata	Ox
S ₁	<i>Bacillus cereus</i> ATCC10876	+	Bacille	+	+	+
S ₂	<i>Bacillus cereus</i> ATCC11778	+	Bacille	+	+	+
S ₃	<i>Citrobacter freundii</i> ATCC13316	-	Bacille	+	+	+
S ₄	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	-	Bacille	+	+	+
S ₅	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC70603	-	Bacille	-	+	-
S ₆	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC35659	-	Bacille	+	+	-
S ₇	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	Bacille	+	+	+
S ₈	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	+	Cocci	-	+	-
S ₉	<i>Candida albicans</i> ATCC10231	+	Ovale	-	+	-
+ : positif, - : négatif, cata : test catalase, ox : test oxydase, mob : mobilité						



Bacillus cereus ATCC10876



Citrobacter freundii ATCC13316



Escherichia coli ATCC25922



Klebsiella pneumoniae ATCC70603



Proteus mirabilis ATCC35659



Pseudomonas aeruginosa ATCC27853

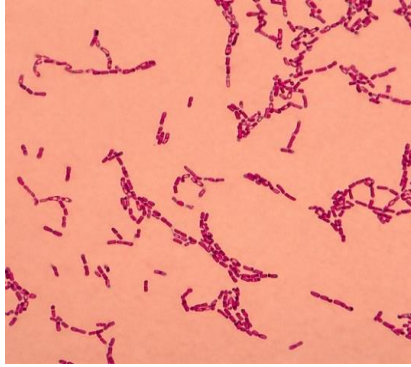


Staphylococcus aureus ATCC25923

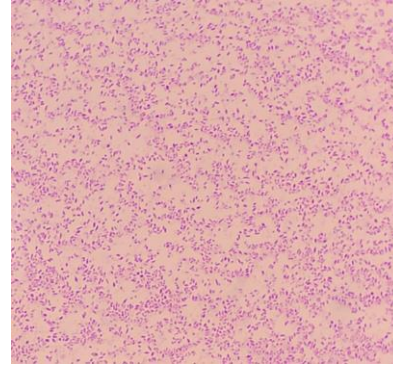


Candida albicans ATCC10231

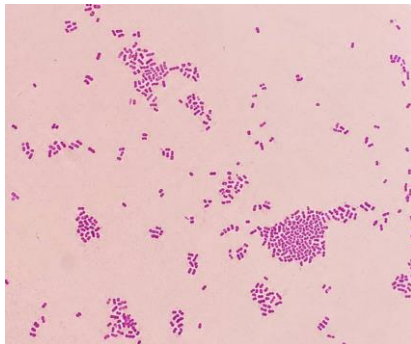
Figure 18. Aspect macroscopique des souches de référence testées.



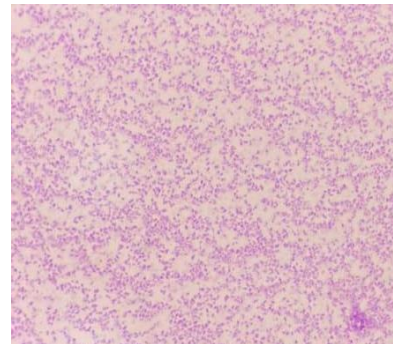
Bacillus cereus ATCC10876



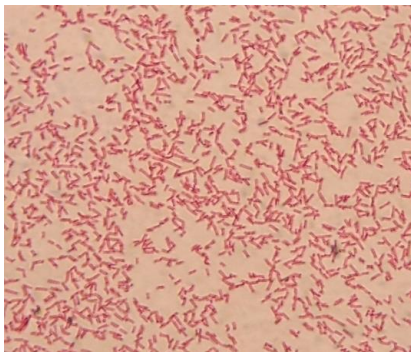
Escherichia coli ATCC25922



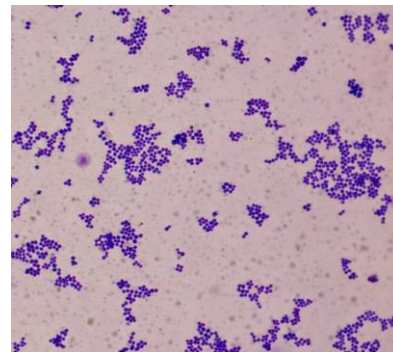
Klebsiella pneumoniae ATCC70603



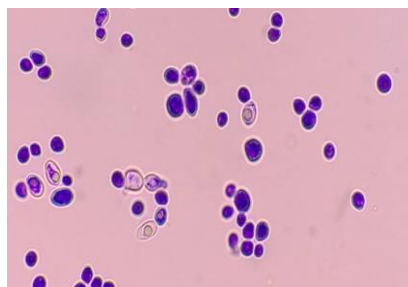
Proteus mirabilis ATCC35659



Pseudomonas aeruginosa ATCC27853



Staphylococcus aureus ATCC25923



Candida albicans ATCC10231

Figure 19. Aspect microscopique des souches de référence testées.

5.3.2. Test d'antagonisme

5.3.2.1. Méthode des stries croisées

Les résultats de la méthode des stries croisées ont révélé une activité inhibitrice variable des isolats d'actinobactéries vis-à-vis des souches ATCC testées (tableau 13). Globalement, seuls les deux isolats I₁ et I₃ ont présenté une activité antagoniste (fig. 20). L'isolat I₃ a montré les meilleurs résultats avec une inhibition totale de la croissance de toutes les souches ATCC (S₁ à S₉), caractérisée par des zones d'inhibition importantes variant de 45 à 61 mm. Quant à l'isolat I₁, il a présenté une inhibition modérée sur l'ensemble des souches testées, avec des zones d'inhibition comprises entre 3 et 20,3 mm.

Tableau 13. Effet antagoniste des isolats I₁ et I₃ sur les souches bactériennes de référence.

		Diamètres d'inhibition (mm)	
Souches		I ₁	I ₃
S ₁	<i>Bacillus cereus</i> ATCC10876	20,3	59
S ₂	<i>Bacillus cereus</i> ATCC11778	21	58
S ₃	<i>Citrobacter freundii</i> ATCC13316	11,5	61
S ₄	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	10,4	45
S ₅	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC70603	18,5	54,2
S ₆	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC35659	12	54,4
S ₇	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	3	47,8
S ₈	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	8	54,3
S ₉	<i>Candida albicans</i> ATCC10231	20.6	50

Ces résultats sont cohérents avec les données récentes de la littérature, qui montrent que les actinobactéries, en particulier le genre *Streptomyces*, sont parmi les principaux producteurs de composés antimicrobiens actifs contre des bactéries Gram positives et Gram négatives, grâce à une grande diversité de métabolites secondaires codés par des clusters biosynthétiques spécialisés (Ait Assou et El Hassouni, 2025 ; Al-Ansari *et al.*, 2019 ; Barka *et al.*, 2016).

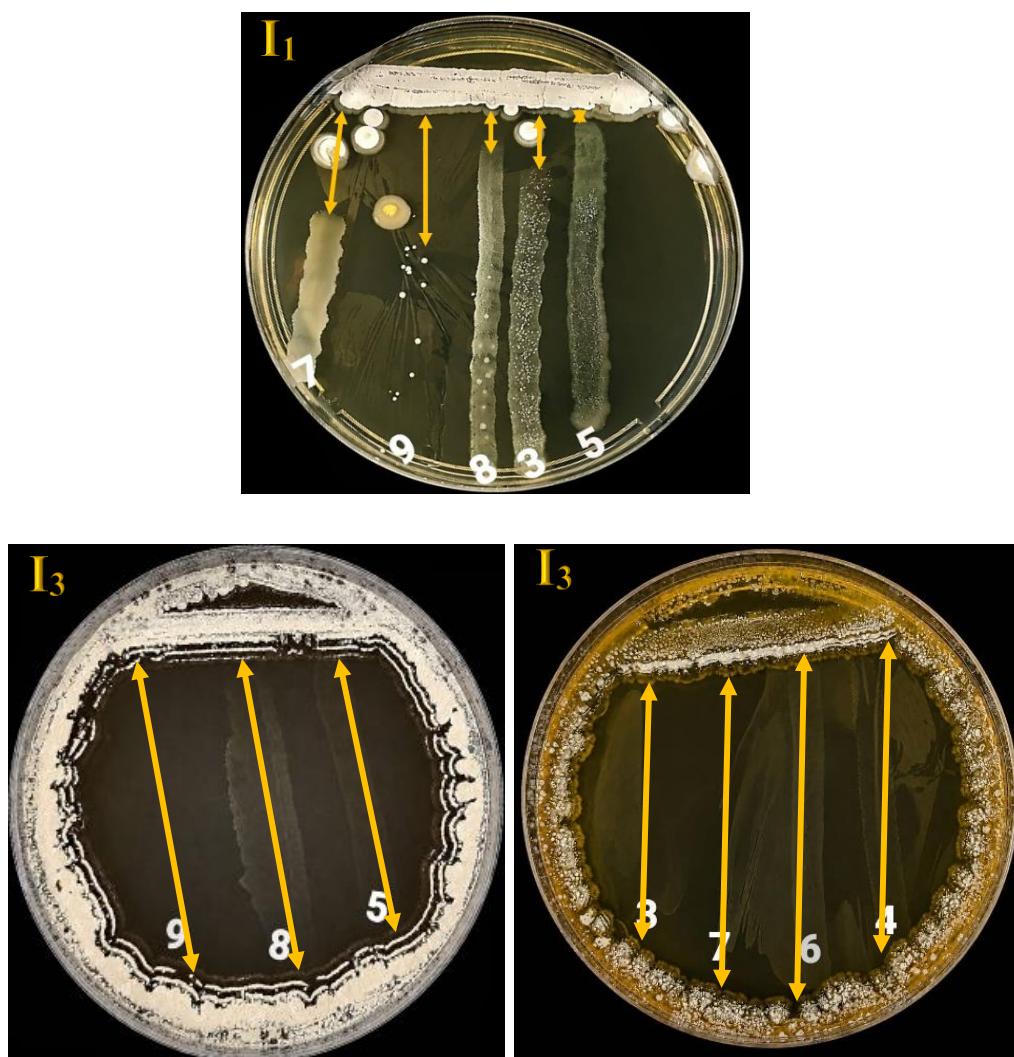


Figure 20. Interaction entre les isolats d'actinobactéries et les souches cibles

5.3.2.2. Méthode de la touche centrale (central spot assay)

Les résultats de la méthode de la touche centrale montrent que les isolats d'actinobactéries présentent des activités antimicrobiennes variables selon les bactéries et la levure cibles.

L'isolat I₃ a démontré la plus forte activité (fig. 21), avec une inhibition complète de *Escherichia coli* (30.4 mm) et *Klebsiella pneumoniae* (30 mm). L'isolat I₁ a également montré une inhibition totale de *Staphylococcus aureus* (30.2 mm) ainsi qu'une inhibition modérée de *K. pneumoniae* (20 mm).

Ces résultats (tableau 14) mettent en évidence un spectre d'activité spécifique à chaque isolat, suggérant une production de métabolites antimicrobiens différents et confirmant le potentiel des actinobactéries comme source de nouveaux agents antimicrobiens.

Tableau 14. Activité antagoniste des isolats d'actinobactéries (I₁ et I₃) contre différentes bactéries pathogènes évaluée par la méthode de la touche centrale.

Souche cible	Actinobactérie I ₁
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	0 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC70603	20 mm
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	Élimination totale 30.2 mm
Souche cible	Actinobactérie I ₃
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	Élimination totale 30.4 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC70603	Élimination totale 30 mm

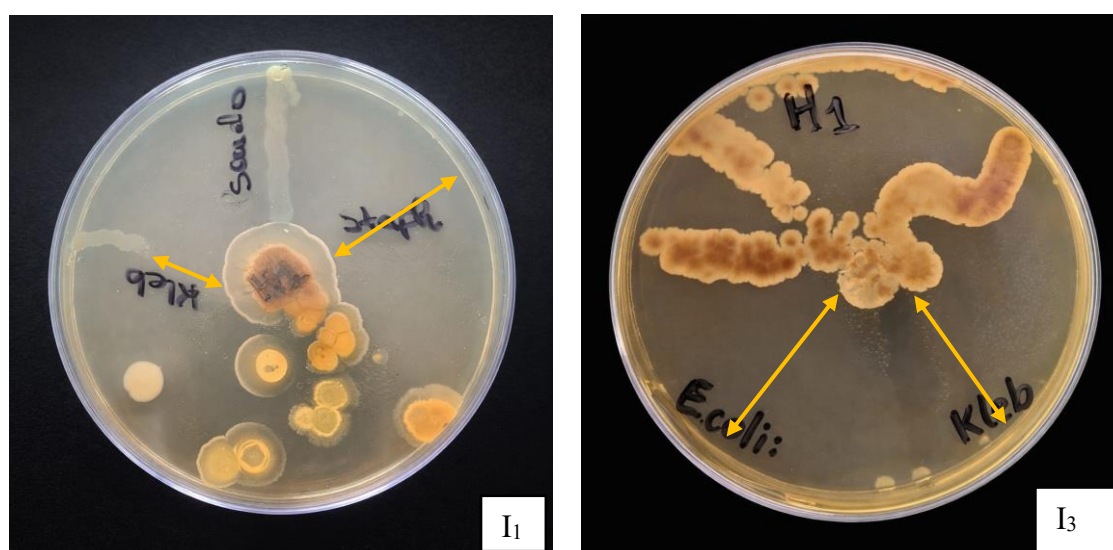


Figure 21. Interaction entre les isolats d'actinobactéries et les souches cibles évaluée par la méthode de la touche centrale.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par plusieurs auteurs, qui ont démontré le fort potentiel antibactérien des actinobactéries marines contre des bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (Al-Dhabi *et al.*, 2019 ; Hamed *et al.*, 2019 ; Manikkam *et al.*, 2021). Les différences de sensibilité observées entre les bactéries testées confirment que l'activité antimicrobienne varie selon l'isolat d'actinobactérie, la nature des métabolites secondaires produits et les caractéristiques structurales des bactéries cibles, notamment la présence d'une membrane externe chez les bactéries à Gram négatif (Delcour, 2009).

5.3.3. Activité antimicrobienne des métabolites actinobactériens

5.3.3.1. En milieu liquide

En fermentation liquide, les métabolites extracellulaires sécrétés dans le surnageant peuvent être facilement récupérés par extraction à l'aide d'un solvant organique après

séparation de la biomasse par centrifugation. Cette approche est largement utilisée pour l'extraction des métabolites secondaires d'actinobactéries cultivées en milieu ISP-2, comme rapporté par **Rammali et al. (2024)**.

Dans la présente étude, l'extraction des métabolites secondaires produits en milieu ISP-2 liquide a mis en évidence une différence de rendement entre les deux isolats étudiés. L'isolat I₁ a fourni 109 mg d'extrait brut, correspondant à un rendement de **0,0363 % (m/v)**, tandis que l'isolat I₃ a produit 72 mg d'extrait brut, soit un rendement de **0,0240 % (m/v)**. Ces résultats indiquent que l'isolat I₁ présente une capacité de production de métabolites extractibles supérieure à celle de l'isolat I₃ dans les conditions expérimentales utilisées. Cette différence pourrait reflète une capacité biosynthétique plus importante chez I₁, vraisemblablement liée à une expression plus active de certaines voies de biosynthèse en milieu liquide. Des travaux comparatifs sur plusieurs souches de *Streptomyces venezuelae* ont en effet démontré que des isolats partageant plus de 85 % de leurs gènes produisent néanmoins des quantités très différentes de métabolites secondaires, suggérant que la variabilité inter-isolats peut résulter d'une régulation différentielle au niveau de la souche malgré une forte conservation génomique (**Kim et al., 2020**).

Toutefois, un rendement massique élevé ne garantit pas une activité biologique supérieure. Il a été montré que la biosynthèse des métabolites secondaires chez *Streptomyces* dépend de plusieurs facteurs, notamment les conditions de culture, la composition du milieu et le fond génétique de la souche, et que la biomasse produite ne reflète pas toujours directement le profil bioactif des extraits obtenus (**Ashok et al., 2023**).

L'efficacité antimicrobienne d'un extrait brut dépend avant tout de la nature chimique des molécules présentes, de leur concentration réelle et de leurs propriétés physicochimiques, notamment leur solubilité et leur capacité à diffuser dans le milieu de test. En effet, les résultats des méthodes de diffusion peuvent être influencés par plusieurs facteurs, tels que la méthode d'extraction, la composition du milieu, le pH, la solubilité des composés et leur diffusion dans la matrice gélosée (**Ríos et al., 1988 et Eloff, 2019**). Dans la présente étude, malgré les rendements d'extraction enregistrés pour les isolats I₁ et I₃ en fermentation liquide, aucun des deux extraits n'a manifesté d'activité antimicrobienne détectable lors des tests réalisés. Ces résultats suggèrent que la quantité de matière extractible ne reflète pas nécessairement la présence de composés actifs à une concentration suffisante, ni leur disponibilité dans les conditions du test antimicrobien utilisé.

5.3.3.2. En milieu solide

Le rendement d'extraction des métabolites secondaires obtenus après fermentation en milieu ISP-2 solide pendant 14 jours à 30 °C a montré une différence notable entre les deux isolats de *Streptomyces* I₁ et I₃. L'isolat I₁ a présenté un rendement d'extraction de **0,0316 % (m/m)**, avec un extrait de couleur jaune, suggérant une production relativement plus importante de composés extracellulaires. En revanche, l'isolat I₃ a donné un rendement de **0,0249 % (m/m)**, avec une couleur verte de l'extrait, indiquant une composition métabolique différente malgré un rendement plus faible. Ces variations traduisent une hétérogénéité dans la capacité de biosynthèse des métabolites secondaires entre les deux isolats, probablement liée à des différences génétiques et métaboliques. De telles différences de production sont fréquemment rapportées chez les actinobactéries, où les conditions de culture et la nature des souches influencent fortement la quantité et la nature des composés produits (**Barka *et al.*, 2016**).

L'isolat I₁ présente un rendement d'extraction légèrement supérieur à I₃, indiquant une production plus importante de métabolites extractibles dans les conditions de fermentation utilisées.

Les résultats obtenus (tableau 15) montrent que les métabolites secondaires produits par les isolats d'actinobactéries I₁ et I₃ présentent une activité antimicrobienne variable vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques testées (fig. 22). Dans l'ensemble, l'isolat I₃ se distingue par des zones d'inhibition systématiquement plus élevées que celles de l'isolat I₁, traduisant une activité biologique plus marquée.

Chez les bactéries à Gram positif, notamment *Bacillus cereus*, les diamètres d'inhibition obtenus varient de 9,5 à 13,5 mm pour les deux isolats, avec une activité légèrement supérieure de I₃. Une tendance similaire est observée pour *Staphylococcus aureus* (9 mm pour les deux isolats), indiquant une sensibilité modérée de ces souches aux métabolites testés. Ces résultats sont cohérents avec la littérature, qui rapporte une sensibilité généralement plus élevée des bactéries à Gram positif aux composés issus des actinobactéries.

Concernant les bactéries à Gram négatif, les zones d'inhibition sont globalement plus faibles, variant entre 7 et 10 mm pour I₁ et I₃. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* et *Klebsiella pneumoniae* présentent une résistance relative plus importante, ce qui s'explique par la présence de la membrane externe lipopolysaccharidique limitant la diffusion des composés antimicrobiens. Toutefois, I₃ montre une légère amélioration d'activité par rapport à I₁ sur la majorité des souches testées.

En comparaison, l'antibiotique de référence, la ciprofloxacine, présente des zones d'inhibition nettement supérieures, comprises entre 29 et 37 mm pour les bactéries sensibles, confirmant la puissance des antibiotiques purifiés par rapport aux extraits bruts. À noter toutefois que *Klebsiella pneumoniae* présente une zone très faible (6 mm), traduisant une résistance importante à cet antibiotique dans les conditions expérimentales utilisées. Ces observations concordent avec les données de la littérature. **Barka et al. (2016)** ont montré que les espèces du genre *Streptomyces* présentent généralement une activité plus importante contre les bactéries à Gram positif que contre les bactéries à Gram négatif, en raison de l'absence de membrane externe chez les premières, alors que cette structure constitue une barrière limitant la pénétration des composés antimicrobiens chez les secondes. Cette tendance est confirmée dans la présente étude, où les inhibitions les plus élevées ont été enregistrées contre *Bacillus cereus*. Toutefois, les activités observées contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* et *Klebsiella pneumoniae* demeurent particulièrement intéressantes, ces bactéries étant connues pour leur plus grande résistance aux antimicrobiens naturels, ce qui suggère que les isolats I₁ et, surtout, I₃ produisent des métabolites à spectre d'action relativement large.

De même, **Balasubramanian et al. (2021)** ont rapporté des zones d'inhibition de 1₂ à 1₈ mm contre *Bacillus cereus* chez plusieurs isolats de *Streptomyces*, des valeurs proches de celles obtenues pour l'isolat I₃, tandis que les activités dirigées contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* étaient plus faibles, confirmant la plus grande résistance des bactéries à Gram négatif. Ces activités sont principalement attribuées à la production de polykétides, de peptides non ribosomiques, d'alcaloïdes et d'autres métabolites secondaires présentant un large spectre biologique.

Bien que les zones d'inhibition obtenues demeurent inférieures à celles de la ciprofloxacine (29 à 37 mm selon les souches), cette différence est attendue puisque les essais ont été réalisés à partir d'extraits bruts contenant un mélange complexe de molécules, dont la concentration en composés actifs reste relativement faible. **Ser et al. (2021)** ont d'ailleurs souligné que les extraits bruts d'actinobactéries marines présentent fréquemment une activité modérée, susceptible d'être significativement améliorée après purification et concentration des molécules bioactives.

Sur le plan fongique, une activité antifongique intéressante est observée (fig. 23). L'éconazole présente des zones d'inhibition comprises entre 23,03 et 30 mm, confirmant son efficacité antifongique. Les extraits d'actinobactéries montrent également une activité

antifongique notable, particulièrement l'isolat I₃ qui atteint 50 mm contre *Alternaria alternata* et 33 mm contre *Alternaria* sp., dépassant même dans ce cas l'éconazole. L'isolat I₁ présente également une activité significative, bien que plus modérée.

Ces résultats suggèrent que les métabolites produits par I₃ possèdent un spectre antifongique particulièrement large et puissant, probablement lié à une diversité plus importante de composés bioactifs ou à une concentration plus élevée en molécules actives. L'efficacité observée contre *Alternaria* sp. est particulièrement remarquable, ces champignons phytopathogènes étant souvent difficiles à contrôler.

Dans l'ensemble, ces observations confirment le potentiel biotechnologique prometteur des isolats étudiés, en particulier I₃, qui se distingue par une activité antimicrobienne globale supérieure. Ces résultats soutiennent l'intérêt de poursuivre les investigations vers la purification, la caractérisation chimique et l'identification des molécules responsables de cette activité.

Tableau 15. Résultats de la diffusion sur disque des extraits des isolats d'actinobactéries contre des souches pathogènes

Souches	Diamètre d'inhibition (mm)			
	I ₁	I ₃	Ciprofloxacine	Éconazole
<i>Bacillus cereus</i> ATCC10876	11	13,5	31	/
<i>Bacillus cereus</i> ATCC11778	9,5	13	29	/
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC13316	7	8	33	/
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	8	7,5	37	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC70603	8	10	6	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	8	9	32	/
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	9	9	29	/
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	8	10	/	23,03
<i>Alternaria alternata</i>	19	50	/	30
<i>Alternaria</i> sp	32	33	/	28

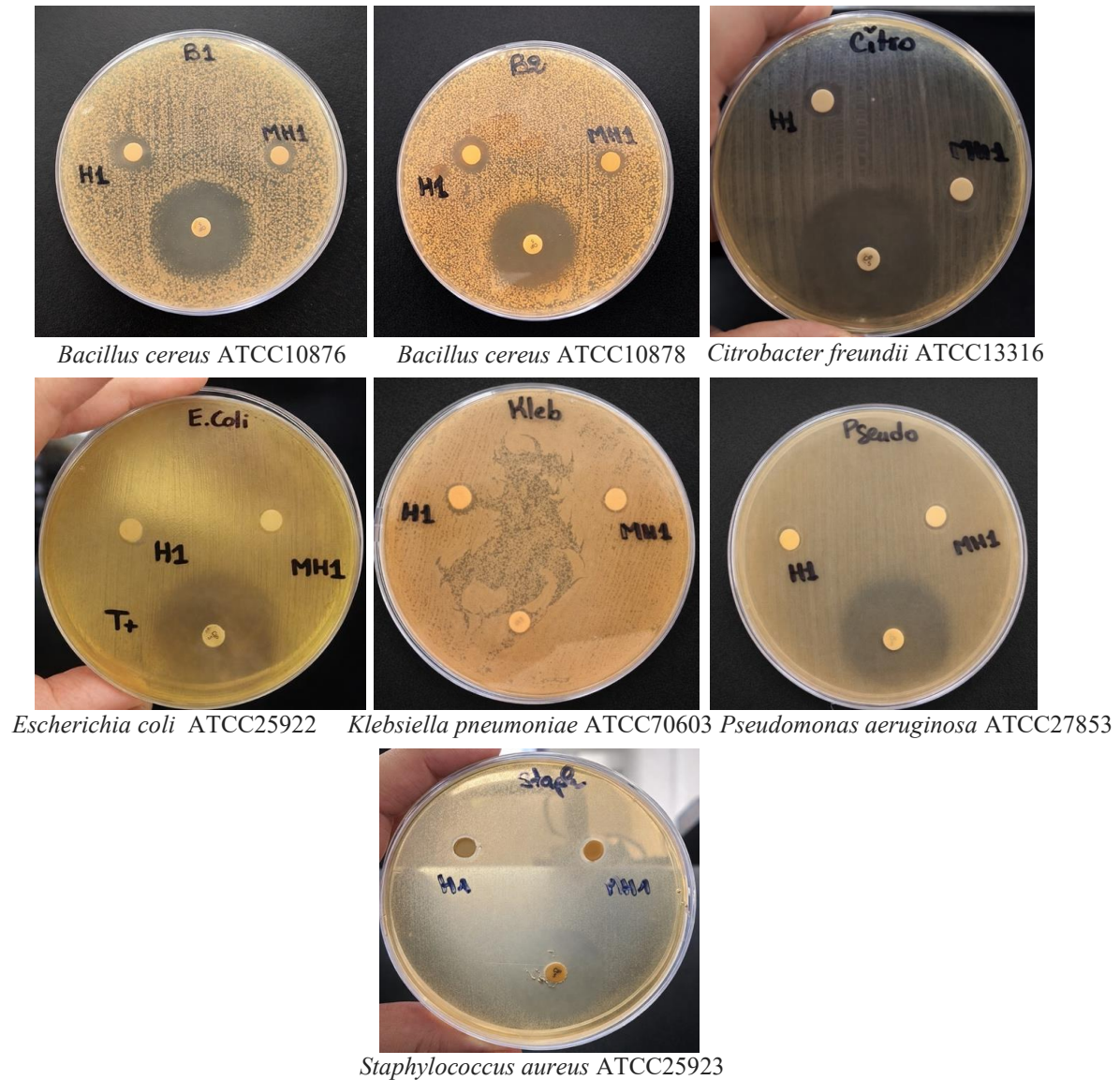


Figure 22. Activité antibactérienne des métabolites d'actinobactéries I₁ (MH₁) et I₃ (H₁)

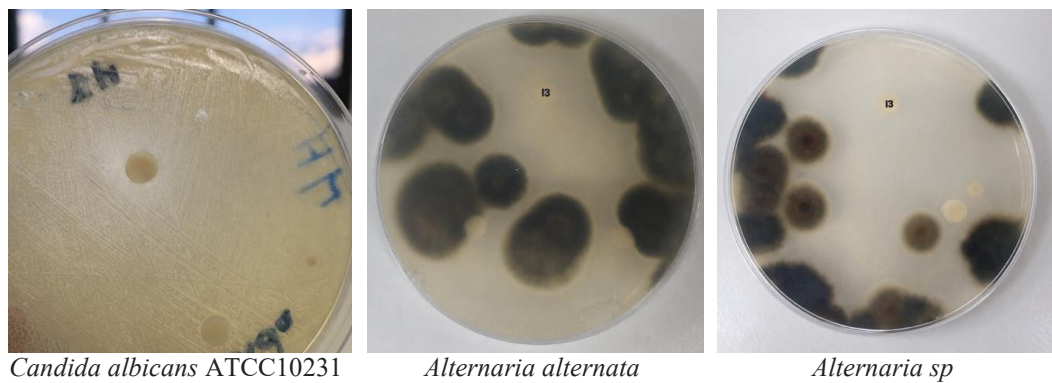


Figure 23. Activité antifongique des métabolites d'actinobactéries I₁ (MH₁) et I₃ (H₁)



Conclusion

Conclusion

Ce travail a permis d'explorer la diversité des actinobactéries marines isolées à partir d'algues et de sédiments collectés sur le littoral de Mostaganem, ainsi que d'évaluer leur potentiel biotechnologique. L'isolement a conduit à l'obtention de huit isolats d'actinobactéries, dont deux provenant d'algues et six de sédiments marins. L'étude des caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques a confirmé leur appartenance au groupe des actinobactéries et a permis leur rattachement aux genres *Streptomyces*, *Nocardiopsis*, *Microelllobosporia*, *Micromonospora* et *Streptosporangium*.

Les tests de tolérance à la salinité ont montré que l'ensemble des isolats était capable de croître à 3 % de NaCl, tandis que seule la souche I₃ a maintenu une croissance abondante à 10 % de NaCl, témoignant d'une meilleure adaptation aux conditions salines. Les résultats relatifs aux propriétés PGPR ont également révélé la présence de caractères favorables à la promotion de la croissance végétale, soulignant l'intérêt agronomique potentiel de ces isolats.

L'évaluation de l'activité antagoniste a montré que seuls les isolats I₁ et I₃ présentaient une activité inhibitrice vis-à-vis des souches de référence ATCC. Parmi eux, l'isolat I₃ s'est distingué par une inhibition totale de l'ensemble des souches testées lors du test d'antagonisme, démontrant un potentiel antimicrobien particulièrement élevé.

La fermentation sur milieu ISP-2 solide suivie de l'extraction des métabolites secondaires a permis d'obtenir des rendements de 0,0316 % pour l'isolat I₁ et de 0,0249 % pour l'isolat I₃. Bien que ce dernier présente un rendement légèrement inférieur, il a démontré la meilleure activité antifongique, notamment contre *Candida albicans*, *Alternaria alternata* et *Alternaria* sp., avec des zones d'inhibition variant de 10 à 50 mm. Par ailleurs, I₃ a également montré une activité antibactérienne vis-à-vis des souches à Gram positif et à Gram négatif testées, avec des diamètres d'inhibition compris entre 7,5 et 13,5 mm.

Ces résultats indiquent que l'efficacité biologique des extraits ne dépend pas uniquement du rendement d'extraction, mais plutôt de la nature, de la diversité et de la puissance des métabolites secondaires produits.

Dans l'ensemble, cette étude met en évidence le potentiel considérable des actinobactéries marines, en particulier des isolats appartenant au genre *Streptomyces*, comme source prometteuse de molécules bioactives. Les résultats obtenus confirment l'intérêt des environnements marins du littoral de Mostaganem pour la recherche de nouveaux microorganismes producteurs de composés d'intérêt pharmaceutique et biotechnologique.

À la lumière de ces résultats, des travaux complémentaires portant sur l'identification moléculaire des isolats, l'optimisation des conditions de fermentation, la purification des métabolites actifs et leur caractérisation chimique apparaissent nécessaires afin de mieux valoriser le potentiel biotechnologique des isolats les plus performants, notamment l'isolat I₃.



Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Ait Assou, S., et El Hassouni, M. (2025).** New Streptomyces-derived antibacterial compounds targeting Gram-positive bacteria: A systematic review. *The Scientific World Journal*. <https://doi.org/10.1155/tswj/6659874>
- Akpaka, P. E., Vaillant, A., Wilson, C., et Jayaratne, P. (2021).** Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) produced by Gram-negative bacteria in Trinidad and Tobago. *International Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1155/2021/5582755>
- Aljaafari, M. N., AlAli, A. O., Baqais, L., Alqubaisy, M., AlAli, M., Molouki, A., Ong-Abdullah, J., Abushelaibi, A., Lai, K.-S., et Lim, S.-H. E. (2021).** An overview of the potential therapeutic applications of essential oils. *Molecules*, 26, 628. <https://doi.org/10.3390/molecules26030628>
- Ankri, S., et Mirelman, D. (1999).** Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, 1(2), 125–129. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(99\)80003-3](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(99)80003-3)
- Arabi, A. (2018).** Effet antimicrobien des huiles essentielles de Pistacia lentiscus L. sur quelques espèces bactériennes multirésistantes de la microflore digestive humaine [Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem]. <https://e-biblio.univ-mosta.dz/items/de5064dc-7f09-4e9a-ba3a-69bccc98d97>
- Arasu, M. V., Duraipandiyan, V., Agastian, P., et Ignacimuthu, S. (2009).** In vitro antimicrobial activity of Streptomyces spp. ERI-3 isolated from Western Ghats rock soil (India). *Journal de Mycologie Médicale*, 19(1), 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2008.12.002>
- Arbefeville, S. S., Timbrook, T. T., et Garner, C. D. (2024).** Evolving strategies in microbe identification: biochemical, MALDI-TOF MS and molecular testing methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 79(Suppl 1), i2–i8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkae275>
- Arulprakasam, K. R., et Dharumadurai, D. (2021).** Genome mining of biosynthetic gene clusters intended for secondary metabolites conservation in actinobacteria. *Microbial Pathogenesis*, 161, 105252. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105252>
- Balloux, F., et van Dorp, L. (2017).** Q&A: What are pathogens, and what have they done to and for us? *BMC Biology*, 15, 91. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0433-z>
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H., Clément, C., Ouhdouch, Y., et van Wezel, G. P. (2016).** Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>
- Begani, J., Lakhani, J., et Harwani, D. (2018).** Current strategies to induce secondary metabolites from microbial biosynthetic cryptic gene clusters. *Annals of Microbiology*, 68, 419–432. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1351-1>
- Beichi, M., Saidani, F., Mechri, S., Jaouadi, B., El Hattab, M., et Badis, A. (2021).** Isolation and characterization of actinobacteria from two marine algae *Asparagopsis armata* and *Zonaria tournefortii* with biotechnological interest. *Revue Agrobiologia*, 11(2), 2600–2608. <https://asjp.cerist.dz/en/article/173032>
- Belabed, B. (2014).** Recherche des activités anti-pathogènes chez les espèces du genre Streptomyces isolées de différents biotopes [Mémoire de Magister, Université d'Es-Senia Oran]. <https://dspace.univ-oran1.dz/items/e7426f48-39d7-462a-92d6-6f9ab22feeae/full>
- Benkő, R., Gajdács, M., Matuz, M., Bodó, G., Lázár, A., Hajdú, E., Papfalvi, E., Hannauer, P., Erdélyi, P., et Pető, Z. (2020).** Prevalence and antibiotic resistance of ESKAPE pathogens isolated in the emergency department of a tertiary care teaching hospital in Hungary: a 5-year retrospective survey. *Antibiotics*, 9(9), 624. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090624>

Références Bibliographiques

- Bereanu, A. S., Bereanu, R., Mohor, C., Bi, V., Codru, I. R., Olteanu, C., et Sava, M. (2024).** Prevalence of infections and antibiotic resistance of ESKAPE group bacteria isolated from patients admitted to the intensive care unit of a county emergency hospital in Romania. *Antibiotics*, 13(5), 400. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13050400>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2024).** Antimicrobial resistance threats in the United States 2024. U.S. Department of Health and Human Services.
- Chinnathambi, A., Salmen, S. H., Al-Garadi, M. A., Wainwright, M., et Alharbi, S. A. (2023).** Marine actinomycetes: An endless source of potentially therapeutic novel secondary metabolites and other bioactive compounds. *Journal of King Saud University – Science*, 35, 102931. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.102931>
- Clatworthy, A. E., Pierson, E., et Hung, D. T. (2007).** Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. *Nature Chemical Biology*, 3(9), 541–548. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.24>
- Chun, S., Gopal, J., et Muthu, M. (2021).** Antioxidant activity of mushroom extracts/polysaccharides – their antiviral properties and plausible anti-COVID-19 properties. *Antioxidants*, 10, 1899. <https://doi.org/10.3390/antiox10121899>
- Davidova-Gerzova, L., Lausova, J., Sukkar, I., Nesporova, K., Nechutna, L., Vlkova, K., Chudejova, K., Krutova, M., Palkovicova, J., Kaspar, J., et Dolejska, M. (2023).** Hospital and community wastewater as a source of multidrug-resistant ESBL-producing *Escherichia coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1184081>
- Denissen, J., Reyneke, B., Waso-Reyneke, M., Havenga, B., Barnard, T., Khan, S., et Khan, W. (2022).** Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 244, 114006.
- Dickey, S. W., Cheung, G. Y. C., et Otto, M. (2017).** Different drugs for bad bugs: antivirulence strategies in the age of antibiotic resistance. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(7), 457–471. <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.23>
- El Othmany, R., Zahir, H., Ellouali, M., et Latrache, H. (2021).** Current understanding on adhesion and biofilm development in Actinobacteria. *International Journal of Microbiology*, 2021, 6637438. <https://doi.org/10.1155/2021/6637438>
- Elnahas, M. O., Elkhateeb, W. A., et Daba, G. M. (2021).** Marine actinomycetes: The past, the present and the future. *Open Access Journal of Pharmaceutical Research*, 5(2), 000241. <https://doi.org/10.23880/oajpr-16000241>
- Ferreira, M., Ogren, M., Dias, J. N. R., Silva, M., Gil, S., et Tavares, L. (2021).** Liposomes as antibiotic delivery systems: a promising nanotechnological strategy against antimicrobial resistance. *Molecules*, 26(7), 2047. <https://doi.org/10.3390/molecules26072047>
- Gajic, I., Kekic, D., Jankovic, M., Tomic, N., Skoric, M., Petrovic, M., Mitic Culafic, D., Opavski, N., Ristivojevic, P., Krstic Ristivojevic, M., et Lukovic, B. (2025).** Nature's arsenal: uncovering antibacterial agents against antimicrobial resistance. *Antibiotics*, 14(3), 253. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030253>
- García-Contreras, R. (2016).** Is quorum sensing interference a viable alternative to treat *Pseudomonas aeruginosa* infections? *Frontiers in Microbiology*, 7, 1454. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01454>
- Gerber, N. N., et Lechevalier, H. A. (1965).** Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from Actinomycetes. *Applied Microbiology*, 13(6), 935–938. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1058374/>

Références Bibliographiques

- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E., Suzuki, K., Ludwig, W., et Whitman, W. B. (2012).** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 5: The Actinobacteria. Springer.
- Guiry, M. D., et Guiry, G. M. (2026).** AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>
- Gunaratnam, S., Millette, M., McFarland, L. V., DuPont, H. L., et Lacroix, M. (2021).** Potential role of probiotics in reducing *Clostridioides difficile* virulence: interference with quorum sensing systems. *Microbial Pathogenesis*, 153, 104798. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104798>
- Gunjal, V. B., Thakare, R., Chopra, S., et Reddy, D. S. (2020).** Teixobactin: a paving stone toward a new class of antibiotics? *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(21), 12171–12195. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00173>
- Hamed, J., et Mohammadipanah, F. (2015).** Biotechnological application and taxonomical distribution of plant growth promoting actinobacteria. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 42(2), 157–171. <https://doi.org/10.1007/s10295-014-1537-x>
- Hamed, J., Poorinmohammad, N., et Wink, J. (2017).** The role of actinobacteria in biotechnology. In J. Wink, F. Mohammadipanah, & J. Hamed (Eds.), *Biology and biotechnology of actinobacteria* (pp. 269–328). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1_10
- Hassimi, M. S., Boukeskass, A., Adamou, I., Mayaki, Z. A., Ouhdouch, Y., et Hafidi, M. (2017).** Caractérisation des microorganismes thermotrophes impliqués dans la solubilisation du phosphate naturel marocain au cours de la biotransformation anaérobie du gazon. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(6), 2764–2777. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i6.17>
- Hungund, B. S., Desai, S. S., Kamath, K. C., et Tennalli, G. B. (2021).** Terrestrial ecology of Actinobacteria. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications (Rhizosphere Biology)*, pp. 39–54. Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_3
- Hutton, C. A., Southwood, T. J., et Turner, J. J. (2003).** Inhibitors of lysine biosynthesis as antibacterial agents. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 3(2), 115–127. <https://doi.org/10.2174/1389557033405359>
- Ibrahim, J. A. A., Botcha, S., et Prattipati, S. D. (2025).** Marine actinomycetes: A promising sources of therapeutic and pharmaceutical bioactive compounds. *The Microbe*, 7, 100383. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100383>
- Ibrahimi, M. (2020).** Extraction et caractérisation de nouveaux antibactériens produits par les actinobactéries prédatrices d'origine marine [Thèse de doctorat, Université de Poitiers et Université Cadi Ayyad]. HAL. <https://theses.hal.science/tel-03340984v1>
- Idris, H., Goodfellow, M., Sanderson, R., Asenjo, J. A., et Bull, A. T. (2017).** Actinobacterial rare biospheres and dark matter revealed in habitats of the Chilean Atacama Desert. *Scientific Reports*, 7, 8373. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5566421/>
- Jakobsen, T. H., van Gennip, M., Phipps, R. K., Shanmugham, M. S., Christensen, L. D., Alhede, M., Skindersoe, M. E., Rasmussen, T. B., Friedrich, K., Uthe, F., Jensen, P. Ø., Moser, C., Nielsen, K. F., Eberl, L., Larsen, T. O., Tanner, D. A., Høiby, N., Bjarnsholt, T., et Givskov, M. (2012).** Ajoene, a sulfur-rich molecule from garlic, inhibits quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(5), 2314–2325. <https://doi.org/10.1128/AAC.05919-11>
- Janik, E., Ceremuga, M., Niemcewicz, M., et Bijak, M. (2020).** Dangerous pathogens as a potential problem for public health. *Medicina*, 56(11), 591. <https://doi.org/10.3390/medicina56110591>

Références Bibliographiques

- Javed, Z., Tripathi, G. D., Mishra, M., et Dashora, K. (2021).** Actinomycetes – the microbial machinery for the organic-cycling, plant growth, and sustainable soil health. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101893. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101893>
- Jenssen, H., Hamill, P., et Hancock, R. E. W. (2006).** Peptide antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 491–511. <https://doi.org/10.1128/CMR.00056-05>
- Jhalora, V., et Bist, R. (2025).** A comprehensive review of molecular mechanisms leading to the emergence of multidrug resistance in bacteria. *Indian Journal of Microbiology*, 65(2), 844–865. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01384-6>
- Jog, R., Pandya, M., Nareshkumar, G., et Rajkumar, S. (2014).** Mechanism of PGPR-mediated plant growth promotion. *Applied Soil Ecology*, 86, 1–8.
- Kamat, S., Kumari, M., Taritla, S., et Jayabaskaran, C. (2020).** Endophytic fungi of marine alga from Konkan Coast, India—A rich source of bioactive material. *Frontiers in Marine Science*, 7, Article 31. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00031>
- Kamjam, M., Sivalingam, P., Deng, Z., et Hong, K. (2017).** Deep sea actinomycetes and their secondary metabolites. *Frontiers in Microbiology*, 8, 760. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00760>
- Kämpfer, P. (2006).** The family Streptomycetaceae, Part I: Taxonomy. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, & E. Stackebrandt (Eds.), *The Prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria* (3rd ed., Vol. 3, pp. 538–604). Springer. https://doi.org/10.1007/0-387-30743-5_22
- Kämpfer, P. (2015).** Actinobacteria: Basics and taxonomy. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118960608>
- Kasanga, M., Shempela, D. M., Daka, V., Mwikisa, M. J., Sikalima, J., Chanda, D., et Mudenda, S. (2024).** Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* isolated from clinical and environmental samples: findings and implications. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 6(2), dlac061. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlac061>
- Kekic, D., Gajic, I., Jankovic, M., Tomic, N., Skoric, M., Petrovic, M., Mitic Culafic, D., Opavski, N., Ristivojevic, P., Krstic Ristivojevic, M., et Lukovic, B. (2025).** Nature's arsenal: uncovering antibacterial agents against antimicrobial resistance. *Antibiotics*, 14(3), 253. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030253>
- Khan, A. U., Maryam, L., et Zarrilli, R. (2017).** Structure, genetics and worldwide spread of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. *BMC Microbiology*, 17, 101. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1012-8>
- Khasapane, N. G., Nkhebenyane, S. J., Lekota, K. E., Thekisoe, O., et Ramatla, T. (2025).** An insight into the antibiotic resistance profiles of ESKAPE pathogens isolated from humans in Africa: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, 25, 1730. <https://doi.org/10.1186/s12879-025-12109-5>
- Kitouni, M. (2007).** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes : Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées [Thèse de doctorat d'État, Université Mentouri Constantine]. <https://theses-algerie.com/1752004396698207/these-de-doctorat/universite-freres-mentouri-constantine-1/isolement-de-bacteries-actinomycetales-productrices-dantibiotiques-a-partir-decosytemes-extremes-identification-moleculaire-des-souches-actives-et-caracterisation-preliminaire-des-substances-elaborees>
- Kontro, M. H., et Yaradoddi, J. S. (2021).** Actinomycetes in environmental applications. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications* (Rhizosphere Biology, pp. 247–270). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_14

Références Bibliographiques

- Kontro, M. H., et Yaradoddi, J. S. (2021).** Microbial ecology. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications (Rhizosphere Biology)*, pp. 1–19). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_1
- Kontro, M. H., Yaradoddi, J. S., Banapurmath, N. R., Ganachari, S. V., et Hungund, B. S. (2021).** Biotechnological importance of actinomycetes. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications (Rhizosphere Biology)*, pp. 271–290). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_15
- Kontro, M. H., Yaradoddi, J. S., Ganachari, S. V., Banapurmath, N. R., et Umesh, M. K. (2021).** Actinomycetes in agriculture and forestry. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications (Rhizosphere Biology)*, pp. 213–232). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_12
- Kpoda, D. S., Tapsoba, F., Cisse, H., Ouedraogo, S., Traore, R., Traore, I., Soubeiga, A. P., Nikiema, M., Hien, Y. E., Zongo, C., et Savadogo, A. (2024).** Isolement d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de sols prélevés dans la ville de Ouagadougou, Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 18(1), 206–223. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v18i1.17>
- Lakhundi, S., et Zhang, K. (2018).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1128/cmr.00020-18>
- Law, G. L., Tisoncik-Go, J., Korth, M. J., et Katze, M. G. (2013).** Drug repurposing: a better approach for infectious disease drug discovery? *Current Opinion in Immunology*, 25(5), 588–592. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2013.08.004>
- Lewis, K. (2013).** Platforms for antibiotic discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12(5), 371–387. <https://doi.org/10.1038/nrd3975>
- Li, M., Liu, Y., Gong, Y., Yan, X., Wang, L., Zheng, W., Ai, H., et Zhao, Y. (2023).** Recent advances in nanoantibiotics against multidrug-resistant bacteria. *Nanoscale Advances*, 5(23), 6278–6317. <https://doi.org/10.1039/D3NA00530E>
- Ling, L. L., Schneider, T., Peoples, A. J., Spoering, A. L., Engels, I., Conlon, B. P., Mueller, A., Schäberle, T. F., Hughes, D. E., Epstein, S., Jones, M., Lazarides, L., Steadman, V. A., Cohen, D. R., Felix, C. R., Fetterman, K. A., Millett, W. P., Nitti, A. G., Zullo, A. M., Chen, C., et Lewis, K. (2015).** A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature*, 517(7535), 455–459. <https://doi.org/10.1038/nature14098>
- Liu, J., Xu, Z., Tan, Y., Gan, R.-Y., Qu, G., et Chen, D. (2023).** New insights in molecular mechanisms in antimicrobial resistance and strategies in anti-biofilms. *Antibiotics*, 12(4), 634. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040634>
- Liu, P., Lu, Y., Li, R., et Chen, X. (2023).** Use of probiotic *Lactobacilli* in the treatment of vaginal infections: in vitro and in vivo investigations. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1153894. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1153894>
- Liu, P., Patil, S., Liu, S., et Wen, F. (2023).** A growing battlefield in the war against biofilm-induced antimicrobial resistance: insights from reviews on antibiotic resistance. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1327069. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1327069>
- Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., et al. (2016).** Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 161–168.
- MacWilliams, M. P. (2009).** Citrate test protocol. American Society for Microbiology. <https://asm.org/protocols/citrate-test-protocol>

Références Bibliographiques

- Mallari, P., Rostami, L. D., Alanko, I., Howaili, F., Ran, M., Bansal, K. K., Rosenholm, J. M., et Salo-Ahen, O. M. H. (2025). The next frontier: unveiling novel approaches for combating multidrug-resistant bacteria. *Pharmaceutical Research*, 42(6), 859–889. <https://doi.org/10.1007/s11095-025-03871-x>
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K., et Kim, S.-K. (2014). Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiological Research*, 169(4), 262–278. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.014>
- Masadeh, M. M., Alzoubi, K. H., Masadeh, M. M., et Aburashed, Z. O. (2021). Metformin as a potential adjuvant antimicrobial agent against multidrug resistant bacteria. *Clinical Pharmacology : Advances and Applications*, 13, 83–90. <https://doi.org/10.2147/CPAA.S297903>
- Matzaras, R., Nikopoulou, A., Protonotariou, E., et Christaki, E. (2022). Gut microbiota modulation and prevention of dysbiosis as an alternative approach to antimicrobial resistance. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 95(4), 479–494. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9765331/>
- Mengstie, G. Y., Awlachew, Z. T., et Degefa, A. M. (2024). Screening of rhizobacteria for multi-trait plant growth-promoting ability and antagonism against *B. fabae*. *Heliyon*, 10, e25334. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25334>
- Ngamcharungchit, C., Chaimusik, N., Panbangred, W., Euanorasetr, J., et Intra, B. (2023). Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes. *Molecules*, 28(15), 5915. <https://doi.org/10.3390/molecules28155915>
- Nilsson, A. S. (2014). Phage therapy – constraints and possibilities. *Uppsala Journal of Medical Sciences*, 119(2), 192–198. <https://doi.org/10.3109/03009734.2014.902878>
- Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J. P., Woyke, T., Kyrpides, N. C., Pukall, R., Klenk, H.-P., Goodfellow, M., et Göker, M. (2018). Genome-based taxonomic classification of the phylum Actinobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2007. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02007>
- Oskay, M. (2024). Taxonomic characterization and secondary metabolite production of newly *Streptomyces* sp. MC12. *International Journal of Secondary Metabolite*, 11(4), 740–750. <https://doi.org/10.21448/ijsm.1481362>
- Pamer, E. G. (2016). Resurrecting the intestinal microbiota to combat antibiotic-resistant pathogens. *Science*, 352(6285), 535–538. <https://doi.org/10.1126/science.aad9382>
- Pardhi, D. M., Sen Karaman, D., Timonen, J., Wu, W., Zhang, Q., Satija, S., Mehta, M., Charbe, N., McCarron, P. A., Tambuwala, M. M., Bakshi, H. A., Negi, P., Aljabali, A. A., Dua, K., Chellappan, D. K., Behera, A., Pathak, K., Watharkar, R. B., Rautio, J., et Rosenholm, J. M. (2020). Anti-bacterial activity of inorganic nanomaterials and their antimicrobial peptide conjugates against resistant and non-resistant pathogens. *International Journal of Pharmaceutics*, 586, 119531. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119531>
- Paray, A. A., Singh, M., Mir, M. A., et Kaur, A. (2023). Gram staining: A brief review. *International Journal of Research and Review*, 10(9), 336–341. <https://doi.org/10.52403/ijrr.20230934>
- Prabhurajeshwar, Navya, H. M., Uppin, J., Patel, S. J., et Kelmani, C. (2022). Screening of novel metabolites from Actinobacteria. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications (Rhizosphere Biology)*, pp. 159–180. Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_9
- Ranjani, A., Dhanasekaran, D., et Gopinath, P. M. (2016). An introduction to Actinobacteria. In *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*. InTech. <https://doi.org/10.5772/62329>

Références Bibliographiques

- Sangeetha, J., Unnikrishnan, R., Jasmin, H., et Steffi, S. M. (2020). Isolation and morphological identification of culturable endophytic fungal species from mangrove ecosystem. *Applied Ecology and Environmental Sciences*, 8(3), 128–134. <https://doi.org/10.12691/aees-8-3-8>
- Sedjati, S., Ambariyanto, A., Trianto, A., Supriyanti, E., Ridlo, A., Bahry, M. S., Wismayanti, G., Radjasa, O. K., et McCauley, E. (2022). Antibacterial activity of the fungal metabolite *Trichoderma longibrachiatum* against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 15(1), 107–113. <https://doi.org/10.54319/jjbs/150114>
- Shreshtha, K., Prakash, A., Pandey, P. K., Pal, A. K., Singh, J., Tripathi, P., Mitra, D., Jaiswal, D. K., de los Santos-Villalobos, S., et Tripathi, V. (2025). Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria from cacti root under drought condition. *Current Research in Microbial Sciences*, 8, 100319. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100319>
- Smati, M., Bramki, A., Makhlof, F. Z., Djebaili, R., Farda, B., Abdelhadi, F. Z., Abdelli, N., Kitouni, M., et Pellegrini, M. (2025). Isolation of actinobacteria from date palm rhizosphere with enzymatic, antimicrobial, antioxidant, and protein denaturation inhibitory activities. *Biomolecules*, 15(1), 65. <https://doi.org/10.3390/biom15010065>
- Steel, K. J. (1961). The oxidase reaction as a taxonomic tool. *Journal of General Microbiology*, 25(3), 297–306. <https://doi.org/10.1099/00221287-25-2-297>
- Subramani, R., et Aalbersberg, W. (2012). Marine actinomycetes: an ongoing source of novel bioactive metabolites. *Microbiological Research*, 168(10), 571–580. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.06.005>
- Taoussi, M., Hamim, A., Radi, M., Legrifi, I., Krachi, S., Ibijbijen, J., Nassiri, L., et Lahlali, R. (2026). Strawberries native rhizobacteria as PGPR and biocontrol agents against root rot caused by *Pythium irregulare* in strawberry plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 141, 103035. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2025.103035>
- Temesgen, A. B., et Shiferaw, S. A. (2025). Antimicrobial multidrug resistance and mechanisms of action: An overview. *BioMed Research International*, 2025, Article 8847267. <https://doi.org/10.1155/bmri/8847267>
- Vashistha, A., Sharma, N., Nanaji, Y., et Singh, R. (2023). Quorum sensing inhibitors as therapeutics: bacterial biofilm inhibition. *Bioorganic Chemistry*, 136, 106551. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106551>
- Wang, Y., Wang, G., Zhao, Y., Wang, C., Chen, C., Ding, Y., Lin, J., You, J., Gao, S., et Pang, X. (2023). A deep learning model for predicting multidrug-resistant organism infection in critically ill patients. *Journal of Intensive Care*, 11, 49. <https://doi.org/10.1186/s40560-023-00695-y>
- Wang, Z., & Li, H. (2024). The tigecycline resistance mechanisms in Gram-negative bacilli. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1471469. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1471469>
- Wink, J., Mohammadipanah, F., et Hamed, J. (2017). *Biology and biotechnology of actinobacteria*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1>
- Wohlleben, W., Bera, A., Mast, Y., et Stegmann, E. (2017). Regulation of secondary metabolites of actinobacteria. In J. Wink, F. Mohammadipanah, & J. Hamed (Eds.), *Biology and biotechnology of actinobacteria* (pp. 181–232). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1_8
- Woolhouse, M., Ward, M., van Bunnik, B., et Farrar, J. (2015). Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 370, 20140083.
- World Health Organization (WHO). (2023). *Antimicrobial resistance*. World Health Organization, Geneva.

Références Bibliographiques

World Health Organization (WHO). (2024). WHO bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. WHO, Geneva.

Yaradoddi, J. S., Banapurmath, N. R., Kontro, M. H., Ganachari, S. V., Hallad, S., Soudagar, M. E. M., et Ramaswamy, V. (2021). Recent trends of actinomycetes in nanotechnology. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications* (Rhizosphere Biology, pp. 199–212). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_11

Yaradoddi, J. S., Kontro, M. H., Banapurmath, N. R., Ganachari, S. V., Sulochana, M. B., Hungund, B. S., Kazi, Z. K., Anilkumar, S. K., et Oli, A. (2021). Extremophilic Actinobacteria. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications* (Rhizosphere Biology, pp. 55–68). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_4

Yaradoddi, J. S., Kontro, M. H., Ganachari, S. V., Banapurmath, N. R., Oli, A., Katti, A. S., et Sulochana, M. B. (2021). Actinobacteria in marine environments. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications* (Rhizosphere Biology, pp. 21–38). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_2

Yaradoddi, J. S., Kontro, M. H., Ganachari, S. V., Banapurmath, N. R., Soudagar, M. E. M., et Divatar, M. (2021). Scope of Actinobacteria in bioengineering. In J. S. Yaradoddi, M. H. Kontro, & S. V. Ganachari (Eds.), *Actinobacteria: Ecology, diversity, classification and extensive applications* (Rhizosphere Biology, pp. 181–198). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3353-9_10

Yi, R., Shi, Y., Cao, X., Pan, C. (2025). Actinomycetes: Treasure trove for discovering novel antibiotic candidates. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 286, 117317. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.117317>

Yildiz, F. H. (2007). Processes controlling the transmission of bacterial pathogens in the environment. *Research in Microbiology*, 158(3), 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2006.12.005>

Zaitlin, B., Watson, S. B., Ridal, J., Satchwill, T., et Parkinson, D. (2003). Actinomycetes in Lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. *Journal – American Water Works Association*, 95(2), 113–118. <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.2003.tb10297.x>

Zhang, B., Wu, X., Tai, X., Sun, L., Wu, M., Zhang, W., Chen, X., Zhang, G., Chen, T., Liu, G., et Dyson, P. (2019). Variation in actinobacterial community composition and potential function in different soil ecosystems belonging to the arid Heihe River Basin of Northwest China. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2209. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02209>

Zhi, X.-Y., Li, W.-J., et Stackebrandt, E. (2009). An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 589–608. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65780-0>

Zipperer, A., Konnerth, M. C., Laux, C., et Berscheid, A., Janek, D., Weidenmaier, C., Burian, M., Schilling, N. A., Slavetinsky, C., Marschal, M., Willmann, M., Kalbacher, H., Schitteck, B., Brötz-Oesterhelt, H., Grond, S., Peschel, A., et Krismer, B. (2016). Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*, 535(7613), 511–516. <https://doi.org/10.1038/nature18634>

Zong, T. X., Silveira, A. P., Morais, J. A. V., Sampaio, M. C., Muehlmann, L. A., Zhang, J., Jiang, C.-S., et Liu, S.-K. (2022). Recent advances in antimicrobial nano-drug delivery systems. *Nanomaterials*, 12(11), 1855. <https://doi.org/10.3390/nano12111855>

Références Bibliographiques

Annexes





Peyssonnelia squamaria



Rugulopteryx sp.



Ulva compressa



Cystoseira sp. (A4)



Ulva lactuca (A5)



Ulva rigida (A6)



A7



Jania sp. (A8)



Cystoseira sp. (A9)



Cystoseira compressa (A10)



Dictyota sp. (A11)



Jania rubens (A12)

Figure I. Aspect macroscopique des échantillons d'algues marines utilisés pour l'isolement des actinobactéries.



Figure II. Echantillons de sédiments marins prélevés sur le littoral de Mostaganem.

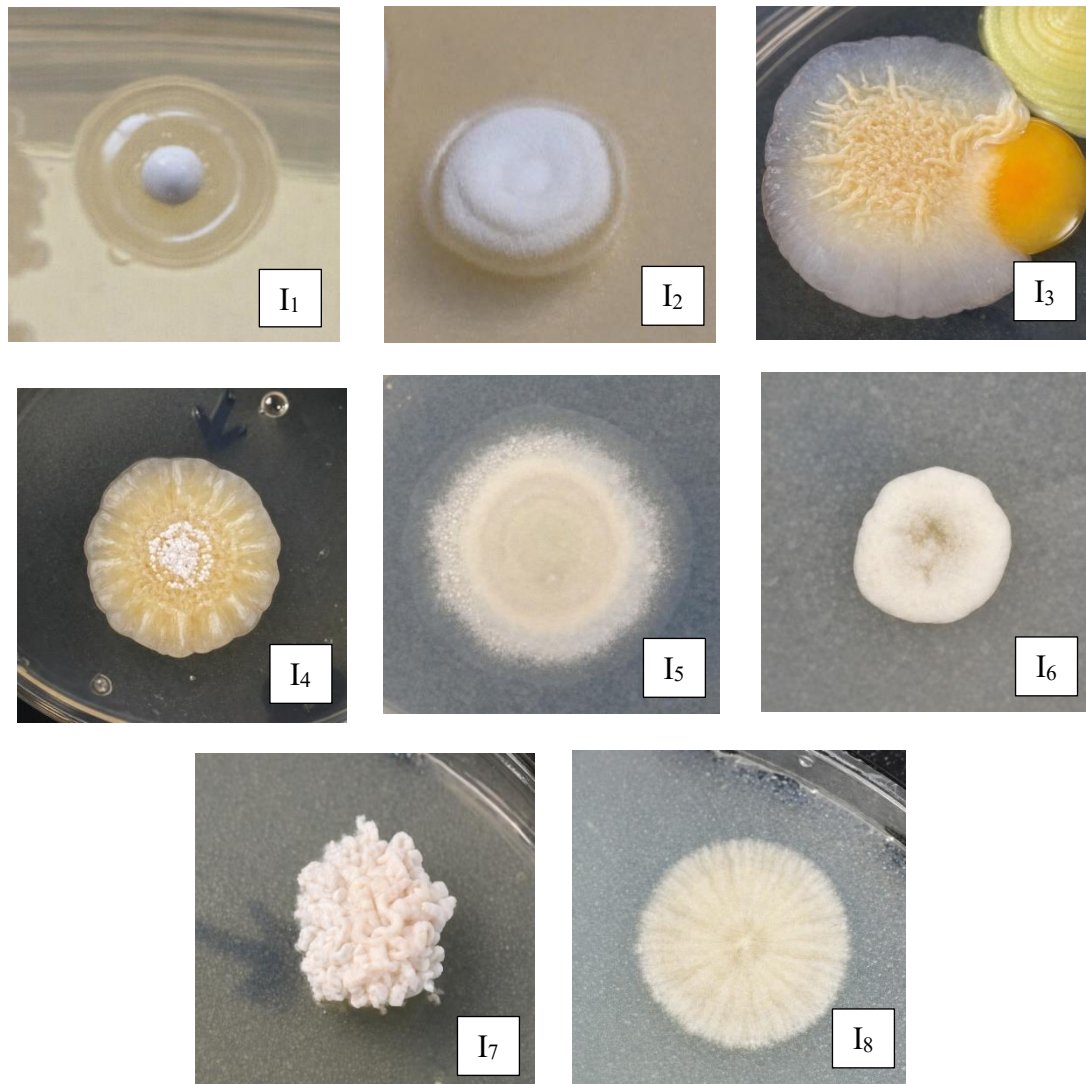


Figure III. Aspect macroscopique des première colonies d'actinobactéries marines obtenues lors de l'isolement.

Règne : Plantae

Embranchement : Rhodophyta

Classe : Florideophyceae

Ordre : Peyssonneliales

Famille : Peyssonneliaceae

Genre : *Peyssonnelia* (Dcaisne, 1841)

Espèce : *P. squamaria* (S.G.Gmelin) Dcaisne ex J.Agardh, 1842



NCBI ID :339596

Figure IV. Classification taxonomique de l'échantillon algal A₁.

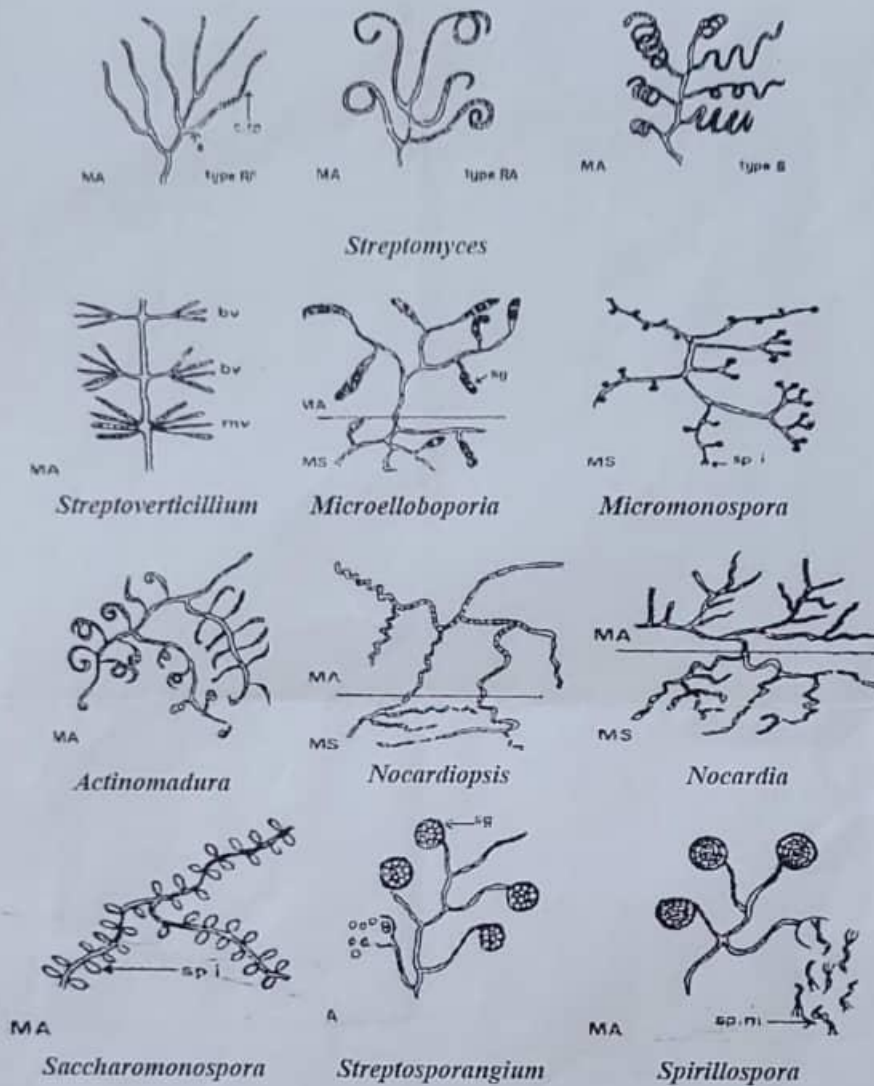
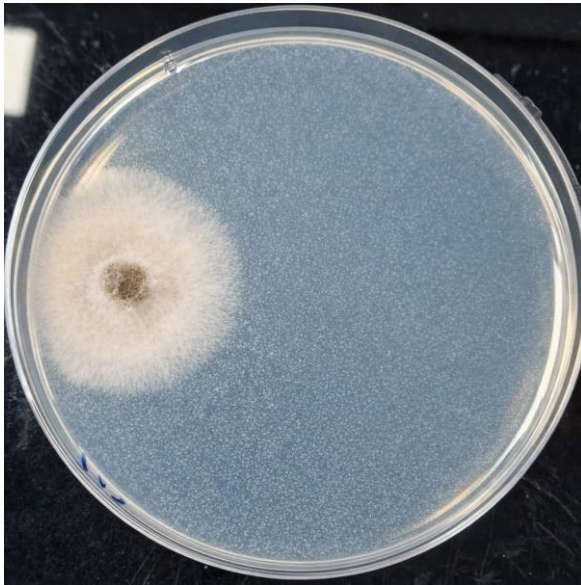
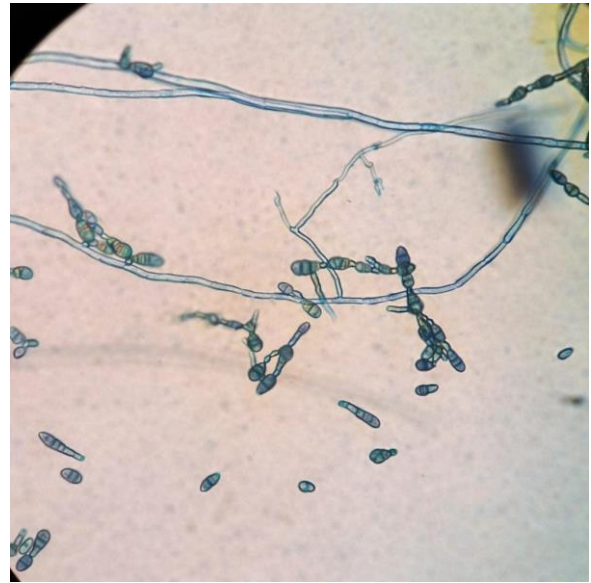
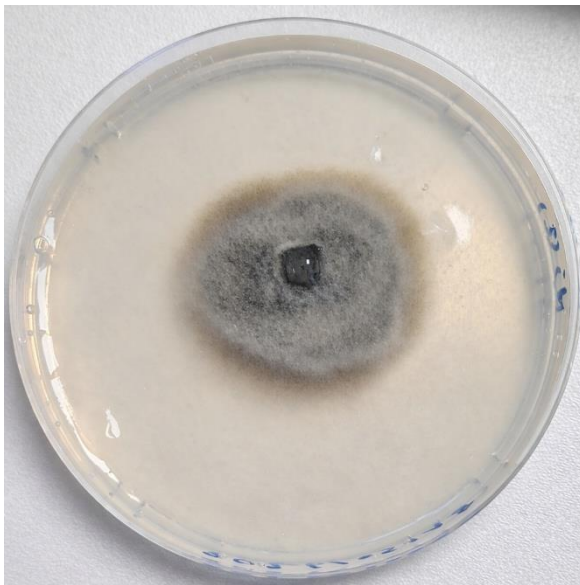


Figure 3. Micromorphologie des principaux genres d'actinomycètes: (rf) : Rectus flexibilis, (RA) : Retinaculum apertum, (S) : Spira, (MA) : Mycelium aérien, (MS) : Mycelium du substrat, (bv) : biverticillé, (mv) : monoverticillé, (s) : sporophore, (c.sp) : Chaîne de spore, (sp.i) : spores isolées, (sp.m) : spores mobiles, (sg) : sporange [Williams et al., 1983].

Figure V. Schéma de référence des caractères micromorphologiques utilisés pour l'identification présomptive des genres d'actinobactéries.



Alternaria alternata



Alternaria sp.

Figure VI. Aspect macroscopique et microscopique, au grossissement $\times 40$, des champignons phytopathogènes testés.

Référence	Description	
3563884	Trypto-Casein Soy Agar , prêt à l'emploi, 90 mm x 20 boîtes	3555944 Trypto-Casein Soy Agar , prêt à l'emploi, 8 ml x
25 tubes inclinés 3564554	Trypto-Casein Soy Agar , base déshydratée, 500 g	

Uniquement pour une utilisation en laboratoire.

Usage prévu

Pour la recherche des bactéries aérobies et anaérobies dans les produits alimentaires et les tests de stérilité ainsi que dans le cadre du contrôle de produits pharmaceutiques non stériles.

Principe

Les substances nutritives fournies par l'hydrolysate tryptique de caséine, la peptone de soja et le glucose en tant que source d'énergie favorisent le développement de la plupart des bactéries aérobies et anaérobies.

Formule théorique

Milieu de base

Tryptone	15 g
Peptone de soja	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1 000 ml
pH final à 25 °C = 7,3 ± 0,2	

Durée de conservation et stockage

Boîtes prêtes à l'emploi : 2-8 °C et milieu prêt à l'emploi en tubes : 2-25 °C jusqu'à la date d'expiration. Milieu déshydraté : 15-25 °C en emballage soigneusement scellé, dans un endroit froid et sec jusqu'à la date d'expiration.

Matériel requis non fourni

Liste non exhaustive.

Matériel

- Tout le matériel de laboratoire habituel
- Incubateurs ou salle d'incubation
- Balances
- Agitateur-homogénéisateur
- Agitateur-mélangeur vortex

Précautions

- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire (EN ISO 7218). Porter un équipement de protection approprié, par exemple des gants et une blouse de laboratoire, pour travailler avec des bactéries vivantes potentiellement infectieuses
- Les milieux qui sont entrés en contact avec des échantillons alimentaires doivent être considérés comme contaminés et doivent être éliminés conformément aux règles et réglementations locales
- Le temps écoulé entre la fin de la préparation de la solution mère (ou dilution 10⁻¹ dans le cas d'un produit solide) et le moment auquel les dilutions entrent en contact avec le milieu de culture ne doit pas excéder 15 min
- Ne pas agiter violemment le milieu régénéré afin d'éviter toute réoxygénation
- Pour obtenir les informations sur la sécurité du produit (fiche de données de sécurité, FDS) et le certificat d'analyse, visiter **bio-rad.com**

Milieu d'isolement et de Différenciation des Staphylocoques**1. APPLICATION**

La gélose Chapman - Mannitol Salt Agar est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celles qui ne le fermentent pas.

2. PRINCIPE

La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de chlorure de sodium qui inhibe la plupart des bactéries à Gram (+) et à Gram (-). La différenciation des Staphylocoques est basée sur leur capacité à fermenter ou non le mannitol. S'il y a fermentation, cela induit une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH).

3. PRESENTATION

- Milieu prêt à l'emploi
 - coffret de 20 boîtes de Petri (90 mm) **(MSA)** code 63844
- Milieu prêt à l'emploi (à répartir)
 - 6 flacons de 200 ml **(MSA)** code 53647
- Milieu déshydraté
 - flacon de 500 g code 64134

4. COMPOSITION THEORIQUE (en g/l d'eau distillée)

Le milieu Chapman - Mannitol Salt Agar est préparé selon la formule décrite par Chapman (1).

- Peptone 10
- Extrait de viande de bœuf 1
- Chlorure de sodium 75
- Mannitol 10
- Rouge de phénol 0.025
- Agar 15
- pH final : 7.4 ± 0.2

Préparation du milieu :

Homogénéiser la poudre contenue dans le flacon.

Mettre **111 grammes** de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée stérile. Mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes. Répartir en boîtes de Petri ou en flacons.

5. CONSERVATION

- Milieu prêt à l'emploi (Petri) : à + 2 - 20°C.
- Milieu prêt à l'emploi (tubes et flacon) : à + 2 - 8°C.
- Milieu déshydraté : flacon soigneusement fermé dans un endroit sec à +15-25°C. La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

6. UTILISATION**Matériel :**

- Matériel fourni : milieu Chapman – Mannitol Salt Agar

Ensemencement :

Ensemencer directement en stries à partir de l'échantillon à étudier. Pour la conservation des échantillons biologiques, se référer aux recommandations en vigueur (2).

Incubation :

Incuber pendant 24 à 48 heures à 37°C.

Lecture :

- Mannitol (+) : coloration **jaune** du milieu.
- Mannitol (-) : absence de coloration.

Les souches de *Staphylococcus aureus* élaborent leur propre pigment. Les colonies s'entourent en 24 à 48 heures d'une auréole **jaune** due à la fermentation du mannitol. Les souches de *Staphylococcus epidermidis* et autres *Micrococcaceae* donnent naissance à de petites colonies, qui, dans la majorité des cas, se développent sans modifier la teinte du milieu. Cependant, une minorité non négligeable de souches de *S. epidermidis* est capable de fermenter le mannitol.

7. PERFORMANCES / CONTRÔLE QUALITE DU TEST

- Aspect du milieu prêt à l'emploi : gélose limpide **rouge**.
- Aspect du milieu déshydraté : poudre **rosée**.
- Les performances culturelles du milieu de Chapman - Mannitol Salt Agar sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

SOUCHES	RESULTAT DE LA CULTURE EN 24-48 H à 37°C
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Colonies jaunes
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Colonies jaunes
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Colonies rosées
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	Inhibition partielle
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition

8. CONTRÔLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis. Chaque lot de produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation. La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée par le fabricant.

9. LIMITES D'UTILISATION

- Il est nécessaire de faire des tests complémentaires pour une identification d'espèce de la souche isolée.
- Les entérocoques et les streptocoques du groupe D peuvent se développer sur ce milieu et présenter une légère fermentation du mannitol. Cependant les colonies sont petites et peuvent facilement être différenciées des staphylocoques par coloration de Gram ou par le test de la catalase.

10. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. CHAPMAN, G.H., The significance of sodium chloride in studies of staphylococci, J. Bact. 1945. **50** : 201-203.
2. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva.1991. 1st edition.

**Bio-Rad**

3, boulevard Raymond Poincaré 92430
Marnes-la-Coquette France
Tel.: +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax: +33 (0) 1 47 41 91 33
www.bio-rad.com



05/2011

Citrate de Simmons/Gélose

356-1834
356-4834

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la différenciation des Bacilles Gram négatifs. Ce milieu contribue à la mise en évidence des caractères d'identification des Entérobactéries.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S) MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF ISO 10273 (Décembre 2003)**
Microbiologie - Directives générales pour la recherche des *Yersinia enterocolitica* présumées pathogènes (IC : V08-027).

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude de certains micro-organismes à pouvoir se développer avec le citrate comme seule source de carbone et d'énergie. La métabolisation du citrate est visualisée par le virage de l'indicateur coloré au bleu.

PRESENTATION

- Prêt à l'emploi
7 ml x 25 tubes

- Déshydraté
500 g

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : + 2 - 8 °C.
- Déshydraté : 15 - 25 °C,
flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.

• La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Citrate de sodium
Chlorure de sodium
Sulfate de magnésium anhydre
Dihydrogénophosphate d'ammonium
Monohydrogénophosphate de potassium 1 g Bleu de bromothymol
Agar
Eau distillée

pH (25°C) final = 6,8 ± 0,2

AUTRES PRODUITS NECESSAIRES NON FOURNIS (liste non exhaustive)

- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

(liste non exhaustive)

- Eau distillée
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Tubes à essais (16 x 160 mm) avec bouchons autoclavables
- Pipettes stériles (code 355-0751)
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire.

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 21 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Répartir à raison de 3 à 5 ml par tube et stériliser à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 20 minutes. Laisser refroidir en position inclinée.

Taux de reconstitution : 21 g/l.
500 grammes de poudre permettent de réaliser 23,8 litres de milieu.

PROTOCOLE

- **Ensemencement et incubation**
 - Ensemencer la pente du milieu au citrate en stries longitudinales et parallèles à l'aide d'une pipette, préalablement stérilisée à la flamme, à partir d'une citrate (-) colonie isolée prélevée sur gélose nutritive.

- Incuber à 30°C (pour *Yersinia enterocolitica*) ou 37 °C ± 1 °C pendant 24 heures.

- 5 g - En cas de réaction négative, ré-incuber encore 0.14 g 24 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

- 80 mg Lorsque le citrate est utilisé, le milieu vire au bleu.

12 g
1000 ml *Escherichia coli*

Yersinia enterocolitica
Citrobacter Enterobacter

} citrate (-) citrate (+)

Citrate de Simmons/Gélose

PRECAUTION D'EMPLOI

Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Utilisation du citrate après incubation de 1 à 7 jours à 37 °C
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	Négative
<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076	Positive
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Positive
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Négative
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	Négative

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un Système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Coliformes fécaux / *Escherichia coli* / Produits alimentaires / Recherche / Citrate / Test IMVIC / Bleu de Bromothymol.

MILIEU DE DIFFÉRENCIATION DES *PSEUDOMONAS*

1- APPLICATION

Le milieu de King A permet la détection de la synthèse de pyocyanine, pigment élaboré spécifiquement par *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique). Utilisé en parallèle avec le milieu de King B (détection de la pyoverdine), il permet d'orienter l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*.

2- PRINCIPE

La production de pyocyanine se manifeste en colorant le milieu de culture en **bleu**. Si les deux pigments – pyocyanine et pyoverdine – sont synthétisés en même temps, le milieu se colore en vert.

3- PRESENTATION

- Milieu prêt à l'emploi :
25 tubes de 7 ml

code 55274

4- COMPOSITION THEORIQUE (en g/l d'eau distillée)

Le milieu King A est préparé selon la formule théorique décrite par King, Ward et Raney (1).

Peptone	20
Agar purifié	12
K ₂ SO ₄ (anhydre)	10
MgCl ₂ (anhydre)	1,4

5- CONSERVATION

- Milieu prêt à l'emploi : à + 2 - 8°C.

La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

6- UTILISATION

Matériel :

- Matériel fourni : milieu King A

Ensemencement :

Ensemencer en faisant une strie médiane à la surface de la gélose avec une öse de culture pure et fraîche prise dans un bouillon ou sur un milieu gélosé. Remplacer la capsule sans la revisser.

Incubation :

Incuber pendant 24 à 48 heures à 30°C. Au-delà, l'incubation à l'étuve est inutile, mais il est possible de conserver les cultures à température ambiante (18-30°C).

Lecture :

Une synthèse de pyocyanine se traduit par une coloration **bleue**. Une synthèse de pyoverdine et de pyocyanine associée provoque une coloration verte. En cas de doute, il suffit de verser 0,5 ml de chloroforme et de le laisser pendant quelques minutes au contact de la gélose en position inclinée : la pyocyanine, très soluble dans le chloroforme, colore celui-ci en **bleu** (virage au rouge en ajoutant quelques gouttes d'un acide fort). Le milieu n'a pas besoin d'être examiné au-delà du 4^e jour de culture.

7- PERFORMANCES / CONTRÔLE QUALITE DU TEST

- Aspect du milieu prêt à l'emploi : gélose limpide **ambrée**.
- Les performances culturelles du milieu King A sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

SOUCHES	PIGMENTATION EN 24 - 48 H À 30°C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Bleue - verte
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Bleue - verte
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 17934	Bleue - verte
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CIP 69.13	Incolore

8- CONTRÔLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis. Chaque lot de produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation. La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée par le fabricant.

9- LIMITES D'UTILISATION

- La formation de colonies non pigmentées ne peut pas totalement éliminer la possibilité d'un *Pseudomonas aeruginosa*.
- Il est indispensable de procéder à partir de cultures pures et fraîches pour que les résultats puissent être interprétés.
- Il est nécessaire de faire des tests complémentaires pour une identification d'espèce précise.
- Du fait de leurs exigences nutritionnelles, certains micro-organismes peuvent ne pas se développer sur ce milieu.

10- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. KING E.O., WARD M. et RANEY D.E.J., J. Lab. Clin. Méd., 1954, 44, p. 301.

Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel.: +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax: +33 (0) 1 47 41 91 33



08/2009

MILIEU D'ISOLEMENT SELECTIF DES ENTEROBACTERIES**2014/04****1- APPLICATION**

Le milieu de Mac Conkey + Cristal Violet est utilisé pour isoler et dénombrer les Entérobactéries. Il est particulièrement adapté pour l'isolement des *Salmonella*, *Shigella* et *Escherichia coli* entéropathogènes.

2- PRINCIPE

La sélectivité du milieu est basée sur l'action conjuguée des sels biliaires (inhibition des bactéries non entériques) et du cristal violet (inhibition des cocci à Gram (+)).

La différenciation des Entérobactéries est basée sur leur capacité à fermenter ou non le lactose. S'il y a fermentation, cela induit une acidification qui se traduit par une coloration rouge des colonies.

3- PRESENTATION

- Milieu prêt à l'emploi
 - coffret de 20 boîtes de Petri (90 mm) (MCV) code 63617
- Milieu déshydraté
 - flacon de 500 g code 69084

4- COMPOSITION THEORIQUE (en g/l d'eau distillée)

Le milieu de Mac Conkey + Cristal Violet correspond au milieu	H de la Pharmacopée Européenne. (1)
Peptones bactériologiques	20
Sels biliaires	1,5
Chlorure de sodium	5
Lactose	10
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,001
Agar	13,5
pH final	7,1 ± 0,2

Préparation du milieu :

Homogénéiser la poudre contenue dans le flacon.

Mettre 51,5 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau fraîchement distillée. Faire bouillir jusqu'à dissolution complète.

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 50°C avant répartition en boîte de Petri ou en flacon.

5- CONSERVATION

- Milieu prêt à l'emploi : à + 2 - 8°C.
- Milieu déshydraté : flacon soigneusement fermé dans un endroit sec à +15-25°C. La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

6- UTILISATION**Matériel :**

- Matériel fourni : milieu Mac Conkey + Crystal Violet

Ensemencement :

Ensemencer en stries à partir de l'échantillon à étudier (urine ou suspension de selles).

Pour la recherche de *Salmonella* ou de *Shigella*, il est conseillé d'ensemencer en parallèle un milieu d'enrichissement. Pour la conservation des échantillons biologiques, se référer aux recommandations en vigueur (2).

Incubation :

Incuber pendant 24 heures à 37°C.

Lecture :

Les bactéries fermentant le lactose forment des colonies rouges briques entourées parfois d'un halo opaque de sels biliaries précipités. Les bactéries ne fermentant pas le lactose forment des colonies incolores.

7- PERFORMANCES / CONTROLE QUALITE DU TEST

- Aspect du milieu prêt à l'emploi : gélose limpide rouge-violette.
- Aspect du milieu déshydraté : poudre beige.
- Les performances culturelles du milieu Mac Conkey + Crystal Violet sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

SOUCHES	RÉSULTAT DE LA CULTURE EN 24 H à 37°C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Colonies roses à rouges
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Colonies roses à rouges
<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076	Colonies incolores
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibition
<i>Enterococcus faecium</i> CIP 5432	Inhibition

8- CONTRÔLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis. Chaque lot de produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation. La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée par le fabricant.

9- LIMITES D'UTILISATION

- Il est nécessaire de faire des tests complémentaires pour une identification d'espèce de la souche isolée.
- Du fait du caractère sélectif du milieu, certains bacilles entériques Gram (-) peuvent ne pas se développer. A l'inverse, certaines souches de bactéries à Gram (+) peuvent ne pas être totalement inhibées sur ce milieu.

10- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Pharmacopée Européenne.
2. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 2003. 2nd edition

**Bio-Rad**

3, boulevard Raymond Poincaré 92430
Marnes-la-Coquette - France Tel. : +33
(0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33
www.bio-rad.com



2014/04



Mueller-Hinton/Gélose

356-3824
356-3901 / 355-6137
356-4884 / 356-4888

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et également comme milieu de base pour la préparation d'une gélose au sang.

PRINCIPE

La croissance de la plupart des bactéries est favorisée par les substances nutritives apportées par l'infusion de viande de boeuf et l'hydrolysate acide de caséine.

PRESENTATION

- **Pré-coulé**
 - 20 boîtes x 90 mm **code 356-3824**
 - 10 boîtes x 120 mm **code 356-3901**
- **Prêt à l'emploi**
 - 200 ml x 6 flacons **code 355-6137**
- **Déshydraté**
 - 500 g **code 356-4884**
 - 5 kg **code 356-4888**

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Pré-coulé : + 2 - 20 °C.
- Prêt à l'emploi : à + 2 - 8 °C.
- Déshydraté : +15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Infusion de viande de boeuf déshydratée	4 g
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 7,3 ± 0,1	

AUTRE(S) MATERIEL(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI)

(liste non exhaustive)

- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 100 ml en Pyrex avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (Ø= 90 mm et 120 mm)
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 35 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Répartir en tubes ou flacons et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

Taux de reconstitution : 35 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 14,2 litres de milieu.

PROTOCOLE

Au moment de l'emploi, faire fondre le milieu au bain-marie bouillant et le couler en boîtes de Petri. L'épaisseur de la couche de gélose doit être de 4 mm. Sécher les boîtes 30 minutes à 37°C. Pour la technique et la lecture de l'antibiogramme, voir chapitre « Antibio-grammes ».

PRECAUTION D'EMPLOI

Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturelles sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24 h à 37 °C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Croissance correcte
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Croissance correcte
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Croissance correcte

Mueller-Hinton/Gélose

MICRO-ORGANISMES	Antibiogramme standardisé
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Diamètres d'inhibition conformes aux normes NCCLS
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Mueller - Hinton Gélose / Gélose au sang / Sensibilité / Antibiotiques / Antibiogrammes / Milieu

BIBLIOGRAPHIE

- **BAUER A.W. and al. (1966)** : Amer. J ; Clin. Path. 345, 493-496.
- **CHABBERT Y.A. (1966)** : L'antibiogramme, Edit de la Tourelle.
- **ERICSSON. (1960)** : Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12 (suppl.), 50, 1-55.
- **MUELLER J.H. and HINTON J. (1941)** : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48, 330-333.

Mossel (MYP) Agar

Catalog #	Description
3569604	Mossel (MYP) Agar , dehydrated, 500 g

For laboratory use only.

Intended Use

Medium used for the detection and isolation of *Bacillus cereus* group by colony count technique at 30° C in human food, animal feed and environmental samples.

Principle

The medium relies on the inability of *B. cereus* to ferment mannitol (pink colonies) and the on the manifestation of lecithinase. Due to the presence of Polymyxin B sulfate, the medium inhibits the growth of other bacteria.

Theoretical Composition

Base Medium

Peptone	10 g
Meat extract	1 g
Sodium chloride	10 g
Mannitol	10 g
Phenol red	25 mg
Polymyxin B sulfate	10 ⁵ UI
Agar	14 g
Distilled water	900 ml
Final pH at 25° C = 7.2 ± 0.2	

Shelf Life and Storage

Store dehydrated medium at 15-25° C in carefully sealed bottles in a cool, dry place.

Required Materials Not Supplied

This list is not exhaustive.

Equipment

- All usual laboratory equipment
- Incubators or incubation room
- Scales
- Stirrer/homogenizer
- Vortexer

Supplies

- Sterile egg-yolk solution
- 125 ml Pyrex bottles with autoclave proof stoppers
- Sterile petri dishes (Ø = 90 mm)
- Sterile pipettes (1 ml, etc)
- Sterile spreaders

Precautions

- Respect Good Laboratory Practice (EN ISO 7218). Appropriate protection, such as gloves and lab coats, should be worn when working with potentially infectious live bacteria
- Media that have come in contact with food samples should be considered contaminated and should be disposed of in accordance with local rules and regulations
- The time lapse between the end of preparation of the stock solution (or the 10^{-1} dilution in the case of a solid product) and the moment when the dilutions come into contact with the culture medium must not exceed 15 min
- Do not add the egg-yolk to a base medium at a temperature exceeding 47°C
- If the dishes contain numerous micro-organisms producing acid from mannitol, the pink color characteristic of *B. cereus* colonies may be attenuated or may disappear completely
- Certain strains of *B. cereus* produce little or no lecithinase. Colonies resulting from these strains will not be surrounded by a zone of precipitate. These colonies should also be subjected to confirmation tests
- For SDS product safety information and certificate of analysis, visit **bio-rad.com**

Quality Control

Every product manufactured and marketed by Bio-Rad is subject to a quality assurance procedure at all stages, from reception of raw materials through to marketing of the finished products. Each batch of finished product undergoes quality control according to EN ISO 11133 and is marketed only if it satisfies the acceptability criteria. Documentation relative to the production and quality control of each batch is kept on file.

Protocol

Dehydrated Medium Preparation

- Shake before use
- Dissolve 45 g of powder in 0.9 L of sterile distilled water. Mix until a homogeneous suspension is obtained
- Heat gently, agitating frequently, then bring to a boil until completely dissolved
- Dispense 90 ml per bottle and sterilize at $121 \pm 1^\circ\text{C}$ for 15 min
- Cool to 44–47°C and add 10 ml of a sterile 20% egg-yolk emulsion to the medium
- Homogenize and pour into petri dishes

Reconstitution ratio: 45 g/0.9 L (500 g of powder makes 10 L of medium)

Sample Preparation and Enrichment

- Prepare and enrich sample according to the standard method applicable to the product concerned

Inoculation and Incubation

- Spread 0.1 ml of sample onto the surface of a dried agar plate.
- Incubate at $30 \pm 1^\circ\text{C}$ for 18–24 hr.
- Agar can be incubated an additional 24 hr if colonies are not clearly visible

Reading and Interpretation

- Characteristic colonies are pink and are often surrounded by a zone of precipitate indicating production of lecithinase
- Calculate the results based on the number of presumptive *B. cereus* colonies on each dish

References

ISO 7932:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* - Colony count technique at 30°C.

Mossel, DAA., Koopman, MJ, and Jongerius, E (1967). Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. *Applied Microbiology* 15 (3): 650-653.

Pantaléon, J et al. (1970). Hygiene of animal products and of animal origin: Laboratory technique.

Produit :

**GÉLOSE DEXTROSEE A LA POMME DE
TERRE (PDA) (500 g)****Egalement nommé**

Gélose Potato Dextrose Agar, Gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre

Principe

Milieu pour la détection et le dénombrement des levures et des moisissures dans les aliments, les produits laitiers et autres échantillons, selon la Pharm. Harm.

Formule * en g/L

Peptone de pomme de terre.....4.0 (1)
Glucose 20.0
Agar 15.0

pH final 5.6 ±0.2 à 25 °C

(1) Équivalent à 200 g d'infusion de pommes de terre

*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

Préparation

Suspendre 39 g de poudre dans 1 L d'eau distillée et porter à ébullition. Répartir dans des récipients adaptés et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Ne surchauffez pas.

DescriptionLa gélose de dextrose de pomme de terre (PDA) est un milieu faiblement sélectif pour les champignons en raison de sa forte teneur en sucre et de son pH acide. La production de pigments et le développement du mycélium aérien sont améliorés par la Peptone de pomme de terre, en particulier chez les espèces *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium*.

La sélectivité peut être augmentée en ajoutant des antibiotiques tels que le chloramphénicol ou la tétracycline, ou en diminuant simplement le pH à un niveau acide. à pH 3,5, la croissance bactérienne est presque totalement inhibée sans effet significatif sur les champignons. Cette acidification peut être obtenue par l'addition aseptique d'une quantité adéquate d'acide organique au milieu après stérilisation: 10-15 mL / L d'une solution stérile à 10% d'acide tartrique ou lactique sont généralement suffisants.

Après son acidification, le milieu ne doit pas être surchauffé ou réchauffé car il peut hydrolyser la gélose provoquant une perte potentielle dans la propriété de solidification du milieu.

La formulation a été adoptée par la norme ISO 16212 qui recommande d'ajouter du chloramphénicol au milieu pour augmenter la sélectivité.

Utilisation

Répartir les échantillons dilués dans des boîtes de Pétri stériles. Verser de la gélose fondue refroidie à 45-50 °C dans les plaques et mélanger doucement pour homogénéiser le mélange. Après solidification, les plaques sont incubées pendant 5-7 jours à 20-25 °C pour permettre le développement complet des colonies fongiques.

Procéder selon la normative ou la méthodologie du laboratoire.

Contrôle qualité

20-25 °C

72 h -5 J

Température
d'incubation:Temps
d'incubation:

Sabouraud + Chloramphénicol + Gentamicine + Tétrazolum/Gélose

356-3734

son principe.

PRINCIPE

La base Sabouraud est riche et permet une croissance rapide des levures. Le mélange sélectif Gentamicine, Chloramphénicol évite les contaminations bactériennes susceptibles de gêner la lecture des colonies de levures.

La réduction plus ou moins prononcée du chlorure de triphenyltétrazolum permet de caractériser des morphotypes particuliers à certaines espèces de levures.

PRESENTATION

Prêt à l'emploi

• 20 boîtes x 90 mm

code 356-3734

FORMULE THEORIQUE

Peptone	10 g
Glucose	20 g
Cloramphénicol	0,5 g
Gentamicine	0,04 g
Tétrazolum	0,1 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25°C) final = $4,5 \pm 0,2$

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : à + 2 - 8 °C
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

PROTOCOLE

Ensemencement et incubation

Le milieu est directement ensemencé avec le prélèvement. L'isolement se fait par stries à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.

Incuber à 32 °C pendant 3 à 7 jours.

LECTURE ET INTERPRETATION

Dès que les colonies se sont bien développées (24 - 48 heures), noter le degré de réduction du Tétrazolum.



987. ISP2 MEDIUM

Yeast extract (Difco)	4.0	g
Malt extract (Difco)	10.0	g
Dextrose (Difco)	4.0	g
Agar	20.0	g
Distilled water	1000.0	ml
pH 7.2		



Technical Data

Pikovskaya's Broth (Medium), Granulated

GM1719

Pikovskaya's Broth, granulated is recommended for cultivation of phosphate solubilizing microorganisms.

Composition**

Ingredients	Gms / Litre
Yeast extract	0.500
Dextrose	10.000
Calcium phosphate	5.000
Ammonium sulphate	0.500
Potassium chloride	0.200
Magnesium sulphate	0.100
Manganese sulphate	0.0001
Ferrous sulphate	0.0001

**Formula adjusted, standardized to suit performance parameters

Directions

Suspend 16.3 grams in 1000 ml distilled water. Heat if necessary to dissolve the medium completely. Dispense into tubes or flasks or as desired. Sterilize by autoclaving at 15 lbs pressure (121°C) for 15 minutes.

Principle And Interpretation

Pikovskaya's Broth is a modification of Pikovskaya's agar medium originally modified by Sundara Rao and Sinha (1) for culturing phosphate solubilizing microorganisms. Both inorganic and organic phosphates exist in soil. Many naturally occurring soil fungi and bacteria are phosphate solubilizers and they play an important role in maintaining phosphorus balance of crop plants. This fact is exploited in culturing phosphate solubilizers which are able to solubilize bound phosphates. (2). Phosphate as calcium phosphate is present in the medium. Dextrose acts as energy source. Different salts and yeast extract supports the growth of organisms. The growth obtained in Pikovskaya's broth (GM1719) may be detected for phosphate solubilization by subculturing or spot inoculation on Pikovskaya's agar (M520). Phosphate solubilization is indicated as clearance around growth or colony.

Quality Control

Appearance

White to light yellow coloured granular medium.

Colour and Clarity of prepared medium

Whitish with flocculant precipitate opaque solution forms in tubes.

Cultural Response

Cultural characteristics observed after an incubation at 35-37°C for 48 hours (by spot inoculation on Pikovskaya's Agar).

Cultural Response

Organism	Growth	Phosphate solubilization*
Cultural Response # <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404 (00053*)	luxuriant	positive reaction, clear zone surrounding the colony
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 (00003*)	good	Moderate clear zone surrounding the colony

<i>Penicillium notatum</i> ATCC 10108	luxuriant	Positive reaction,clear zone surrounding the colony
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 (00025*)	luxuriant	Positive reaction,clear zone surrounding the colony

Key:- # Formerly known as *Aspergillus niger*

Key:- * Corresponding WDCM numbers

Storage and Shelf Life

On receipt store between 10 -30°C in tightly closed container and the prepared medium at 2 - 8°C. Use before expiry date on the label.

Reference

- 1.Sundara Rao W.V.B. and Sinha M.K., 1963, Ind. J., Agric. Sci., 33:272.
- 2.N.S. Subba Rao, 1977, 'Soil Microorganisms and Plant Growth', Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi.

Revision: 00/ 2018

Disclaimer :

User must ensure suitability of the product(s) in their application prior to use. Products conform solely to the information contained in this and other related HiMedia™ publications. The information contained in this publication is based on our research and development work and is to the best of our knowledge true and accurate. HiMedia™ Laboratories Pvt Ltd reserves the right to make changes to specifications and information related to the products at any time. Products are not intended for human or animal or therapeutic use but for laboratory, diagnostic, research or further manufacturing use only, unless otherwise specified. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for infringement of any patents.

HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. Reg.office : 23, Vadhani Ind.Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India. Customer care No.: 022-6116 9797 Corporate office : A-516,Swastik Disha Business Park,Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India. Customer care No.: 022-6147 1919 Email: techhelp@himedialabs.com Website: www.himedialabs.com