



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Ziane Achour -Djelfa
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du Diplôme de **Master** en Sciences Biologiques
Spécialité: **Microbiologie Appliquée**

Thème

ETUDE DE LA PRODUCTION D'ANTIBIOTIQUES CHEZ LES BACTERIES DU GROUPE ACTINOMYCETES.

Présenté par :

CHELIGHEM Sirine Oumbarka et CHEDDAD Ibtiham

Le Jury :

Président :	OUNISSI Mourad	(MCB)	Univ. Djelfa
Promoteur :	MOSTEFAOUI Abdallah	(MCB)	Univ. Djelfa
Examineur :	BERRABAH Fethi	(MCA)	Univ. Djelfa
Examineur:	BELAOUNI Hadj Ahmed	(MAA)	Univ. Djelfa

Année Universitaire: 2019/2020

Remerciements

Avant tous nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir aidé à surmonter toutes les difficultés lors de nos études.

Nous exprimons également nos remerciements à Monsieur: Mostefaoui d'avoir accepté d'être notre encadreur.

Nous tenons à remercier également, les membres de jury ; président et examen, d'avoir accepté l'examen de notre mémoire.

Nous adressons notre gratitude profonde à nos parents, nos frères et sœurs. Un grand remerciement à tous les enseignants qui nous' ont suivie durant notre formation, du primaire jusqu'au cycle universitaire, et à tous ceux qui nous' ont aidé à cueillir le savoir.

Résumé

Les antibiotiques peuvent être synthétiques, semi-synthétiques ou d'origine microbienne (champignons et bactéries). Les actinomycètes sont un groupe de bactéries mycéliennes, qui se reproduisent par des exo-spores qui ressemblent aux conidies des champignons. Ils sont largement fréquents dans la nature, on les trouve dans pratiquement tous les substrats naturels; l'air, l'eau et le sol, les plus abondants sont classés dans le genre *Streptomyces*.

La résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses justifient l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. Les peptides antimicrobiens sont des molécules clés dans la défense des organismes vivants face aux agressions extérieures et aux compétiteurs. A cet effet, les actinomycètes ont été étudiés et testés pour leur diversité physiologique, morphologique et métabolique.

Les actinomycètes sont connus comme la plus importante source d'antibiotiques d'origine microbienne. Deux tiers des antibiotiques utilisés sont obtenus à partir d'actinomycètes. Les ATB importants comprennent les anthra-cyclines, les amino-glycosides, les -lactames, les chloramphénicol, les macrolides, les tétracyclines, les nucléosides, les peptides et les polyéthers.

Mots clés: actinomycètes, antibiotiques, peptide antimicrobienne, diversité physiologique, morphologique et métabolique.

Abstract

Antibiotics can be synthetic, semi-synthetic or produced by microbes (fungi and bacteria). Actinomycetes are a group of mycelial bacteria, which reproduce by exo-spores that resemble the conidia of fungi. They are widely frequent in nature, they are found in practically all natural substrates; air, water and soil, the most abundant are classified in the genus *Streptomyces*.

Bacterial resistance to antibiotics and the emergence of new infectious diseases justifies the urgent need for new antimicrobial molecules. Antimicrobial peptides are key molecules in the defense against external aggression living and competing organisms. For this purpose, actinomies have been studied and tested for their physiological, morphological and metabolic diversity.

Actinomycetes are known to be the most important source of antibiotics of microbial origin. Two thirds of the antibiotics used are obtained from actinomycetes. Important ATBs include anthracyclins, amino glycosides, -lactams, chloramphenicol, macrolides, tetracyclines, nucleosides, peptides, and polyethers.

Key words: Actinomycetes, antibiotics, Antimicrobial peptides, metabolic diversity, physiological, morphological,

ملخص

يمكن ان تكون المضادات الحيوية مصنعة او شبه مصنعة ذات اصل ميكروبي الفطريات و البكتيريا الاكتينومييسات هي مجموعة من البكتيريا الهيفية التي تتكاثر عن طريق الابواغ الخارجية التي تشبه كونيديا الفطريات وهي متواجدة على نطاق واسع في الطبيعة و توجد في جميع البيئات الهواء و الماء و التربة وتصنف الابواغ السائدة منها في جنس *Streptomyces*

التطور المستمر لمقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية و ظهور الامراض المعدية جديدة تبرز الحاجة الملحة للحصول على جزيئات جديدة مضادة للميكروبات. البيبتيدات المضادة للميكروبات هي عبارة عن جزيئات اساسية في دفاع الكائنات الحية ضد العدوان الخارجي و الكائنات الحية المتنافسة. من اجل هذا الهدف تمت دراسة الاكتينومييسات و اختبار تنوعها الفيزيولوجي و المورفولوجي و الايضي

من المعروف ان الاكتينومييسات من اهم مصدر للمضادات الحيوية ذات اصل جرثومي ثلثي المضادات الحيوية المستخدمة يتم الحصول عليها من الاكتينومييسات اهم المضادات الحيوية هي : *macrolides* و *chloramphenicols* و *-lactams* و *tetracycline* و *nucleosides* و *peptides* و *Anthracyclins* . *polyethers* . *amino glycosides*

الكلمات المفتاحية : الاكتينومييسات الجزيئات النشطة التنوع الفيزيولوجي الايضي . المورفولوجي. البيبتيدات المضادة.

Sommaire

Remerciements	1
Résumé	2
Liste des abréviations	4
Liste des figures	5
Liste des tableaux	5
Introduction	7
Chapitre I : Les Actinomycètes	
1. Historique	9
2. Caractéristiques générales du groupe	9
3. Morphologie	10
3.1. Composition de la paroi cellulaire	10
3.2. Morphologie des spores	10
4. Physiologie	12
4.1. Conditions de croissance	13
4.2. Métabolisme	13
5. Classification	13
Classification phénotypique	14
Classification moléculaire	14
6. Ecologie	15
7. Méthodes d'isolement	15
8. Importance technologique	16
Chapitre II : Les Antibiotiques	
1. Historique	19
2. Définition	19
3. Origine	19
4. Classification des ATB	20
4.1- Classification selon le mode d'action	20
4.2- Classification chimique	21
5. La résistance aux antibiotiques	22
5.1- Mécanismes de résistances	22
6. Facteurs influençant la production d'ATB	23
7. Extraction et caractérisation d'ATB	24
Références bibliographiques	26

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARNr 16S : acide ribonucléique ribosomal 16S.

ARNr : acide ribonucléique ribosomal

ARNt : Acide ribonucléique de
transfert

ATB : Antibiotique

GC : Guanine - Cytosine.

C° : degré Celsius.

% : pourcentage.

G+C% : coefficient de Chargaff

NaCl : chlorure de sodium.

pH : Potentiel Hydrogène.

Qnr : pour *quinolone resistance*.

Mpb :milliers paire de base

Liste des tableaux

Tableau 1: Types de paroi chez les actinomycètes.....	11
Tableau 2: Agents sélectifs d'actinomycètes	16
Tableau 3: L'habitat de certains actinomycètes	18
Tableau 4: Les groupes producteurs d'antibiotiques.....	20
Tableau 5: Classification chimique des antibiotiques.....	21

Liste de figures

Figure 1: Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes.	10
Figure 2: Types de spores produites par des actinomycètes.	11
Figure 3: Cycle de vie d'un streptomyces.....	12
Figure 4: Classification phylogénétique d'actinomycètes	14
Figure 5: Modes d'action des antibiotiques.....	20
Figure 6: Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	23

INTRODUCTION

Introduction

Les microorganismes apportent de nombreux avantages à la société, ils sont nécessaires à la production du pain, de divers produits laitiers, d'enzymes, de vaccins et d'antibiotiques. La microbiologie représente l'un des outils fondamentaux de la biotechnologie moderne. Les microorganismes sont des acteurs indispensables de notre environnement, ils interviennent dans les cycles biologiques des éléments ; le carbone, l'oxygène, l'azote et du soufre. Parmi ces microorganismes, les bactéries occupent une place primordiale. Elles semblent être d'excellents candidats pour la production de substances à intérêt technologique. (Prescott *et al*, 2003).

Les actinobactéries (bactéries mycéliennes) ont été considérés comme un groupe de microorganismes distinct occupant une position intermédiaire entre les moisissures et les bactéries. Ils sont utilisés dans de nombreux processus biotechnologiques pour la production de diverses molécules bioactives comme les antibiotiques. Le genre *Streptomyces* est le plus dominant avec plus d'une centaine d'espèces. Les principaux antibiotiques sécrétés par les actinobactéries sont : la streptomycine, la néomycine, le chloramphénicol et les tétracyclines. (Waksman, 1959 ; Collins, 1995 ; Stuart, 2005).

Notre objectif principal dans cette présente synthèse est de réaliser une étude bibliographique qui couvre les principaux volets de notre thème; les bactéries du groupe Actinomycètes, et la production des antibiotiques. Ce document est structuré en deux chapitres : le premier est intitulé ; Les Actinobactéries, le second est réservé aux Antibiotiques.

Chapitre I

LES ACTINOMYCETES

Chapitre 1 : Les actinomycètes

1- Historique

Le mot actinobactéries provient de substantifs grecs et signifie champignons rayonnants. L'histoire des actinomycètes tourne autour de leur rôle comme agents causaux des maladies (1875-1900) en particulier une maladie chez les bovins connus sous le nom ; actinomycose. Deux décennies après avec les travaux de KRAINSKY et WAKSMAN (1900-1919), et avec les travaux Krainsky ,Conn et Waksman , l'intérêt pour les actinomycètes était principalement concerné par leurs présence dans le sol et leurs environnement. 1919-1940 c'est la période biologique des actinobactéries ou il ya des connaissances intensives accumulées concernant les propriétés de culture , physiologie , activités biochimiques des actinobactéries. (SELMAN A. WAKSMAN, 1959).

2- Caractéristiques générales du groupe

Les actinobactéries sont un groupe de bactéries mycéliennes, qui se reproduisent par des exo-spores qui ressemblent aux conidies des champignons. Ils sont étroitement liés aux eubactéries, ils sont considérés comme bactéries filamenteuses ou mycéliennes. D'habitude ils forment deux types de mycélium ; un mycélium de substrat (végétatif) et un mycélium aérien (sporogène). En générale, la plupart des actinomycètes ne sont pas mobiles, et la mobilité est particulièrement limitée aux spores flagellées exclusivement (ASHUTOSH, 2008). Souvent, les actinomycètes ont été considérés comme un groupe de microorganismes distinct occupant une position entre les champignons filamenteux et les eubactéries (WAKSMAN, 1959).

Les actinobactéries sont des bactéries à Gram positif, aérobie avec une teneur élevée en nucléotides G.C. (> 55%) et jouent un rôle dans la biotechnologie grâce a leur pouvoir de produire des métabolites intéressant tell que les antibiotiques . Leur génome a une taille d'environ 8.7mPb presque deux fois plus grand que celui d'*Escherichia coli*. Le genre d'actinomycètes le plus connu est le *Streptomyces* qui contient environ 500 espèces (STUART, 2005).

3- Morphologie et structure

La colonie d'actinobactérie est souvent composée de deux types de mycélium: Le mycélium primaire ou du substrat, et le mycélium secondaire ou aérien. Les deux mycéliums montrent différents aspects, le mycélium du substrat se développe dans le milieu (intra gélose), alors que le mycélium aérien se développe à la surface. La couleur des colonies peut être blanchâtre, crème, jaune, rouge, rose, orange, verte ou marron. La taille des filaments (hyphes) diffère considérablement selon l'espèce, certains sont droits et longs, atteignant 600 μm ou plus ; d'autres ne mesurent que 50 à 100 μm . Le diamètre du mycélium végétatif mesure 0,2 à 0,8 μm et le mycélium aérien de 1 à 1,4 μm . Certains actinomycètes ne possèdent que le mycélium végétatif (du substrat), tandis que la majorité d'espèces produisent les deux types. (WAKSMAN, 1950).

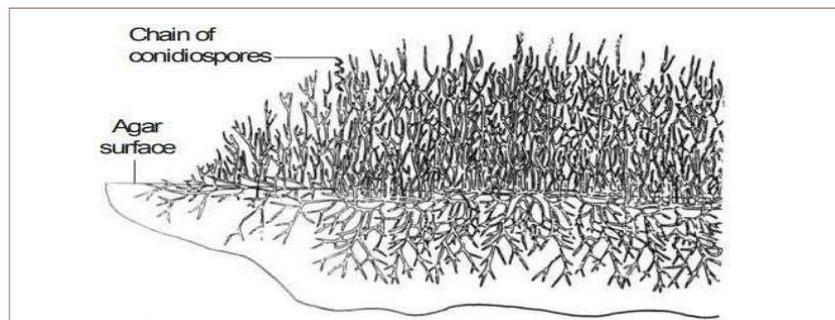


Figure 1 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes (ASHUTOSH, 2008).

3.1- Composition de la paroi cellulaire

La composition de la paroi des actinobactéries, a une importance taxonomique considérable. On peut distinguer 4 types principaux de paroi sur la base de 3 caractéristiques du peptidoglycane: l'acide aminé en position 3 des térapeptides, la présence de glycine dans les ponts inter-peptidiques et le contenu en sucres de peptidoglycane (Tableau 1). Les extraits cellulaires des actinobactéries d'une paroi des types I, II et IV contiennent également des sucres caractéristiques, utiles pour l'identification (PRESCOTT *et al*, 2003).

3.2- Morphologie des spores

Les spores sont extrêmement importantes dans la taxonomie des Actinobactéries (Locci & Sharples, 1984). Dans les genres *Micromonospora*, *Micropolyspora* et *Thermoactinomyces*, la formation de spores se fait directement sur le mycélium du substrat,

alors que chez *Streptomyces* les spores se forment à partir du mycélium aérien. Les *Actinoplanes* sont caractérisés par des spores mobiles, tandis que les *Thermoactinomyces* ont des endospores uniques résistantes à la chaleur. (CROSS & GOODFELLOW, 1973). Quelques autres genres ont des sclérotés, des vésicules contenant des spores (*Frankia*) ou des vésicules dépourvues de spores (*Intrasporangium*). La morphologie des spores peut être utilisée pour caractériser les espèces, ils peuvent avoir des formes lisses, épineuses ou rugueuses (figure 2), (DIETZ & MATTHEWS, 1971).

Tableau 1 : Types de paroi chez les actinomycètes (PRESCOTT *et al*, 2003).

Genres d'actinomycètes	Sucres caractéristiques	Présence de glycine	L'isomère DAP	Type de paroi
<i>Nocardioïdes</i> <i>Streptomyces</i>	NA	+	L, L	I
<i>Micromonospora</i> , <i>Pilimella</i> <i>Actinoplanes</i>	Arabinose, xylose	+	Méso	II
<i>Actinomadura</i> <i>Frankia</i>	Madurose	-	Méso	III
<i>Sacharomonospora</i> <i>Nokardia</i>	Arabinose galactose	-	Méso	IV

Note : DAP (l'acide diaminopimélique).

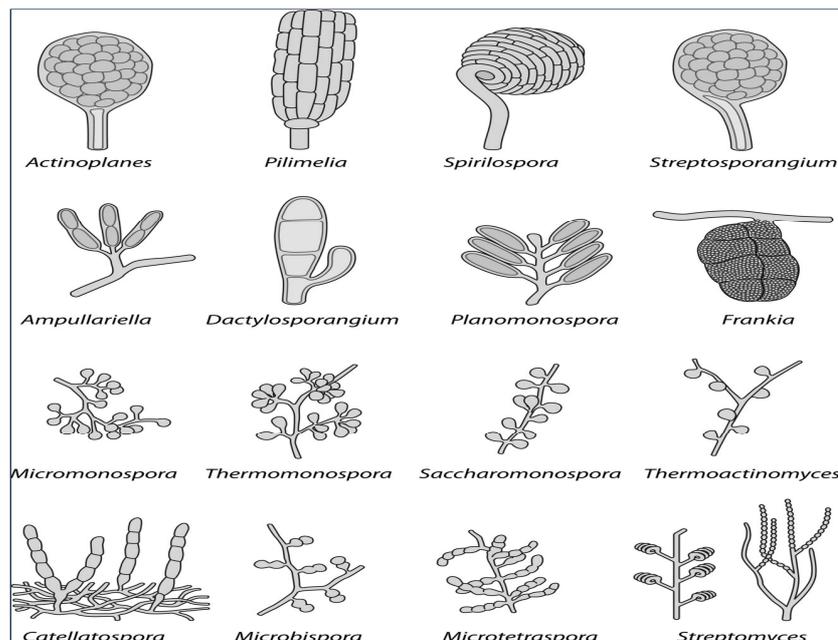


Figure 2 : Types de spores produites par des actinomycètes (BARAKA *et al*, 2016).

4- Physiologie

Les actinobactéries jouent un rôle important dans le sol en raison de leurs capacité de récupérer les nutriments et d'hydrolyser une large gamme de polysaccharides (cellulose, chitine et agar) et autres macromolécules naturelles (CHATER *et al*, 2010). Le cycle de vie des actinobactéries commence par la germination d'une spore qui se développe pour former des hyphes, puis un mycélium à ramification complexe (CHATER, 1972). La division cellulaire pendant la croissance végétative conduit à la formation des parois transversales qui séparent les hyphes en compartiments connectés (WILDERMUTH & HOPWOOD, 1970).

Dans des conditions défavorables, comme l'épuisement nutritif, le mycélium peut former des structures sporogènes appelés hyphes aériens (BIBB MERVYN, 2005). Dans ces conditions le mycélium du substrat est dégradé pour acquérir les éléments de base nécessaires à une deuxième masse de mycélium aérien (MENDEZ *et al*, 1985; WILDERMUTH, 1970). L'accumulation des lipides, des nucléotides, de acides et sucres aminés, attirent les concurrents des microorganismes mobiles dans le milieu; à ce moment l'actinomycète est amené à produire des antibiotiques pour protéger ces nutriments (Figure 4), (RIGALI *et al*, 2006; 2008).

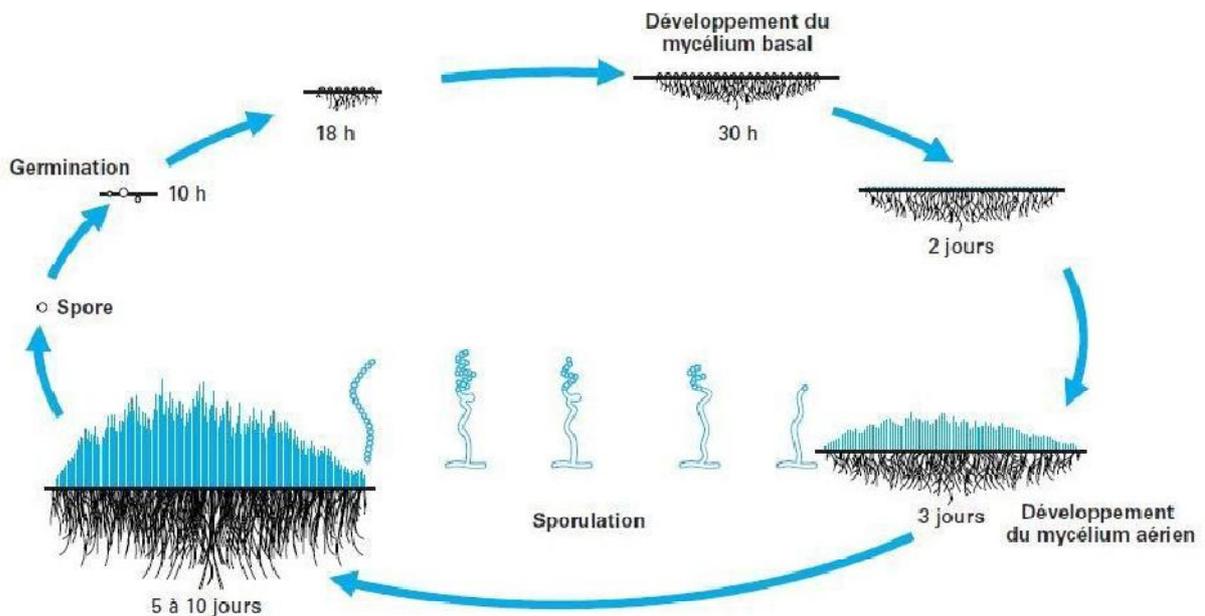


Figure :3 Cycle de vie des *Streptomyces* (SCHERR ET NGUYEN, 2009 ; DELAUNAY *et al.*, 2003)

4.1- Conditions de croissance

La croissance des actinobactéries exige certaines conditions de température et de pH: la plupart des actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles. Leur croissance est optimale à un pH voisin du neutre (7 et 8), ils peuvent tolérer un pH acide inférieur à 4 (MCKINNEY, 2004). Cependant, il existe quelques espèces qui sont isolés d'un sol salé résistant un pH de 9,5. La majorité des actinobactéries se comportent comme des mésophiles, avec une température de croissance optimale de 25 à 30°C (ATTWELL & COLWELL, 1984).

Les actinobactéries varient considérablement dans leurs exigences nutritionnels, Certains exigent des composés très simples, tandis que d'autres poussent uniquement sur des matières organiques complexes de haute qualité. De plus, le même germe peut être capable de s'adapter à une grande variété de nutriments. Dans les conditions naturelles, les actinomycètes utilisent une grande variété de composés organiques comme une source de carbone: acides organiques, sucres, amidon, hémicellulose, cellulose, protéines, polypeptides et acides aminés. Les actinomycètes préfèrent les protéines avant les glucides, ils utilisent les protéines non seulement comme source d'azote mais aussi comme une source de Carbone (WAKSMAN, 1950).

4.2- Métabolisme

Les actinomycètes sont de nature hétérotrophe. La plupart d'entre eux sont des saprophytes stricts, tandis que certains sont issus d'associations parasitaires avec des plantes et des animaux (AYAKKANU & CHANDRAMOHAN, 1971).

Nous utilisons le terme métabolisme pour désigner la somme des réactions chimiques qui se déroulent dans un organisme vivant, puisqu'il y a soit libération, soit absorption d'énergie lors de ces réactions, on peut considérer le métabolisme comme un processus visant le maintien de l'équilibre énergétique (TORTORA ET AL ; 2003). En général, les actinobactéries sont des bactéries chimioorganotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les biopolymères complexe (chitine, cellulose, lignine) . Mais, plusieurs espèces sont capables aussi d'une croissance chimio-autotrophe utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (MARIAT ET SEBALD, 1990).

Les actinomycètes ont des métabolites primaires qui s'impliquent dans l'activité biologique et la formation structurelle de la cellule et des métabolites secondaires qui ont des activités biologiques très diverses telles que les antibiotiques (THEILLEUX, 1993).

5- Classification

Les actinobactéries représentent l'un des plus grands groupes taxonomiques parmi les 18 lignées majeures actuellement reconnues au sein des Bactéries, y compris 5 sous classes, 6 ordres et 14 sous-ordres (LUDWIG *et al*, 2012). La taxonomie des Actinobactéries a considérablement évolué au fil du temps (BUCHANAN, 1917).

ordres et 14 sous-ordres (LUDWIG *et al*, 2012). La taxonomie des Actinobactéries a considérablement évolué au fil du temps (BUCHANAN, 1917).

5.1- Classification phénotypique

Dans un passé récent, plusieurs caractéristiques morphologiques et chimiques sont proposées pour permettre de classer les actinobactéries en genres faciles à caractériser. Parmi ces caractéristiques : la couleur du mycélium et des sporanges, le pourcentage (% GC) dans l'ADN, la teneur en phospholipides membranaires et le type de la paroi cellulaire (ASHUTOSH, 2008).

5.2- Classification moléculaire

Grace à l'avancement rapide du séquençage du génome, la classification morphologique et chimique ont été contestés par la taxonomie moléculaire. Notamment, certains microorganismes qui étaient placés de manière inappropriée dans certains groupes taxonomiques ont été reclassés sur la base d'analyses moléculaires (ZHI *et al*, 2009). Aujourd'hui, une nouvelle espèce ne peut être classée sans analyse génétique basé sur le l'ARNr 16S ou l'hybridation ADN-ADN (EUZEBY, 1997).

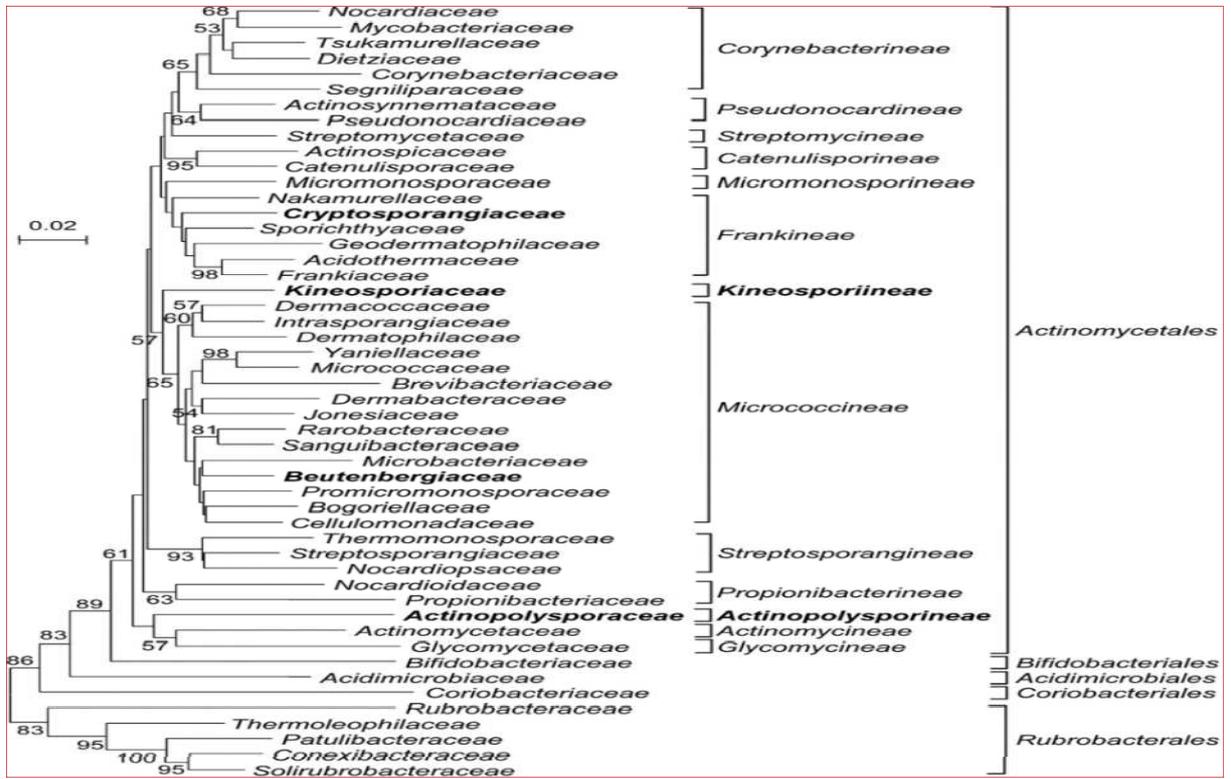


Figure 4: Classification phylogénétique d'actinomycètes (ZHI *et al*, 2009).

6- Ecologie

Les actinobactéries se sont essentiellement des habitats du sol et ils sont très largement distribués (PRESCOTT et al), cependant on trouve les dans les environnements marins non seulement comme des actinobactéries trouvés dans le milieu marin, mais trouvés comme de véritables organismes marins.

Actinomycètes	Habitats
<i>Actinoplanes</i>	L'eau douce, la litière végétale, le sol.
<i>Frankia</i>	Les nodules racinaires des non-légumineuses.
<i>Micromonospora</i>	L'eau douce, les sédiments, les sols humides.
<i>Nocardia amarae</i>	Les boues activées.
<i>Rhodococcus coprophilus</i>	Les déjections animales, l'eau, le sol.
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	Moisi du foin.
<i>Streptomyces</i>	Le sol, la litière végétale, l'eau.
<i>Thermoactinomyces</i>	Le compost.

Tableau 2: L'habitat de certains actinomycètes : (GRIGOROVA et NORRIS, 1990).

Les actinobactéries sont largement distribués dans la nature, on les trouve dans pratiquement tous les substrats naturels; dans l'air que nous respirons, dans l'eau que nous buvons, dans les denrées alimentaires que nous consommons, et dans le sol. Les sols sont particulièrement favorables pour leur développement, les actinobactéries les plus abondants dans le sol sont classés dans le genre *Streptomyces*. Ils sont aussi présents dans les eaux douces, le fond des lacs, les nodules racinaires non légumineuses (Waksman, 1959). Ils colonisent également l'oropharynx, le tube digestif et la peau de l'homme et des animaux (François *et al*, 2007).

7- Méthodes d'isolement

L'isolement des actinobactéries à partir de la microflore mixte présente dans la nature est compliqué en raison de leur croissance lente par rapport à celle des autres bactéries du sol, l'isolement des actinomycètes se fait en étapes (COLLINS, 1995).

Plusieurs substances complexes, source du carbone et de l'azote ont été considérées comme des substrats sélectifs pour les actinobactéries. Les milieux sélectifs ont toujours été privilégiés pour l'isolement des actinobactéries parce que l'échantillon contient d'autres microorganismes. Ainsi, les milieux d'isolement doivent être conçus pour réduire le développement de microbes concurrents sans nuire aux actinomycètes (CROSS, 1981; GOODFELLOW *et al*, 1988).

Les spores aériennes de la plupart des actinobactéries résistent généralement à la dessiccation et présentent une résistance plus élevée à la chaleur humide ou sèche. Le traitement à température douce réduit considérablement le nombre de bactéries à Gram négatif (COLLINS, 1995).

Des produits chimiques bactériostatiques et fongistatiques tels que le phénol et le propionate de sodium ont été incorporés dans des milieux d'isolement pour supprimer la croissance des bactéries et des moisissures et favoriser ainsi les actinobactéries (tableau 3). La gélose à la chitine avec des sels minéraux est plus efficace que celle sans sels minéraux pour isoler les actinomycètes de l'eau. La chitine a montré une sélectivité supérieure à celle des autres agents sélectifs (CARLSEN *et al*, 1996).

La majorité des actinobactéries producteurs d'antibiotiques se développent mieux entre 25 et 30°C, les thermopiles sont incubées entre 40 et 45°C et les psychrophiles entre 4 et 10°C. Le temps d'incubation est généralement de 7 à 14 jours. Cependant, la croissance précoce de certaines espèces de bactéries peut modifier l'environnement nutritif des milieux d'isolation en fournissant des facteurs de croissance. Pour l'isolement de nouveaux actinos, la période d'incubation peut être prolongée (COLLINS, 1995).

Tableau 3: Agents sélectifs d'actinomycètes (Chavan *et al*, 2013).

Agents de sélection	Concentration	Genres d'Actinomycètes
Benzoate	--	<i>Micromonospora</i>
Bruneomycin	15 à 35	<i>Actinomadura</i>
Gentamicin	--	<i>Micromonospora</i>
Kanamycin (25°C)	15 à 25	<i>Actinomadura</i>
Kanamycin (50°C)	--	<i>Thermomonospora</i>
Lincomycin	25	<i>Micromonospora</i>
Nalidixic acid + penicillin + tellurite	15+10+10	<i>Rhodococcus</i>
Nitrofurazone	--	<i>Streptomyces</i>
Novobiocin (25°C)	25	<i>Micromonospora</i>
Oxytetracycline	--	<i>Thermoactinomyces</i>
Penicillin + NaCl	1+5	<i>Streptoverticillium</i>
Penicillin + polymyxin	1+5	<i>Streptomyces</i>
Polymyxin	5	<i>Actinomycetes</i>
Rifampicin (25°C)	25	<i>Actinomycetes</i>

8- Importance technologique

Les actinobactéries sont d'une grande importance dans les processus biotechnologiques. Ceci est dû à leur capacité de produire un nombre important d'antibiotiques ainsi que d'autres métabolites secondaires bioactifs. (BOUDJELAL .F , 2012), Les actinobactéries ont un rôle important dans le recyclage de la matière organique grâce à leur capacité de dégrader des substances très dures et incapables d'être décomposées par la plupart des bactéries non mycéliennes et les champignons: polymères complexes, polysaccharides, lignocelluloses, chitine, etc. (LECHEVALIER, 1981; GOODFELLOW et WILLIAMS, 1983; MCCARTHY et WILLIAMS, 1992). Ils participent donc activement à la fertilisation des sols. Leur pouvoir antagoniste prononcé leur confère un rôle dans la distribution écologique des microorganismes et dans la lutte biologique contre certains agents phytopathogènes du sol (GOODFELLOW et WILLIAMS, 1983).

L'attention portée aux actinomycètes dans les applications biotechnologiques est le résultat naturel de la grande diversité métabolique de ces bactéries. Les actinobactéries sont un groupe unique chez les procaryotes ayant des caractères morphologiques, culturels et physiologiques différents. Ce sont des producteurs potentiels de substances antimicrobiennes, d'enzymes et des immunostimulant (COLLINS, 1995).

Les actinobactéries sont connus comme la plus importante source d'antibiotiques d'origine microbienne. Les deux tiers des antibiotiques actuels sont obtenus à partir d'actinomycètes. Les antibiotiques importants des actinobactéries comprennent les

anthracyclines, aminoglycosides, -lactams, chloramphenicol, macrolides, tetracyclines, nucleosides, peptides et polyéthers (CROSS, 1981). Des composés de faible poids moléculaire ont été isolés à partir d'actinobactéries, qui améliorent les réponses immunitaires. Ces agents sont appelés immunostimulants (DROUIN & COOPER, 1992).

Aussi les actinobactéries interviennent dans la minéralisation des matières organiques par dégradation de composés organiques (ASHUTOSH, 2008). Les exopolysaccharides synthétisés par les actinobactéries sont utilisés comme stabilisants, épaississants, gélifiants et émulsifiants, dans les domaines pharmaceutique et alimentaire, dans les peintures, la récupération d'huile, le papier et les textiles (SINGH, 2006).

Chapitre II

LES ANTIBIOTIQUES

Chapitre II : Les antibiotiques

1- Découverte

Avant les années 1940, il y avait peu de médicaments antiseptiques utilisés contre les infections microbiennes, à usage cutané ou superficiel. En 1906, le chimiste Ehrlich a fourni la première molécule chimique (salvarsan) efficace contre la syphilis. En 1929, un biologiste britannique Fleming, constate qu'une souche de champignons *Penicillium notatum* a empêché la croissance des staphylocoques. Il a jugé que ce champignon synthétise un agent qui inhibe la croissance des staphylocoques, Il l'a appelé : pénicilline (EDWARD & KENNEDY, 1995).

La découverte de Fleming a conduit au premier agent chimio-thérapeutique produit par un microbe. En 1939, une étude sur la pénicilline entamée par Edward et ses collaborateurs a conduit à la préparation d'une forme stable et non toxique de la pénicilline (Florey *et al*, 1949). Pénicilline a ouvert la voie au développement de nombreux autres antibiotiques et il reste le plus actif et l'un des moins toxiques de ces composés. Aujourd'hui, environ de 100 antibiotiques sont utilisés pour combattre les infections chez les humains, les animaux et les plantes. (ARNOLD L. DEMAIN;2010)

2- Définition

Ce sont des substances d'origine biologique, synthétique ou semi-synthétique capables de détruire les bactéries ou de bloquer leur multiplication. Les antibiotiques ne doivent pas produire d'allergie ou de toxicité chez l'hôte (Stuart, 2005). La majorité d'antibiotiques d'origine microbienne sont des bactériostatiques et sont sélectifs dans leur action. La production d'antibiotiques est influencée par l'espèce de microorganisme, la composition du milieu, la température d'incubation et l'aération de la culture (WAKSMAN, 1945).

Les antibiotiques sont capables:

- Soit de détruire des bactéries: on parle d'antibiotiques bactéricides.
- Soit d'arrêter la multiplication des bactéries: on parle d'antibiotiques bactériostatiques. (AFSSA, 2006).

3- Origine

Les antibiotiques peuvent être synthétiques, semi-synthétiques ou produits par divers microorganismes comme les champignons et bactéries (tableau 3). Cependant, des modifications chimiques sont souvent apportées à ces molécules naturelles, pour améliorer l'activité et modifier leurs paramètres pharmacocinétiques (STUART, 2005).

Tableau 4: Microorganismes producteurs d'ATB (Rolf & Schmid, 2005).

Groupe taxonomique	Nombre d'antibiotiques
Actinomycètes	5200
Champignons	2000
Bactéries	1050
Lichens	100
Algues	300
plantes	3200
Animaux	800

4- Classification

4.1- Classification selon le mode d'action

En plus de leur structure chimique variable, les antibiotiques sont doués d'une action biologique très spécifique. Selon laquelle, ils sont classés dans des cinq groupes d'activité (figure 5) : Les inhibiteurs de la synthèse de la paroi, généralement les glyco-peptidiques (Park & Uehara, 2008 ; Josephine *et al*, 2004 ; Kahne *et al*, 2005). Les inhibiteurs de la synthèse membranaire, ces antibiotiques sont spécifiques à chaque groupe microbien en fonction de types des lipides membranaires (ALBORN *et al*, 1991). Les inhibiteurs de la synthèse protéique, ces antibiotiques agissent à trois niveaux : la sous unité 50S, la sous unité 30S et la phase d'élongation (PATEL *et al*, 2001; KATZ & ASHLEY, 2005 ; HONG *et al*, 2014). Les inhibiteurs de la synthèse de l'ADN, qui empêchent la réplication ou arrêtent la transcription (GALE *et al*, 1981 ; CHEN *et al*, 1996). Le groupe d'antibiotiques agissant par blocage de voies métaboliques, comme les sulfamides (TALARO & CHESS, 2008).

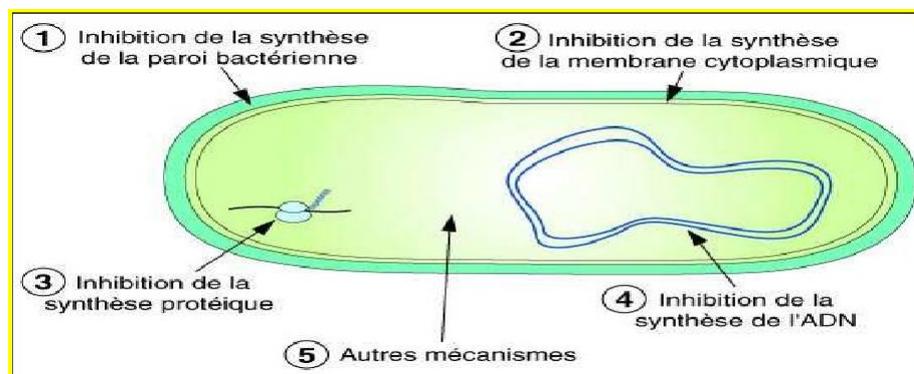


Figure 5: Modes d'action des antibiotiques.

4.2- Classification chimique

Les antibiotiques sont des molécules bioactives présentant des structures chimiques variables (tableau 4). Les antibiotiques bêta-lactamines (pénicilline) sont les plus utilisés au monde, à cause de leur efficacité et leur toxicité faible. La plus part d'antibiotiques peptidiques (bacitracine), ont été isolés à partir du genre *Streptomyces*. Les antibiotiques glyco-peptidiques, généralement sont semi-synthétisés. Les antibiotiques à base de polyéthers sont utilisés contre les infections aux protozoaires (monensine). Les antibiotiques à base de nucléosides sont actifs contre les d'origine virale. Les tétracyclines sont inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la petite sous unité du ribosome, donc ce sont des bactériostatiques. Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides à large spectre. Les antibiotiques à base aromatique inhibent la réplication de l'ADN. (ROLF & SCHMID, 2005 ; PRESCOTT *et al*, 2003 ; KANG & PARK, 2015).

Tableau 5: Classification chimique d'antibiotiques (ROLF & SCHMID, 2005).

Antibiotiques poly-osidiques	Aminosides	Streptomycine, kasogamycine
Lactones macrocycliques	Macrolides	Erythromycine,
	Antibiotiques à structure polyènique	Pimaricine,
	Ansamycine	Rifamycine
Quinones et antibiotiques proches	Tétracyclines	Chlorotétracycline, tétracyclines
	Anthracyclines	Doxorubicine
Glycopeptides	Dérivés des AA	Ciclosporine, phosphinotricine
	Antibiotiques beta-lactamine	Pénicilline, céphalosporine
	Antibiotiques peptidiques	Bacitracine, virginiamycine
Hétérocycles contenant N	Antibiotiques à base de nucléosides	Polyoxine, blasticidine
Hétérocycles contenant O	Antibiotiques à base Polyéthers	Monensine
Antibiotiques à structure alicyclique	Antibiotiques à base de cycloalcane	Cycloheximide
Antibiotiques à structure aromatique	Antibiotiques à base de noyau benzénique	Chloramphénicol, griséofulvine

5- La résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques est une expression relative. Il existe plusieurs significations pour cette expression, qui sont fondées sur des critères microbiologiques, cliniques et génétiques. Du point de vue microbiologique, une souche est dite résistante lorsqu'elle peut croître en présence d'un antibiotique comparativement à d'autres souches cultivées dans les mêmes conditions. Selon la signification clinique, une souche est dite résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. Selon les critères biochimiques et génétiques la résistance peut être intrinsèque, elle est définie comme une caractéristique fonctionnelle ou structurelle. Ce qui donne à toutes les souches d'une espèce bactérienne une résistance vis-à-vis d'un antibiotique. Contrairement à la résistance intrinsèque, la résistance acquise se définit comme un caractère propre à certaines souches bactériennes, qui peut être transféré à d'autres souches sensibles (acquisition horizontale). L'acquisition de résistance peut parfois avoir lieu par modification du génome bactérien, le cas de mutation responsable de la résistance endogène. (GUARDABASSI & COURVALIN, 2006; ALEKSHUN & LEVY, 2007; NIKAIDO, 2009).

5.1- Mécanismes de résistances

Les microorganismes ont développé divers mécanismes de résistance afin de s'échapper de l'action antimicrobienne, tels que l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification de la cible, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection de la cible sont également décrits (figure 6) ; L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance aux bêta-lactames, aminoglycosides et phénicoles. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche sa fixation sur la cible et provoque une perte d'activité. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles. La modification ou remplacement de la cible, est un mécanisme de résistance décrits pour presque tous les antibiotiques. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. (GUARDABASSI & COURVALIN, 2006; ALEKSHUN & LEVY, 2007; NIKAIDO, 2009). L'efflux actif souvent assuré par des pompes protéiques membranaires, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et est utilisé par les cellules pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques. Ces pompes sont caractérisées par leur spécificité

aux antibiotiques (POOLE, 2001; LI & NIKAIDO, 2004; KUMAR & SCHWEIZER, 2005). La protection de la cible de l'antibiotique est un mécanisme de résistance connu pour les tétracyclines et quinolones. Ce mécanisme a été rapporté pour différentes bactéries (ROBICSEK *et al*, 2006 ; CAVACO *et al*, 2009 ; WANG *et al*, 2009). Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ce mécanisme est impliqué dans résistance aux glyco-peptides (GUARDABASSI & COURVALIN, 2006).

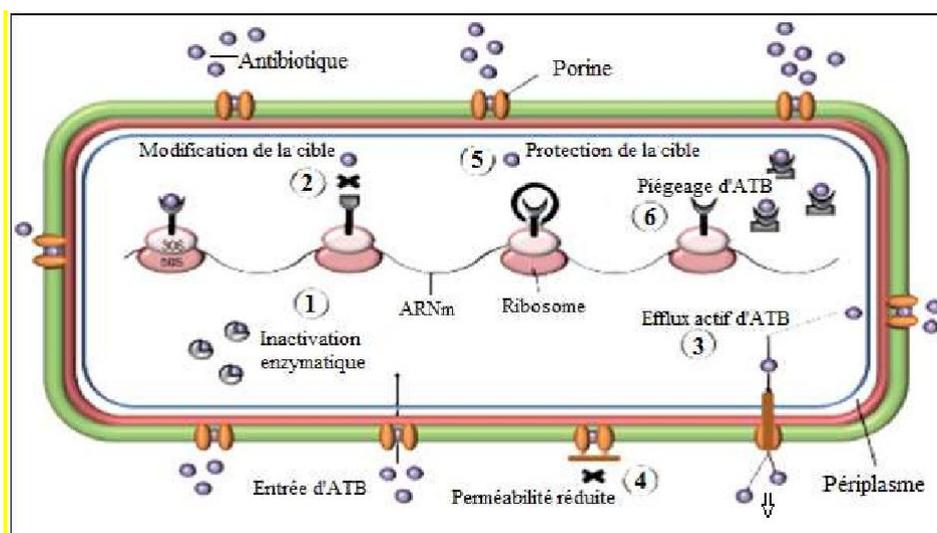


Figure 6: Mécanismes de résistance aux ATB (GUARDABASSI & COURVALIN, 2006).

6-Facteurs influençant la production d'ATB

La détermination des facteurs d'influence pour la synthèse d'antibiotiques serait très utile pour avoir un rendement meilleur de production. De nombreuses études ont été menées sur l'optimisation des conditions de croissance (pH, T °C, O₂) et la composition des milieux de culture (carbone, azote, phosphore) pour augmenter la production des antibiotiques. (GESHEVA *et al*, 2005) ; La production d'antibiotiques est fortement liée à la composition des milieux de culture, et particulièrement à la nature des sources de carbone (ESCALANTE *et al*, 1982 ; SANCHEZ *et al*, 2010). La source d'azote est un facteur limitant de la biosynthèse d'antibiotiques, il est conseillé de diversifier les sources d'azote (organique et minéral) dans le milieu (GAO *et al*, 2009 ; MARQUES *et al*, 2011). Le phosphore est aussi essentiel pour la production d'antibiotiques, il contrôle la biosynthèse des métabolites secondaires chez les streptomycètes (BIBMERYN, 2005).

La majorité des microorganismes producteurs d'antibiotiques sont aérobies, donc l'oxygène est indispensable (Abdelghani, 2011). La température optimale de croissance des actinomycètes producteurs d'antibiotiques est environ à 30°C (Abdel-aal *et al*, 2011).

6.1. Effet de source de carbone:

La synthèse des antibiotiques est fortement liée avec la composition de milieu de culture. la source de carbone constitue la partie majoritaire de ces composants. Généralement, les simples sources de carbone répriment la production de plusieurs antibiotiques.(ESCALANTE L *et al*,1982). Glucose et autre glucides ont un effet indésirable sur la synthèse des antibiotiques quand ils utilisés comme la seule source de Carbone (SANCHEZ S *et al* ;2010).Le glucose a un effet indésirable sur la synthèse des enzymes phenoxazinone synthétase et N-acétyl kanamycin aminohydrolase qui sont nécessaires dans la biosynthèse de actinomycin et kanamycin respectivement.(GALO M *et al* ;1972 ; SATOH A *et al* ;1946). Des études montrant que la meilleure source de carbone c'est les polysaccharides (RAZIEH R , 2013)

6.2 Effet de source de l'Azote:

Les sources d'azotes rapidement assimilables généralement diminuent la production des antibiotiques (PATVIN J *et al* ;1994). L'utilisation d'azote inorganique résulte l'augmentation de la concentration des ions d'ammonium qui inhibent la biosynthèse cela signifie que l'utilisation des sels d'ammonium comme une seule source d'azote ne convient pas avec la production des antibiotiques (GAO H, *et al* ;2009 ;EL-ENSHAY H *et al* ,2008; MARQUES D *et al*,2011)

6.3 Effet de source du phosphate:

Le phosphate est l'un des composants cruciaux pour la croissance des microorganismes et il est essentiel pour la synthèse de l'ADN et ARN et les protéines et aussi implique dans la respiration, métabolisme énergétique, et le transport (MARTIN J F,1977). Il contrôle la biosynthèse des métabolites secondaires chez les streptomycètes et d'autre microorganismes La concentration élevée de phosphate inhibe la production des métabolites secondaires ainsi elle favorise la croissance des microorganismes (BIBB M J ,2005). Les microorganismes commencent la synthèse des antibiotiques généralement après l'épuisement de la source de phosphate pour survivre contre leurs rivaux (VINING L C,1992).

6.4. Effet de l'oxygène:

La plus part des microorganismes productrices des antibiotiques sont aérobies, donc l'oxygène est indispensable (ABDELGHANI T ,2011). : la limitation en oxygène dissous va agir de manière analogue aux limitations en substrat et peut selon les cas stimuler ou inhiber la production de métabolites secondaires. La synthèse de céphamicin par *streptomyces clavulegeus* révélé que lorsque la concentration de l'oxygène dissous est près de la saturation dans la synthèse d'antibiotiques en phase de croissance exponentielle et que sa durée augmente(ROLLIND M ET AL ,1988).

6.5 Effet de température et ph :

La température optimale de la croissance de la plus part des streptomycètes est environ à 30°C (TAWFIK K A RAMADAN E ,1991). La température ambiante pour la production des neomycin, kanamycin et actinomycin par *streptomyces fradiae*, *streptomyces kanamyceticus*, *streptomyces griseolus* est 30°C.(ABDEL-AAL T ET AL, 2011). La plus part des bactéries productrices favorisent le milieu neutre ph prêt 7 pou leurs croissance. Ex: la production de kanamycin par *streptomyces kanamyceticus* se fait dans ph=8 (PRINGSULAKA O,CHAVANIC S,1999)

7-Purification et caractérisation d'ATB

La production d'un nouvel antibiotique est un processus long et coûteux. L'organisme qui fabrique l'antibiotique doit d'abord être identifié. Le processus de dépistage effectue cette identification. Le processus peut être divisé en deux dépistage primaire et secondaire. Le criblage primaire mesure les performances du composé et c'est à ce stade que la majorité des composés sont rejetés. Le criblage secondaire implique des recherches approfondies sur les propriétés des différents composés. Les tests de toxicité sont également un élément essentiel de ce processus d'évaluation et seuls les antibiotiques avec un indice thérapeutique acceptable réussissent.

La plupart des antibiotiques sont présents dans la nature mais ne sont normalement pas disponibles dans les quantités nécessaires pour une production à grande échelle. Ainsi, l'organisme doit être cultivé à une échelle suffisante pour permettre la purification et l'analyse chimique de l'antibiotique et démontrer qu'il est unique. Un processus de fermentation a été développé pour cette raison. Cela implique ce qui suit:

- *Isoler un microorganisme souhaité,
- * Alimenter la croissance de la culture ,
- * Raffinage et isolement du produit final. (PELCZAR et al., 1993)

Après trois à cinq jours, la quantité maximale d'antibiotique aura été produite et le processus d'isolement pourra commencer. En fonction de l'antibiotique spécifique produit, le bouillon de fermentation est traité par diverses méthodes de purification. Par exemple, pour les composés antibiotiques qui sont solubles dans l'eau, un procédé d'échange d'ions peut être utilisé pour la purification. Dans ce procédé, le composé est d'abord séparé des déchets organiques dans le bouillon, puis envoyé à travers un équipement qui sépare les autres composés hydrosolubles de celui souhaité. Pour isoler un antibiotique soluble dans l'huile comme la pénicilline, une méthode d'extraction par solvant est utilisée. Dans cette méthode, le bouillon est traité avec des solvants organiques tels que l'acétate de butyle ou la méthylisobutylcétone, qui peuvent dissoudre spécifiquement l'antibiotique. L'antibiotique dissous est ensuite récupéré à l'aide de divers moyens chimiques organiques. À la fin de cette étape, le fabricant se retrouve généralement avec une forme de poudre purifiée de l'antibiotique, qui peut être raffinée en différents types de produits (ELANDER 2003).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- 1- ABDEL-AAL T., ABDELWAHED N., AWAD G., EL DIWANY A.I. & HAROUN B. (2011). Improvement of anisomycin production through mutation and medium optimization for *Streptomyces griseolus*. *Aust J Basic Appl Sci*, 5(12), 2637-2648.
- 2- ABDELGHANI T (2011). Production of antibacterial metabolites by strain no. 10/2 (*S. albobovineus*) and media optimization studies for the maximum metabolite production. *IJPI'S Journal of Biotechnology and Biotherapeutics*
- 3- ALBORN W., ALLEN N. & PRESTON D(1991). Deptomycin disrupts membrane potential in growing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31(7): 1093-1099.
- 4- ALEKSHUN M.N. & LEVY S.B (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128, 1037-1050.
- 5- ARNOLD L.D (2010). History of Industrial Biotechnology, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN: 978-3-527-31442-3.
- 6- ASHUTOSH K(2008). pharmaceutical microbiology. New Age International . ISBN (13) : 978-81-224-2867-4.pp 363
- 7- ATTWELL R.W. & COLWELL R.R (1984). Thermoactinomycetes as terrestrial indicators for estuarine and marine waters. In: Biological, biochemical and biomedical aspects of actinomycetes (L. Ortiz – Ortiz and L.F. Bojalil, eds.) Academic Press Inc. pp. 441-472.
- 8- AYAKKANU K. & CHANDRAMOHAN D (1971). Occurance and distribution of phosphate solubilizing bacteria and phosphatase in marine sediments at portonovo. *Mar Biol* 11: 201-205.
- 9- Afssa, (2006). Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Rapport du groupe de travail “Antibiorésistance”. [En ligne]. Maisons-Alfort : AFSSA, 214 pages. Disponible sur : www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-ABR.pdf
- 10- BAILY J.E. & OLLIS D.F (1986). Biochemical Engineering Fundamentals (2nd edn.)McGraw-Hill, New York (1987).
- 11- BIBBMERVYN J (2005). Regulation of secondary metabolism in streptomycetes. *Current opinion in microbiology* 8.2: 208-215.
- 12- BUCHANAN R.E (1917). Studies in the nomenclature and classification of the bacteria

- II. The primary subdivisions of the *Schizomycetes*. J Bacteriol 2:155–164.
- 13-BUGG T.D.H. & WALSH C.T (1992). Intracellular steps of bacterial cell wall peptidoglycan biosynthesis: Enzymology, antibiotics, and antibiotic resistance. Nat. Prod. Rep. 9:199-215.
- 14-BOUDJELAL .F;(2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. thèse Doctorat. ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH ALGER.
- 15- CARLSEN M., NIELSEN J. & VILLADSEN J (1996). Growth and α -amylase production by *Aspergillus oryzae* during continuous cultivations. J Biotechnol 45: 81–93.
- 16-CAVACO L.M., HASMAN H., XIA S. & ARESTRUP F.M (2009). qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* sérovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 603-608.
- 17-CHATER K.F., BIRO S, LEE K.J., PALMER T. & SCHREMPF H (2010). The complex extracellular biology of *Streptomyces*. FEMS Microbiol Rev 34:171–198.
- 18-CHATER K.F. (1972). A morphological and genetic mapping study of white colony mutants of *Streptomyces coelicolor*. J Gen Microbiol 72:9–28.
- 19-CHAVAN D.V., MULAJE S.S., & MOHALKAR R.Y (2013). A review on actinomycetes and their biotechnological application. International journal of pharmaceutical sciences and research, ISSN: 0975-8232 .
- 20-CHEN C.R., MALIK M., SNYDER M. & DRLICA K (1996). DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome: quinolone – induced DNA cleavage. J. Mol. Biol. 258:627-637.
- 21-CHOPRA I. & ROBERTS M (2001). Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 65(2):232-260.
- 22-COLLINS C.H., LYNE P.M. & GRANGE J.M (1995). Microbiological methods. 7th edition, Butterworth Heinemann Ltd. London.
- 23-CROSS T, & GOODFELLOW M (1973). Taxonomy and classification of the actinomycetes. Soc Appl Bacteriol Symp Ser 2:11–112.
- 24-CROSS T. (1981). Aquatic actinomycetes: A critical survey of the occurrence, growth and role of actinomycetes in aquatic habitats. J Appl Bacteriol 50: 397-423.

- 25-DIETZ A. 2013MATHEWS J (1971). Classification of *Streptomyces* spore surfaces into five groups. *Appl Microbiol* 21:527–533.
- 26-DONOVICK R. & BROWN W.E (1965). Comments on the General Role of carbohydrates in antibiotics synthesis in *Biosynthesis of antibiotic substances*. Publishing House of Czechoslovak Academy of sciences Prague, pp 283.
- 27-DOUTHWAITE S (1992). Interaction of the antibiotics clindamycin and lincomycin with *Escherichia coli* 23S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res.* 20:4717-4720.
- 28-DROUIN C.M. & COOPER D.G (1992). Biosurfactant and aqueous two-phase fermentation. *Biotechnol Bioeng* 40: 86-90.
- 29-EDWARD M. & KENNEDYDON S (1995). Impact of antibiotic resistant bacteria. Office of Technology Assessment Congress of the United States. ISBN 0-16-048338-7.
- 30-ELANDER P.R (2003). Industrial production of β – lactam antibiotics. *Applied Microbiol. Biotechnol.* 61: 385-392.
- 31-EL-ENSHASY H.A., MOHAMED N.A., FARID M.A. & EL-DIWANY A.I (2008). Improvement of erythromycin production by *Saccharopolyspora erythraea* in molasses based medium through cultivation medium optimization. *Bioresource technology*, 99(10), 4263-4268.
- 32- ESCALANTE L., LOPEZ H., CARMEN M., LARA F. & SUNCHEZ S (1982). Transient repression of erythromycin formation in *streptomyces erythraeus*, *J.Gen.Microbial.* 128(9): 2011-2015.
- 33-EUZÉBY J.P (1997). List of bacterial names with standing in nomenclature: a folder available on the Internet. *Int J Syst Bacteriol* 47:590–592.
- 34-FLOREY H.W., CHAIN E.B., HEATLEY N.G., JENNINGS M.A., SANDERS A.G., ABRAHAM E.P. & FLOREY M.E (1949). *Antibiotics*, vol. 2 , Oxford University Press , London.
- 36-FRANÇOIS D., MARIE-CECIL E.P., CHRISTIAN M., ÉDOUARD B. & ROLAND Q (2007). *Bactériologie médicale Techniques usuelles* . Elsevier Masson. ISBN : 978-2-294-09668-6.
- 37-GALE E., CUNDLIFFE E., REYNOLDS P.E., RICHMOND M.H. & WARING M.J (1981). *The molecular basis of antibiotic action*. 2nd Ed. John Wiley & Sons, New York. 670p.
- 38-GALO M. & KATZ E (1972). Regulation of secondary metabolite biosynthesis: catabolite repression of phenoxazinone synthase and actinomycin formation by glu-cose. *J.*

- Bacteriol*, 109, 659-667.
- 39-GAO H., LIU M., LIU J., DAI H., ZHOU X., LIU X. & ZHANG, L (2009). Medium optimization for the production of avermectin B1a by *Streptomyces avermitilis* 14-12A using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 100(17), 4012-4016.
- 40-GESHEVA V., IVANORA V. & GESHEVA R (2005). Effect of nutrients on production of AK-111-8 macrolide antibiotic by *Streptomyces Hygroscopicus*. *Microbial. Res.* 160(3):243-248.
- 41-GOODFELLOW M., WILLIAMS S.T. & MORDARSKI M (1988). *Actinomycetes in Biotechnology*. Academic Press, London.
- 42-GUARDABASSI L. & COURVALIN P (2006). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington, 1-18.
- 43-Goodfellow M. and Williams S.T (1983). - Ecology of *actinomycetales*. *Annu. Rev. Microbiol.*, 37, 189-216.
- 44-HONG W., ZENG J. & XIE J (2014). Antibiotic drugs targeting bacterial RNAs. *Acta Pharm. Sin B.* 4(4):258-265.
- 45-HOLTJE J.V (1998). Growth of the stress bearing and shape maintaining murein sacculus of *Escherichia coli*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62:181-189.
- 46-JOSEPHINE H.R., KUMAR I. & PRATT R.F (2004). The Perfect Pencillin? Inhibition of a bacterial DD-peptidase by peptidoglycan-mimetic beta-lactams. *J. Am. Chem. Soc.* 126:81222-81223.
- 47-KAHNE D., LEIMKUHLE C., LU W. & WALSH C (2005). Glycopeptide and lipoglycopeptide antibiotics. *Chem. Rev.* 105(2):425-448.
- 48-KANG H.K. & PARK Y (2015). Glycopeptide antibiotics: Structure and mechanism of action. *J. Bacteriol. Virol.* 45(2):67-78.
- 49-KATZ L. & ASHLEY G.W (2005). Translation and protein synthesis: macrolides. *Chem. Rev.* 105:499-528.
- 50-KUMAR A. & SCHWEIZER H.P (2005). Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 57, 1486-1513.
- 51-LI X.Z. & NIKAIDO H (2004). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 64, 159-204.
- 52-LOCCI R. & SHARPLES G (1984). Morphology, p 165–199. In Goodfellow M, Mordarski M, Williams ST (ed), *The biology of Actinomycetes*. Academic Press, London, United Kingdom.

- 53-LUDWIG W., EUZÉBY J., SCHUMANN P., BUSS H.J., TRUJILLO M.E., KÄMPFER P. & WHITEMAN W.B (2012). Road map of the phylum *Actinobacteria*, p 1–28. In Goodfellow *et al.*, Whitman WB (ed), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol 5. Springer-Verlag, New York, NY.
- 54-Lechevalier M.P (1981). - Ecological associations involving actinomycetes. In: *Actinomycetes*. Shaal and Pulverer (Eds.). *Zbl. Bakt. suppl.*, 11, 159-166P
- 55-MARQUES D.A.V., CUNHA M.N.C., ARAÚJO J.M., LIMA-FILHO J.L., CONVERTI A., PESSOA-JR A., & PORTO A.L.F (2011). Optimization of clavulanic acid production by *Streptomyces daufpe* 3060 by response surface methodology. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(2), 658-667.
- 56-MARTIN J.F (1977). Control of antibiotic synthesis by phosphate. In : *Advances in Biochemical Engineering, Volume 6*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- 57-McKINNEY, (2004). Environmental Pollution Control Microbiology. Marcel dekker, inc .isbn 0-8247-5493-X.
- 58-MÉNDEZ C., BRAÑA A.F., MANZANAL M.B. & HARDISSON C (1985). Role of substrate mycelium in colony development in *Streptomyces*. *Can J Microbiol* 31:446–450.
- 59-MENNINGER J.R. & OTTO D.P (1982). Erythromycin, carbomycin, and spiramycin inhibit protein synthesis by stimulating the dissociation of peptidyl-tRNA from ribosomes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 21:811-818.
- 60-Mariat F. et Sebald M., (1990). Les actinomycètes. In: *Bactériologie médicale*. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.935-949
- 61-McCarthy A.J. and Williams S.T (1992) - Actinomycetes as agents of biodegradation in the environment. A review. *Gene*, 115, 189-192.
- 62-NIKAIDO H (2009). Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.* 78, 119-146.
- 63-PARK J.T. & UEHARA T (2008). How bacteria consume their own exoskeleton (turnover and recycling of cell wall-peptidoglycan). *Microbiol. Mol. Biol.* 72:211-227.
- 64-PATEL U., YAN Y.P., HOBBS F.W.J., KACZMARCZYK J., SLEE A.M., POMPLIANO D.L., KURILLA M.G. & BOBKOVA E.V(2001). Oxazolidinones mechanism of action: inhibition of the first peptide bond formation. *J Biol Chem.*

- 276(40):37199-205.
- 65-POOLE K (2001). Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.*, 4, 500-508.
- 66-POTVIN J. & PÉRINGER P (1994). Ammonium regulation in *Saccharopolyspora erythraea*. Part I: Growth and antibiotic production. *Biotechnology letters*, 16(1), 63-68.
- 67-PRESCOTT L.M., HARLEY J.P. & KLEIN D.A (2003). *Microbiologie*. De Boeck Edition Berlin), 2ème édition. ISBN-10: 2804142566.
- 68-PRINGSULAKA O. & CHAVANICH S (1999). Optimal Conditions for the Production of Kanamycin by *Streptomyces kanamyceticus* Mutants. *J.sci.Res.Chula.univ.* 25(2):103-114
- 69-Pelczar, M.J., Chan, E.C.S., Krieg, N.R. *Microbiology*, (6th edn.) McGraw-Hill, New York (1993).
- 70-RAFIEENIA R (2013). Effect of nutrients and culture conditions on antibiotic synthesis in Streptomycetes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*.
- 71-RIGALI S., TITGEMEYER F., BAREND S., MULDER S., THOMAE A.W., HOPWOOD D.A. & VAN WEZEL G.P (2008). Feast or famine: the global regulator DasR links nutrient stress to antibiotic production by *Streptomyces*. *EMBO Rep* 9:670–675.
- 72-RIGALI S., NOTHAFT H., NOENS E.E., SCHLICHT M., COLSON S., MULLER M., JORIS B., KOERTEN H.K., HOPWOOD D.A., TITGEMEYER F. & VAN WEZEL G.P(2006). The sugar phosphotransferase system of *Streptomyces coelicolor* is regulated by the GntR-family regulator DasR and links N-acetylglucosamine metabolism to the control of development. *Mol Microbiol* 61:1237–1251.
- 73-ROBICSEK A., JACOBY G.A. & HOOPER D.C (2006). The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect. Dis.*, , 6, 629-640.
- 74-ROLF D.S (2005). Atlas de poche de biotechnologie et génie génétique. Médecine .sciences Flammarion. pp 290.
- 75-ROLLINS M.J., JENSEN S.E. & WESTLAKE D.W (1988). Effect of aeration on antibiotic production by *Streptomyces clavuligerus*. *Journal of industrial microbiology*, 3(6), 357-364.
- 76-SANCHEZ S., CHAVEZ A., FORERO A., GARCIA-HUNTE Y., ROMERO A., SANCHEZ M., SANCHEZ B., AVALOS M., GUZMAN-TRAMPE S., RODRIGUEZ S., LANGLEY E. & RUIZ B (2010). Carbon source regulation of antibiotic production, *Jantibiot.* 63(8):442-452

- 77-SATOH A., OGAWA H. & SATOMURA Y (1976). Regulation of N-acetylkanamycin amidohydrolase in the idiophase in kanamycin fermentation. *Agricultural and Biological Chemistry*, 40(1), 191-196.
- 78-SINGH S.P (2006). Extreme environments and extremophiles. In National Science Digital Library : E- Book on *Environ. Microbiology*. CSIR (Eds). New Delhi. India, 1-35.
- 79-STUART H (2005). *Essential Microbiology*. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester. PO19 8SQ, England, p 355-358
- 80-TALARO K.P. & CHESS B (2008). *Foundations in microbiology*. 8th Ed. McGraw Hill, New York.
- 81-TAWFIK K.A., & RAMADAN E.M (1991). Factors Affecting the Biological Activity of *Streptomyces aureofaciens* MY18 and *Str. roseviolaceus* MR13.
- 82-THEILLEUX J., (1993). Les actinomycètes in *Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel*, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V 612p, pp 425.
- 83-TORTORAG.J., FUNKE B.R., & CASE C.L (2003). *Introduction a la microbiologie.adaptation francaise* Louise Martin.
- 84-VANNUFFEL P. & COCITO C (1996). Mechanism of action of streptogramins and macrolides. *Drugs*. 51(1):20-30.
- 85-VAN BAMBEKE F (2004). Glycopeptides in clinical development: pharmacological profile and clinical perspectives. *Curr. Opin. Pharmacol.* 4(5): 471-478.
- 86-VINING L.C (1992). "Secondary metabolism, inventive evolution and biochemical diversity—a review." *Gene* 115.1-2: 135-140
- 87-WAKSMAN S.A (1945). *Microbial Antagonisms et Antibiotic Substances*, PP 156.
- 88-WAKSMAN S.A (1950). *The actinomycete nature occurrence and activities and importance.* The Chronica Botanica Company.
- 89-WAKSMAN S.A (1959). *The actinomycete nature occurrence and activities*, pp 327
- 90-WANG M., GUO Q., XU X., WANG X., YE X., WU S. & HOOPER D.C. (2009). New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 53, 1892-1897.
- 91-WILDERMUTH H. & HOPWOOD D.A (1970). Septation during sporulation in *Streptomyces coelicolor*. *J Gen Microbiol* 60:51–59.
- 92-WILDERMUTH H (1970). Development and organization of the aerial mycelium in *Streptomyces coelicolor*. *J Gen Microbiol* 60:43–50.
- 93-ZHI X.Y., LI W.J. & STACKEBRANDT E (2009). An update of the structure and 16S

rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class *Actinobacteria*, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 589–608.

94-ZOUAGHI A (2007). Optimisation de la production de l'Oxytétracycline par *Streptomyces rimosus*. Diplôme National d'Ingénieur. Université 7 Novembre de Carthag

