

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE AKLI MOHANED OULHADJ

FACULTE DE SCIENCE ET DE VIE ET SCIENCE DE LA TERRE

DEPARTEMENT DE BIOLOGUE



Réf :/UAMOB/FSNVST/DB/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

HADJ-ALI Sarah & RABAHI Khadidja

Thème

**Les actinomycètes du Sahara Algérien : isolement et
dépistage de leur potentiel antibactérien vis-à-vis de
quelques bactéries pathogènes.**

Soutenu le : 13/09/2023

Devant le jury composé de

Nom et Prénom

Grade

Lotfi MOUNI

Pr

Univ. De Bouira

Président

Farid LIBDIRI

MCB

Univ. De Bouira

Examineur

Abdelwahab RAI

MCB

Univ. De Bouira

Promoteur

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude tout d'abord à Allah le tout puissant, le Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance pour mener à terme ce travail.

Nous remercions vivement M. RAI A. d'avoir accepté de nous encadrer ainsi que pour tous ses conseils, son suivi et sa disponibilité.

Nos remerciements sont également adressés à nos chers enseignants, M. MOUNI L. Qui a généreusement accepté de présider le jury de notre soutenance et à M. LIBDIRI F. d'avoir accepté l'examen de ce travail et sa mise en valeur.

Nous remercions également l'ensemble des enseignants qui ont veillé à notre formation durant notre parcours Universitaire.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Dédicace

Dédicaces



*Je dédie ce modeste travail le fruit de plusieurs années d'études :
A ma très chère mère Pour m'avoir soutenue moralement et
matériellement jusqu'à ce jour, pour son amour et ses
encouragements. Que ce travail, soit pour vous, un faible
témoignage de ma profonde affection et tendresse. Qu'ALLAH le
tout puissant te préserve.*

*Un grand merci à mon frère Sofiane et tous les membres de
ma famille, qui m'ont guidé et soutenu moralement tout au long
de mes études e, vous étiez toujours présents pour m'aider,
m'encourager et me pousser vers l'avant. Merci pour votre
patience. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit
pour mon éducation et mon bien être.*

Sarah Hadj Ali



Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1. Antibiotiques Actinomycetales	16
Tableau 2. Localisation géographique des sites d'échantillonnage.....	17
Tableau 3. PH-H ₂ O et pH-KCl des échantillons.....	30
Tableau 4. Matière organique totale des 8 échantillons	31
Tableau 5. Nombre d'actinomycètes obtenu par échantillon	31
Tableau 6. Activité antibactérienne préliminaire des souches de l'échantillon Our.	32
Tableau 7. Activité antibactérienne préliminaire des souches de l'échantillon Izy.	33
Tableau 8. Activité antibactérienne préliminaire des souches de l'échantillon Bis.	34
Tableau 9. Activité antibactérienne préliminaire des souches de l'échantillon Ghr.	34
Tableau 10. Caractères macromorphologiques des isolats sélectionnés	36
Tableau 11. Caractères micromorphologiques des dix isolats sélectionnés.....	38
Tableau 12. Résultats des tests de la catalase et de l'oxydase.....	38
Tableau 13. Résultats de technique de diffusion en puits.	40
Tableau 14. Activité antibactérienne par technique des disques.	40
Tableau 15. Résultats de l'activité antibactérienne des culots	40

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1. Formation du sol	3
Figure 2. Les spores des actinomycètes.....	7
Figure 3. Morphologie de la chaîne des spores	9
Figure 4. Arbre phylogénétique des Actinomycètes.....	11
Figure 5. Cycle de développement des actinobactéries	13
Figure 6. Classes des antibiotiques et leurs cibles	15
Figure 7. Localisation géographique des stations d'échantillonnage	18
Figure 8. Les étapes de la mesure du pH d'un sol.	19
Figure 9. Détermination de la matière organique total	20
Figure 10. Milieu ISP2 en préparation	20
Figure 11. Milieux de cultures ISP2 (a), SCA (b) et Bennet (c).....	20
Figure 12. Procédure d'isolement et de mise en culture des actinomycètes.....	21
Figure 13. Ensemencement et incubation des boîtes	22
Figure 14. Coloration de Gram.....	23
Figure 15. Bactéries cibles : <i>S. aureus</i> (A) ; <i>E. coli</i> (B)	25
Figure 16. Technique des cylindres d'agar en schéma	26
Figure 17. Technique des cylindres d'agar.....	26
Figure 18. Centrifugation des cultures d'actinomycètes et préparation des surnageants	27
Figure 19. La technique de diffusion en puits	28
Figure 20. Préparation du surnageant.....	28
Figure 21. Cultures polymicrobiennes issues des 8 échantillons.....	31
Figure 22. Quelques souches d'actinomycètes purifiées à partir des différents échantillons. 32	
Figure 23. Activité de l'isolat S33 Izy vis-à-vis de la souche <i>E. coli</i> sur le milieu ISP2	35
Figure 24. Activité de quelques isolats vis-à-vis de la souche <i>S. aureus</i> sur le milieu ISP2 ..	35
Figure 25. Observation microscopique après coloration de Gram	37
Figure 26. Résultats du test de l'oxydase	39
Figure 27. Résultats du test de la catalase	39
Figure 28. Activité des surnageants contre <i>S. aureus</i> (Technique des disques imprégnés)....	40
Figure 29. Activité des culots contre la souche cible <i>S. aureus</i>	41
Figure 30. Evolution de l'absorbance de la souche cible <i>S. aureus</i>	41

Liste des abréviations

Liste des abréviations

CEC	Capacité d'Echange Cationique
GC%	Pourcentage Guanine Cytosine
GN	Gélose nutritive
ISP2	<i>International Streptomyces Project 2</i>
MA	Mycélium Aérien
MF	étalon Mcfarland
MOT	Matière Organique Totale
MS	Mycélium de Substrat
PS	Pigments Solubles
SCA	<i>Starch Casein Agar</i>

Sommaire

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction..... 1

Chapitre I. Synthèse bibliographique

1. Le sol.....	3
1.1. Composition.....	3
1.1.1. Particules minérales.....	3
1.1.2. Matière organique	4
1.1.3. Eau.....	4
1.1.4. Air.....	4
1.1.5. Organismes vivants	4
1.2. Les microorganismes du sol	4
1.2.1. Champignons.....	4
1.2.2. Protozoaires	5
1.2.3. Nématodes	5
1.2.4. Bactéries du sol	5
2. Les actinomycètes dans le sol	5
2.1. Taxonomie	6
2.1.1. Critères phénotypiques	6
2.1.2. Critères chimiotauxonomiques.....	9
2.1.3. Biologie moléculaire des actinomycètes	10
2.2. Métabolisme	11
2.2.1. Métabolisme primaire	11
2.2.2. Métabolites secondaires	12
2.3. Physiologie et écologie.....	12
2.4. Cycle de vie	12
3. Les antibiotiques Actinomycetales	13
3.1. Rappel sur les antibiotiques	13

3.2. Classification des antibiotiques	14
3.3. Place des actinomycètes dans le monde des antibiotiques	15

Chapitre II. Matériel et Méthodes

1. Echantillonnage.....	17
2. Propriété physicochimiques des échantillons	18
2.1. PH.....	18
2.2. Matière organique totale (MOT)	19
3. Isolement des actinomycètes.....	20
4. Purification et caractérisation des souches	22
4.1. Purification et conservation	22
4.2. Caractérisation	22
4.2.1. Coloration de Gram.....	22
4.2.2. Recherche de la catalase.....	24
4.2.3. Test de l'oxydase.....	24
4.3. Etude de l'activité antibactérienne	25
4.3.1. Bactéries cibles.....	25
4.3.2. Activité antibactérienne sur milieu solide.....	25
4.3.3. Activité antibactérienne sur milieu liquide	29
5. Analyse statistique	29

Chapitre III. Résultats et discussion

1. Propriétés physico-chimiques des échantillons de sol.....	30
1.2. PH.....	30
1.3. Matière organique.....	30
2. Isolement et sélection des actinomycètes	31
3. Purification et conservation des souches	31
4. Test préliminaire de l'activité antibactérienne.....	32
5. Caractérisation des isolats sélectionnés	36
5.2. Caractérisation macroscopique.....	36
5.3. Coloration de Gram	36
5.4. Recherche de la catalase et de l'oxydase.....	38
6. Etude de l'activité antibactérienne des isolats sélectionnés.....	39
6.2. Technique de diffusion en puits.....	39
6.3. Technique des disques imprégnés de surnageant	40

6.4. Activité antibactérienne du culot.....	40
6.5. Activité antibactérienne sur milieu liquide.....	41
7. Discussion.....	42
Conclusion	46
Références	
Annexes 1	
Résumé	
Abstract	
المخلص	

Introduction

Introduction

Les maladies infectieuses sont responsables d'un grand nombre de décès chaque année, particulièrement chez les enfants et les jeunes adultes. A titre d'exemple, six maladies, dont la tuberculose, les maladies diarrhéiques et les infections respiratoires, ont été responsables de près de 90% de cas de décès au niveau planétaire en 1998 (OMS, 1999). Malgré les avancées scientifiques ayant permis de contrôler de nombreuses maladies infectieuses grâce aux antibiotiques, de nouveaux défis se posent continuellement en infectiologie (Kitouni, 2007).

Depuis l'introduction des premiers agents antibactériens tels que la pénicilline et les sulfamides, les bactéries ont constamment évolué pour s'adapter à notre utilisation massive d'antibiotiques. Cette pression de sélection s'est vite reflétée sur l'émergence de bactéries pathogènes résistantes aux traitements antibactériens à l'échelle mondiale et continue à peser lourd sur les bilans des décès au niveau des établissements de santé (Macagnan *et al.*, 2006). L'émergence continue de la résistance aux molécules thérapeutiques actuelles obligent les scientifiques à continuer la recherche et le développement de nouvelles molécules à effet antibiotique.

Le développement des agents antibactériens passe, soit par une synthèse chimique au laboratoire, soit par une purification à partir d'une source biologique. En effet, certains microorganismes produisent, comme métabolites, des molécules ayant la capacité d'inhiber ou d'arrêter la croissance des autres microorganismes environnants. Ces microorganismes ont longtemps constitué une source importante d'antibiotiques d'origine naturelle (Newman et Cragg, 2016). Parmi ces microorganismes, les actinomycètes sont le groupe le plus important en termes de production de composés bioactifs. Elles synthétisent environ les deux tiers de tous les antibiotiques d'origine naturelle actuellement utilisés en médecine humaine, vétérinaire et en agriculture (Barka *et al.*, 2016 ; Chater, 2016).

Dans le même contexte, l'isolement d'actinomycètes capables de produire des molécules bioactives ayant des structures chimiques uniques est une approche traditionnelle pour obtenir de nouveaux agents antibactériens. Les actinomycètes du sol (Guo *et al.*, 2015), des mers et des océans (Hassan *et al.*, 2015 ; Xu *et al.*, 2017) ainsi que des habitats extrêmes tels que les grottes (Jiang *et al.*, 2015) les déserts (Goodfellow *et al.*, 2017) et les écosystèmes antarctiques (Lee *et al.*, 2012) sont

reconnues comme sources potentielle de nouveaux métabolites d'importance pharmacologique (Solecka *et al.*, 2013 ; Singh *et al.*, 2018).

Le manque de nouveaux antibiotiques dans le pipeline pharmaceutique pousse de plus en plus les scientifiques à abandonner les procédures d'isolement classiques de bactéries productrices d'antibiotiques et à explorer des niches et écosystèmes spéciaux. La bioprospection des Actinobactéries extrêmophiles à travers l'exploration de souches inexploitées, tout en évitant le ré-isolement de biomolécules connues, fait partie des stratégies les plus prometteuses à cette fin (Mohammadipanah and Wink, 2016). Dans ce contexte, ce mémoire de master représente une initiation à l'isolement, la purification et le criblage d'actinomycètes producteurs d'antibiotiques. Les souches isolées dans le cadre de ce travail sont issues de sols échantillonnés du Sahara algérien, un terrain « presque » jamais exploré pour l'objectif susmentionné. L'objectif principal du travail est donc d'évaluer l'abondance des actinomycètes producteurs d'antibiotique dans des sols sahariens situés à différentes régions au sud de l'Algérie et de tester leur capacité à inhiber la croissance de certaines bactéries pathogènes isolées à partir d'échantillons cliniques appartenant à des patients Algériens.

Le travail a été divisé en trois chapitres : ⁽¹⁾ synthèse bibliographique : dans laquelle sont introduites des notions de base de sur le sol et sa richesse microbienne en bactéries, notamment les actinomycètes producteurs d'antibiotiques. ⁽²⁾ Matériel et méthodes : ce chapitre décrit les protocoles expérimentaux réalisés dans le cadre de ce travail. ⁽³⁾ Résultats et discussion : cette partie décrit l'ensemble des résultats obtenus ainsi que leur discussion par rapport aux études ultérieures.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Cette synthèse bibliographique s'intéresse aux notions de base liées à la microbiologie du sol, la diversité bactérienne des environnements telluriques et la richesse métabolique des actinomycètes terrestres.

1. Le sol

Le sol est la couche superficielle de la lithosphère terrestre, dont l'épaisseur varie de quelques centimètres à plusieurs mètres. Il est composé d'un mélange de matières minérales et organiques et constitue un support naturel pour le développement d'une large gamme de vivants (Scow, 2004). Selon Wild (1993), le sol est un environnement complexe et dynamique en raison de la régénération physique et chimique continue de ses constituants et de la présence d'un monde vivant en évolution continue au sein de sa structure (Figure 1).

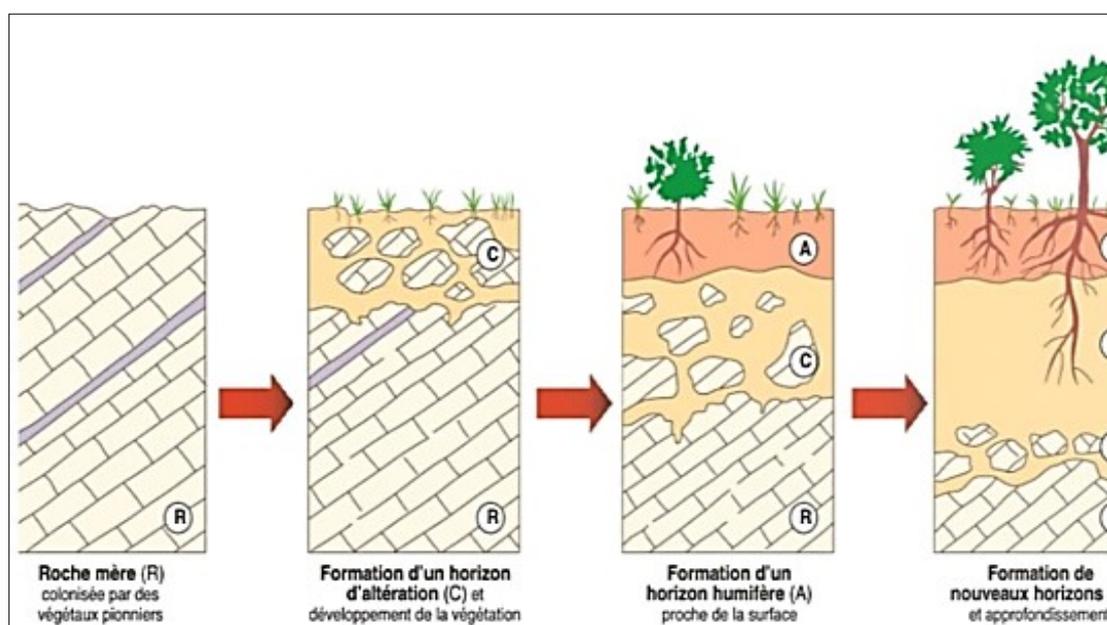


Figure 1. Formation du sol (Brady *et al.*, 2002).

1.1. Composition

Selon Osman (2013), la composition du sol varie en fonction de nombreux facteurs, notamment le climat, le type de roche mère, la végétation, le temps et les activités humaines. Le sol est composé de cinq principaux éléments (Brady, 2008) :

1.1.1. Particules minérales

Les particules minérales sont les fragments de roche résultant de la dégradation physique et chimique des roches mères. Elles sont classées en trois catégories selon leur taille (Sable : entre 0,05 et 2 mm ; Limon : entre 0,002 et 0,05 mm ; Argile : inférieure à 0,002 mm).

1.1.2. Matière organique

La matière organique est constituée de résidus végétaux et animaux en décomposition, tels que les feuilles, les racines, les débris d'insectes et les organismes morts. Elle joue un rôle essentiel dans la fertilité du sol, la rétention d'eau, la formation d'agrégats du sol et la fourniture de nutriments.

1.1.3. Eau

L'eau est un composant important du sol, remplissant les pores entre les particules minérales et la matière organique. Elle est essentielle à la croissance des plantes et à la vie des organismes du sol.

1.1.4. Air

L'air est présent dans les espaces entre les particules minérales et la matière organique du sol. Il est crucial pour fournir de l'oxygène aux organismes du sol et permettre les processus biologiques.

1.1.5. Organismes vivants

Les organismes vivants, tels que les bactéries, les champignons, les nématodes, les vers de terre et d'autres animaux du sol, sont une composante essentielle du sol. Ils jouent un rôle clé dans la décomposition de la matière organique, le recyclage des nutriments et la formation de la structure du sol.

1.2. Les microorganismes du sol

Les microorganismes sont une composante essentielle de l'écosystème du sol. Ils comprennent une grande diversité de bactéries, de champignons, d'actinomycètes, de protozoaires et d'autres organismes microscopiques. Ces microorganismes interagissent de manière complexe et jouent des rôles essentiels dans la décomposition des matières organiques, la formation de la structure du sol, la régulation des populations et le recyclage des nutriments. Leur activité est cruciale pour maintenir la fertilité du sol, la santé des plantes et la résilience de l'écosystème du sol (**Crawford, 2005 ; Garrigues et al., 2012**).

1.2.1. Champignons

Les champignons sont importants pour la décomposition de la matière organique et la formation de relations symbiotiques avec les plantes, telles que les mycorhizes.

Certains champignons peuvent également être pathogènes pour les plantes et les animaux (**Tedersoo *et al.*, 2014**).

1.2.2. Protozoaires

Les protozoaires sont des organismes unicellulaires qui se nourrissent de bactéries, de champignons et d'autres microorganismes du sol. Ils jouent un rôle important dans la régulation des populations bactériennes et la décomposition de la matière organique (**Coûteaux et Darbyshire, 1998**).

1.2.3. Nématodes

Les nématodes sont des vers microscopiques qui se nourrissent de bactéries, de champignons et d'autres organismes du sol. Certains sont des parasites des plantes, tandis que d'autres jouent un rôle bénéfique dans le contrôle des populations d'insectes nuisibles (**Khan et Kim, 2007**).

1.2.4. Bactéries du sol

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants dans le sol. Elles jouent un rôle crucial dans la décomposition de la matière organique, la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation des nutriments et la protection des plantes contre les pathogènes (**Fierer, 2007**). Les actinomycètes, par exemple, sont des bactéries qui jouent un rôle clé dans la décomposition de la matière organique. Certains actinomycètes produisent également des antibiotiques qui peuvent inhiber la croissance d'autres organismes. Le sol abrite également d'autres microorganismes tels que les algues, les virus et les archaea. Bien que leur abondance soit souvent plus faible que celle des bactéries et des champignons, ils peuvent néanmoins jouer des rôles importants dans les cycles biogéochimiques du sol (**Starke *et al.*, 2022**).

2. Les actinomycètes dans le sol

Les actinomycètes constituent l'une des plus grandes populations de microorganismes du sol (**Goodfellow et Williams., 1983**). Constituant 10 à 20% de la communauté microbienne totale du sol, ils représentent des sources biologiques utiles d'agents antimicrobiens, ainsi que des sources majeures de métabolites secondaires à activité anticellulaire (**Okami et Hotta., 1988 ; Dommergues et Mangeno 1970 ; Finance *et al.*, 1985 ; Valanarasu *et al.*, 2008**).

Les actinomycètes ont longtemps été considéré comme un groupe distinct de microorganismes procaryotes. Tel que défini par **Simon et Meunier (1970)**, Ces

bactéries ont la capacité de produire des filaments cloisonnés et ramifiés de 0,5 à 1,0 µm de diamètre (plus petits que ceux des champignons) et pouvant générer des spores asexuées (**Prescott, 2013**). Ce groupe de bactéries est également caractérisé par un pourcentage élevé Guanine-Cytosine (GC%) dans son génome (entre 60 et 70%) (**Goshi et al., 2002**). Les actinomycètes ont un taux de croissance relativement lent, reflété sur un temps de génération moyen de 2 à 3 heures (**Gottlieb, 1973 ; Larpent et Sanglier, 1989**).

Selon **Leminor et Veron (1989)**, Les actinomycètes sont généralement saprophytes. Cependant, certaines espèces sont pathogènes pour les plantes (*Streptomyces scabies*, agent de la galle de la pomme de terre) ou encore pour l'homme et les animaux (*Mycobacterium tuberculosis* et *M. bovis* et *M. leprae*, agents de la tuberculose et de la lèpre, respectivement) (**Loria, 1986 ; Peltola et al., 2001**).

2.1. Taxonomie

Selon le manuel de **Bergey (2012)**, les actinomycètes sont classés dans le domaine *Bacteria* sous le phylum *Actinobacteria*. Ce phylum est en outre divisé en six classes, dont l'une est *Actinobacteria* (composée de quinze ordres). Les deux ordres les plus importants parmi eux sont les Actinomycetales et les Streptomycetales (**Goodfellow et al., 2012**).

La taxonomie actuelle des actinomycètes est déterminée par un assemblage d'un grand nombre de critères morphologiques, physiologiques, chimiques et moléculaires. Les critères morphologiques et chimiques sont souvent suffisants pour l'établissement de la plupart des genres. Cependant, l'identification d'espèces spécifiques nécessite le recours à des caractérisations physiologiques et moléculaires.

2.1.1. Critères phénotypiques

Badji et al. (2006), ont noté que l'étude de la morphologie des actinomycètes repose fortement sur des attributs morphologiques clés (**figure 2**). Ces attributs comprennent principalement :

- Le type des mycéliums aérien (MA) et de substrat (MS) ;
- La présence ou l'absence de sporophores sur les mycéliums ;
- La présence de sclérotés ou de synnemata ;

- La forme, le nombre, la mobilité et la disposition des spores ;
- La présence ou l'absence de sporanges et leur type ;
- La production des pigments solubles sécrétés (PS) ;

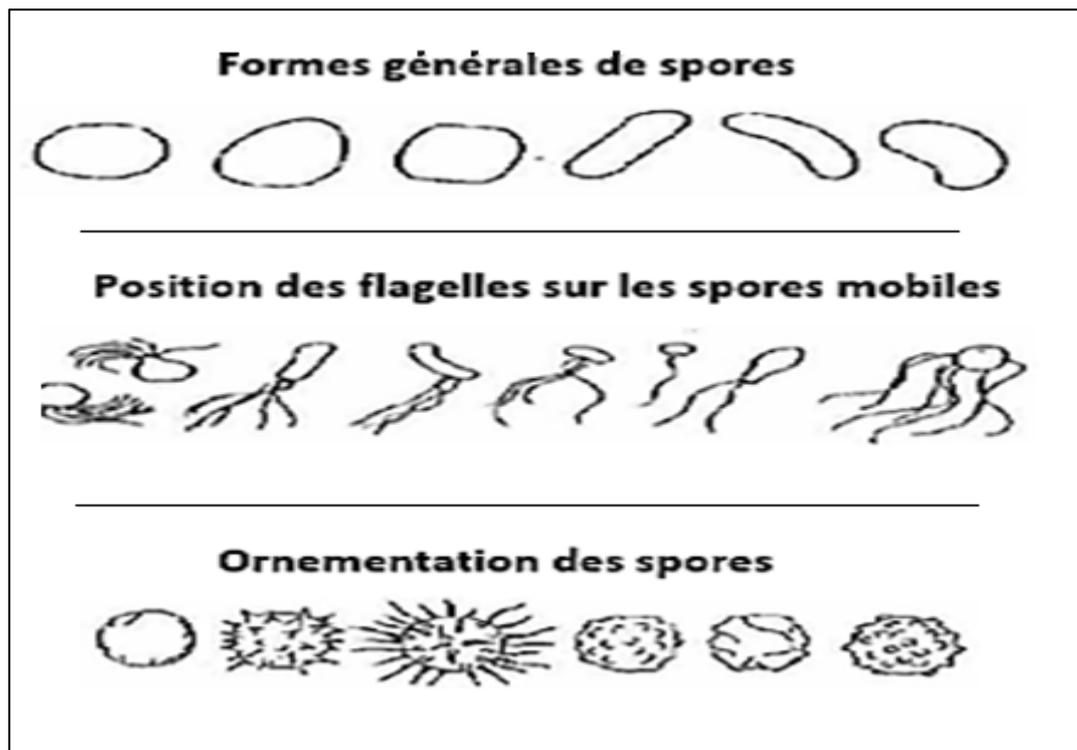


Figure 2. Les spores des actinomycètes (Breton et Theilleu, 1989).

L'observation directe au microscope optique ou électronique permet la détermination des caractères micromorphologiques sur des cultures d'actinomycètes poussant sur des milieux gélosés. Les observations portent sur les mycéliums (MA et MS). Il s'agit d'observer la présence ou non de sporophores sur le mycélium, la présence ou non de sporanges, de sclérotés ou de synnemata (*Actinosynnema*), la présence de spores mobiles (*Planomonospora*, *Actinoplanes*) ou non mobiles tel que (*Streptomyces*, *Streptosporangium*) leur forme, leur disposition sur les hyphes et leurs nombres (Tresner *et al.*, 1961 ; Holt *et al.*, 1994).

- *Morphologie du mycélium*

Les actinomycètes présentent une grande diversité morphologique, y compris des formes coccoïdes (*Micrococcus*) et coccoïdes en bâtonnets (*Arthrobacter*), ainsi que des formes en hyphes fragmentées (*Nocardia*) et des formes avec des mycéliums ramifiés permanents et hautement différenciés (*Streptomyces* et *Frankia*) (Atlas, 1997). Les *Rhodocoques* forment des filaments allongés sur le substrat et ne produisent pas de

véritable mycélium (**Locci et Schaal, 1980**), tandis que les *corynébactéries* ne produisent aucun mycélium. Cependant, chez d'autres *Actinobactéries*, les filaments se développent à l'apex et non par extension de la paroi latérale (**Flärdh, 2003 ; Letek M et al., 2008**). De plus, les actinobactéries appartenant au genre *Oerskovia* se caractérisent par la formation d'hyphes à substrat ramifié qui se divisent en éléments mobiles flagellés (**Prauser et al., 1970**). En outre, les Rhodocoques ne forment généralement pas d'hyphes aériens, bien qu'il existe quelques exceptions.

- *Morphologie de la chaîne de spores*

Les spores peuvent se former individuellement ou en chaînes sur le substrat ou le mycélium aérien. Certains genres produisent des spores dans des sporanges avec des flagelles, tandis que d'autres ont des spores mobiles ou des endospores résistantes à la chaleur. Des structures spécialisées telles que des sclérotés, des synnemas, des vésicules contenant ou dépourvues de spores sont également observées chez différents genres. La morphologie des spores elles-mêmes varie, avec des surfaces lisses, verruqueuses, épineuses, poilues ou rugueuses. Ces caractéristiques morphologiques de la sporulation sont utilisées pour identifier et caractériser les espèces d'actinomycètes (**Cross et Goodfellow, 1973**).

- *Longueur des chaînes de spores*

Le nombre de spores par chaîne varie d'un genre à l'autre. Les genres *Micromonospora*, *Salinispora*, *Thermomonospora*, *Saccharomonospora* et *Promicromonospora* produisent des spores isolées, tandis que *Microbispora* produit des spores par paires longitudinales. Les *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Salinispora*, *Sporichthya* et certains *Nocardia* ont des chaînes de spores courtes, tandis que les *Streptomyces*, *Nocardioides*, *Kitasatospora*, *Streptovercillium* et certains *Nocardia* produisent de très longues chaînes pouvant contenir jusqu'à 100 spores. En revanche, les *Frankia* produisent des sporanges (des sacs de spores), alors que les chaînes de spores des *Streptomycètes* peuvent être classées comme : droites à flexueuses (*Rectus-Flexibilis*), en boucles ouvertes (*Relinaculam-Apertum*), en spirales ouvertes ou fermées (*spira*), ou verticillées (**Pridham et al., 1958**).

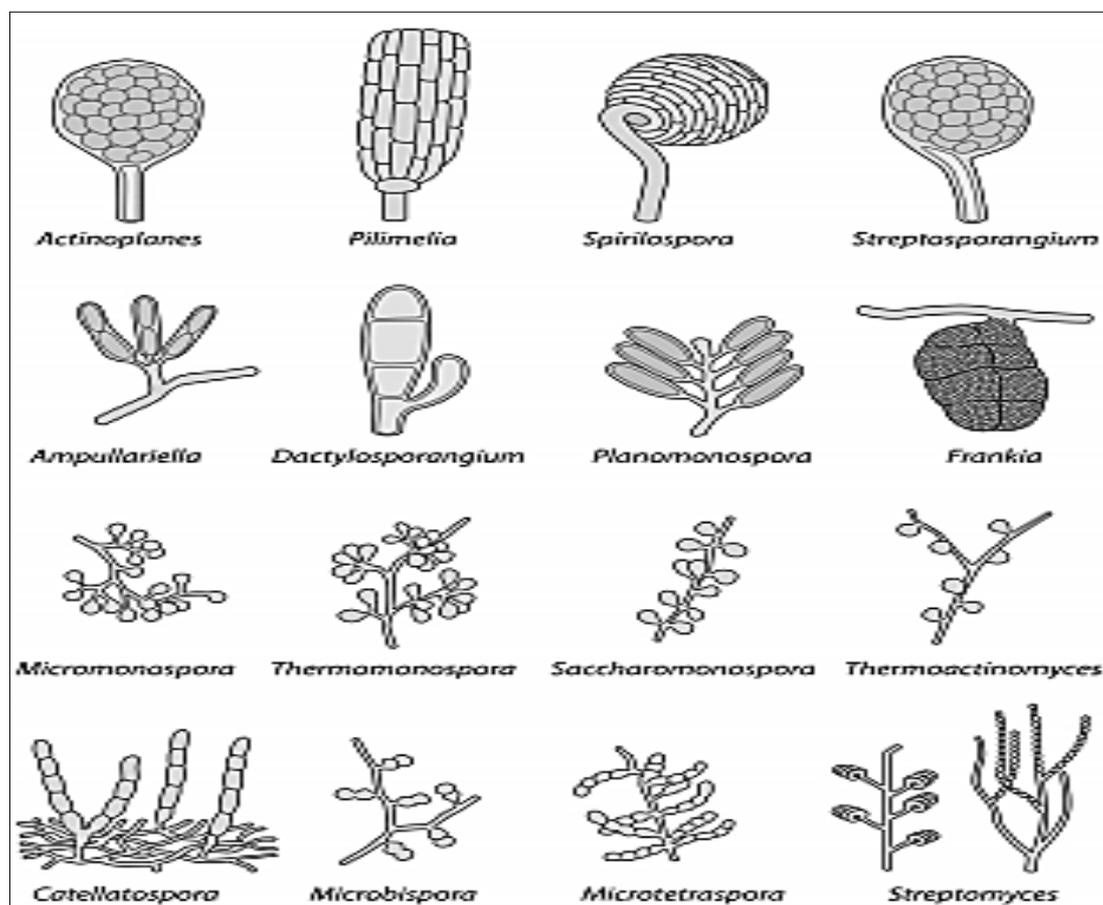


Figure 3. Morphologie de la chaîne des spores (Cross et Goodfellow, 1973).

- *Pigments mélaniques*

Les mélanines sont des polymères aux structures moléculaires diverses, formées par la polymérisation oxydative de composés phénoliques et indoliques. Elles sont produites par un large éventail d'organismes. En fonction de la souche, du milieu utilisé et de l'âge de la culture, les actinobactéries peuvent produire des pigments allant de rouges, jaunes, orange, roses, brunâtres, bruns distincts, bruns verdâtres, au bleus ou noirs (Lechevalier et Lechevalier, 1965).

2.1.2. Critères chimiotauxonomiques

L'identification de certains genres d'actinomycètes peut se faire que par l'observation des caractères morphologiques. En revanche, la grande majorité des actinomycètes, tels que *Streptomyces*, *Actinomadura*, *Nocardia*, *Microtetraspora*, *Nonomuraea*, *Nocordioides*, *Amycolatopsis*, *Pseudonocardia*, *Soccharothrix*, *Kitasatosporia* et *Glycomyces*, nécessitent un examen de leurs constituants cellulaires au moyen d'analyses chimiques (Goodfellow et Minnikin, 1985 ; Boudjella., 2007).

Les caractères pris en considération dans l'étude chimiotauxonomique des actinomycètes sont les composés majoritaires de la paroi cellulaire (**Lechevalier., 1980**) :

- Composition du peptidoglycane ;
- Composition en sucres cellulaires ;
- Composition phospholipidique des membranes ;
- Production d'antibiotiques.

D'autres tests biochimiques tels que la réduction du nitrate l'hydrolyse de l'urée et de l'acide hippurique et la synthèse de mélanine (*Streptomyces*) sont également utilisés comme traits d'identification chimique des actinomycètes (**Staneck et Robert, 1974 ; Lechevalier *et al.*, 1977 ; Larpent et Sanglier, 1989**).

2.1.3. *Biologie moléculaire des actinomycètes*

Au cours des dernières décennies, la biologie moléculaire est devenue un outil puissant de la taxonomie. Actuellement, il est impossible de proposer de nouvelles espèces sans effectuer d'analyse génétique. Les principaux tests moléculaires utilisés pour la détermination des espèces sont l'hybridation ADN-ADN (**Wayne *et al.*, 1987**) et le séquençage de l'ADN ribosomal 16S par la méthode de **Stackebrandt *et al.*, (1997)**, ainsi que la détermination du pourcentage de GC%, requis uniquement lors de la proposition d'un nouveau genre. Ces critères permettent de retracer toute la phylogénie des Actinomycètes.

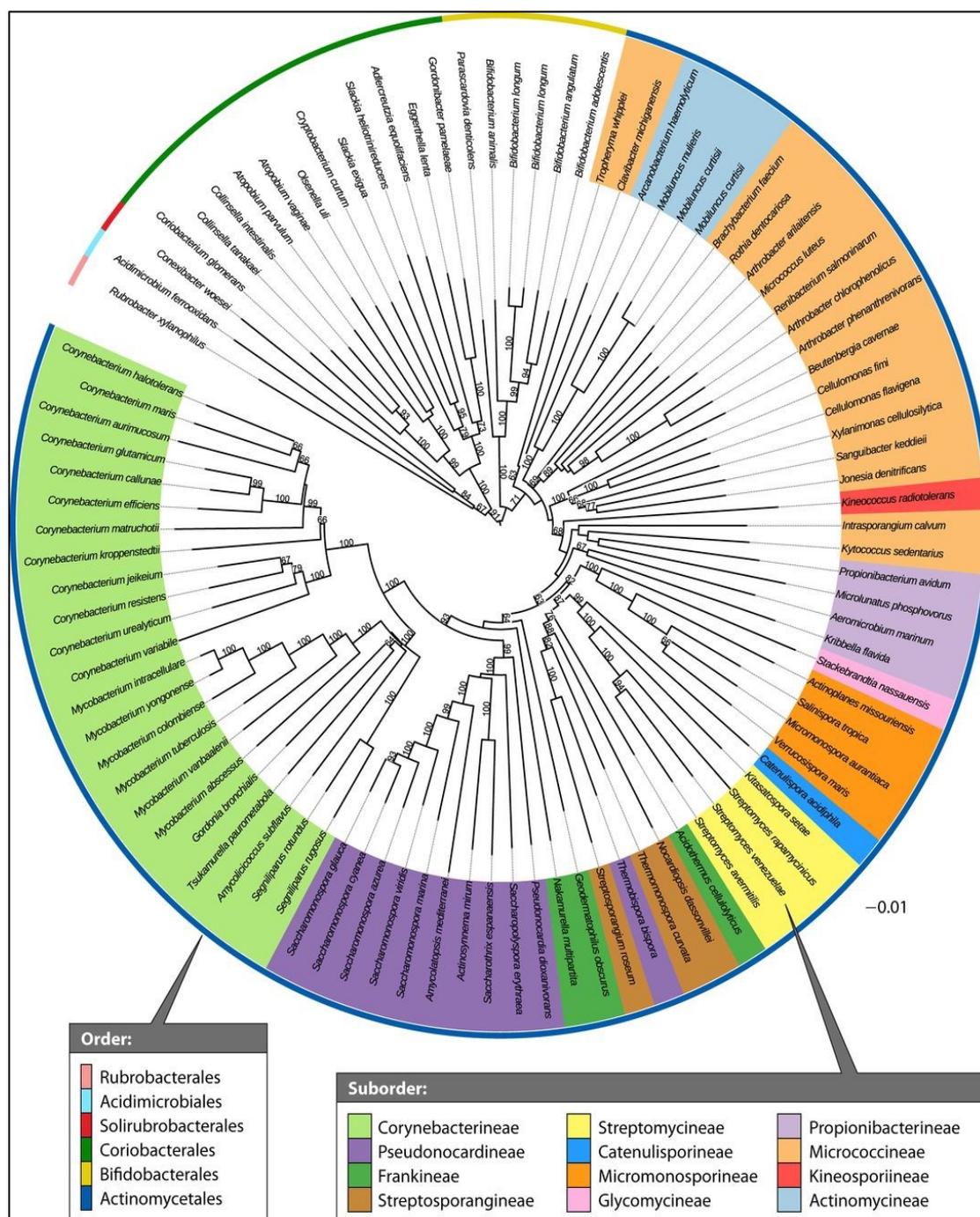


Figure 4. Arbre phylogénétique basée sur 97 séquences génomiques de l'embranchement des Actinomycètes (Essaïd *et al.*, 2015).

2.2. Métabolisme

Au cours de leur croissance les actinomycètes peuvent passer d'un métabolisme dit primaire (trophophase) à un métabolisme dit secondaire (idiophase).

2.2.1. Métabolisme primaire

Les métabolites primaires sont des substances produites par des microorganismes en période de croissance active. Lorsque ces derniers sont mis en culture, ils entrent

rapidement en phase de croissance. Pendant cette dernière, des substances nécessaires à leurs développements sont produites par des réactions enzymatiques. Ils sont appelés métabolites primaires ou généraux tels que : les alcools, les enzymes (comme les hydrolases et les protéases), les acides organiques, etc. (Bill, 2007).

2.2.2. Métabolites secondaires

Ce sont des substances généralement synthétisées plus tardivement dans le cycle de vie alors que les microorganismes vieillissent. Ils sont, en générale, produits, au cours de la phase stationnaire (Horinouchi, 2002 ; Génolhac, 2006).

2.3. Physiologie et écologie

D'un point de vue physiologique et écologique, les actinomycètes se divisent en deux groupes distincts. Tout d'abord, il y a les formes fermentatives, qui peuvent être strictement anaérobies ou facultatives, représentées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligatoires des cavités naturelles des êtres humains et des animaux supérieurs et ils ne sont jamais retrouvés dans le sol (Mariat et Sebald, 1990). Ensuite, il y a les formes oxydatives, qui sont aérobies, telles que les *Streptomyces*. Le sol est leur réservoir principal à partir duquel ils se dispersent, en particulier dans l'air (Reponen *et al.*, 1998). Les *Streptomyces* se retrouvent également dans les eaux douces et salées, où ils s'adaptent en formant des spores résistantes (Mincer *et al.*, 2002 ; Zaitlin *et al.*, 2003). Certains genres d'actinomycètes ont été isolés à partir de composts (Lacey, 1997 ; Song *et al.*, 2001) et des racines des plantes (Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985) où ils s'associent symbiotiquement aux racines, fixent l'azote atmosphérique et jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les pathogènes (Sardi *et al.*, 1992 ; Thirupl *et al.*, 2001).

2.4. Cycle de vie

Les actinobactéries, bien que classées parmi les bactéries en raison de leur structure procaryotique, ont un cycle de vie similaire à celui des champignons (figure 4). Le genre le plus courant, *Streptomyces*, présente un cycle complexe qui débute par la germination d'une spore et la croissance d'un mycélium végétatif (Drago, 2015). Lorsque les ressources deviennent limitées, un mycélium aérien se forme et utilise les réserves du mycélium basal. Les extrémités du mycélium aérien se différencient en chaînes de prés pores, qui deviennent ensuite des spores individuelles disséminées dans l'environnement. En milieu liquide, les actinobactéries se développent principalement

sous forme de mycélium primaire, bien que certaines souches puissent sporuler (**Madigan et Martinko, 2007**). Les spores d'actinobactéries ont une résistance limitée à la chaleur mais sont adaptées à la dessiccation. Les actinobactéries sont généralement immobiles, à l'exception des spores de certains genres spécifiques (**Prescott *et al.*, 2007**).

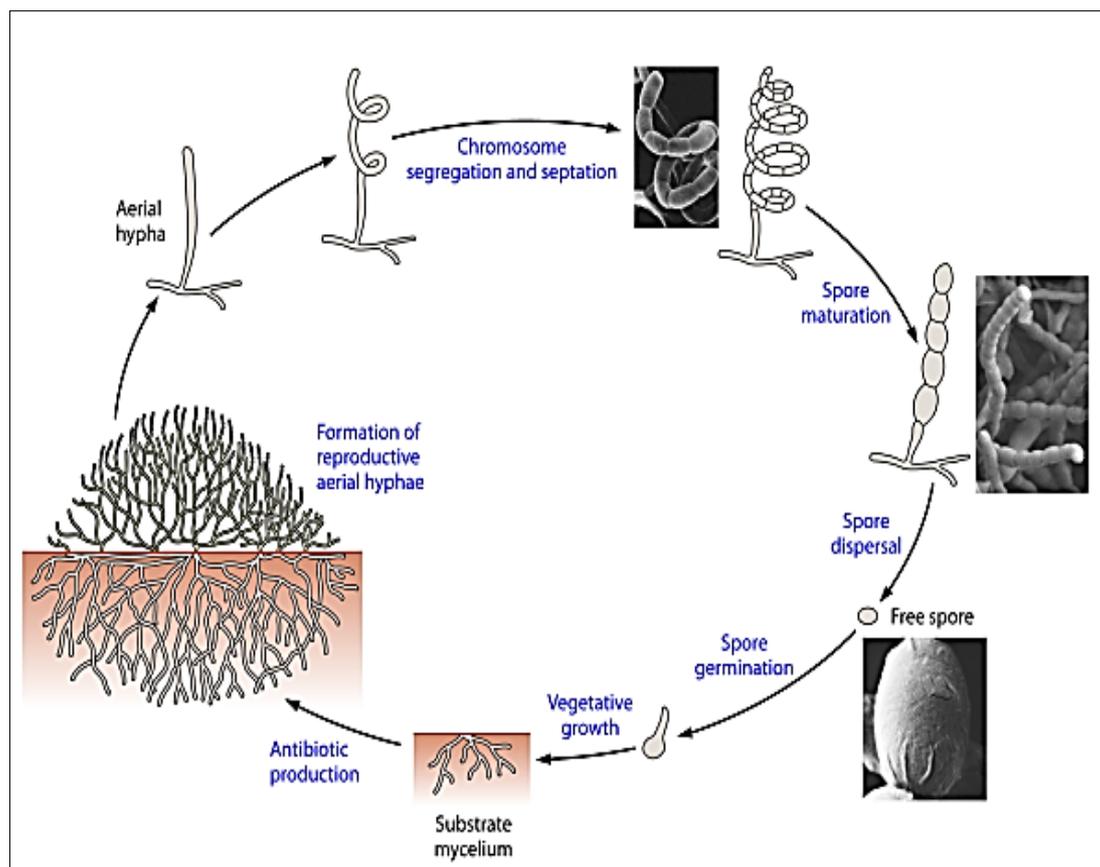


Figure 5. Cycle de développement des actinobactéries (**Ait Barka *et al.*, 2016**).

3. Les antibiotiques Actinomycetales

3.1. Rappel sur les antibiotiques

Un antibiotique (du grec anti : « contre » et bios : « vie ») est une substance antibactérienne biologique produite par des microorganismes ou toute substance chimique qui sert à tuer ou à empêcher la croissance d'organismes. Seule l'activité antibactérienne est appelée "antibiotique" (**Kassah-Laouar, 2020**).

Les antibiotiques ciblent principalement les structures ou les fonctions bactériennes, telles que la biosynthèse de la paroi cellulaire, la traduction (par exemple, la streptomycine), la transcription de l'ARN, la réplication, la synthèse de l'ADN et la membrane, et donc, la croissance bactérienne globale (**Grasso *et al.*, 2016**).

3.2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques se fait en fonction de leur nature chimique, de leur spectre antimicrobien et de leur mode d'action. La classification chimique regroupe les antibiotiques en catégories homogènes sur le plan chimique, tandis que la classification basée sur le spectre antimicrobien est moins optimale en raison de l'évolution de la résistance bactérienne. Une classification basée sur le mécanisme d'action permet de mieux comprendre les propriétés spécifiques de chaque classe. **(Walsh, 2000)**. Selon leurs modes d'action, les antibiotiques sont classés en :

a. Inhibiteurs de la synthèse de peptidoglycane

Certains antibiotiques agissent en inhibant la synthèse du peptidoglycane, composant essentiel de la paroi bactérienne. Les bêtalactamines, par exemple, se fixent sur des protéines de la membrane cytoplasmique et inhibent la formation du peptidoglycane, entraînant le blocage de la multiplication cellulaire et la lyse bactérienne. **(Calamita et Doyle, 2002 ; Prescott *et al.*, 2010)**.

- *Altérateurs de la synthèse de la membrane*

D'autres antibiotiques altèrent la synthèse de la membrane bactérienne en perturbant sa perméabilité. Les antibiotiques polypeptidiques tels que les gramicidines et les polymyxines pénètrent dans la cellule bactérienne et perturbent les membranes externes et cytoplasmiques, ce qui entraîne leur désorganisation. **(Zomahoun, 2005 ; Tortora, 2012)**.

- *Inhibiteurs de la synthèse protéique*

Certains antibiotiques agissent au niveau des ribosomes bactériens en interférant avec la synthèse protéique **(Euzéby, 2008)**. Les aminosides ou aminoglycosides, par exemple, se fixent sur les sous-unités 30S et 50S des ribosomes, entraînant des erreurs de lecture de l'ARN messager et perturbant la synthèse protéique. **(Mimoz, 2003 ; Zomahoun, 2005 ; Philippon, 2006)**. D'autres antibiotiques, tels que les tétracyclines, les phénicoles, les macrolides, les lincosamides et les streptogramines, inhibent différentes étapes de la synthèse protéique en se fixant sur le ribosome bactérien. **(Benzeggouta, 2005)**.

- *Inhibiteurs de la synthèse nucléaire*

Certains antibiotiques ciblent la synthèse nucléaire en perturbant le fonctionnement de l'ADN. Ils agissent directement sur la synthèse des acides nucléiques, tels que les quinolones, les Rifamycine et la Mupirocine, qui bloquent la synthèse de l'ADN ou de l'ARN (Mimoz, 2003 ; Benzeggouta, 2005 ; Zomahoun, 2005 ; Euzéby, 2007). D'autres antibiotiques interfèrent avec la production des folates nécessaires à la synthèse des bases de l'ADN, tels que les sulfamides et les 2-4-Diamino pyrimidines. (Zomahoun, 2005 ; Euzéby, 2007).

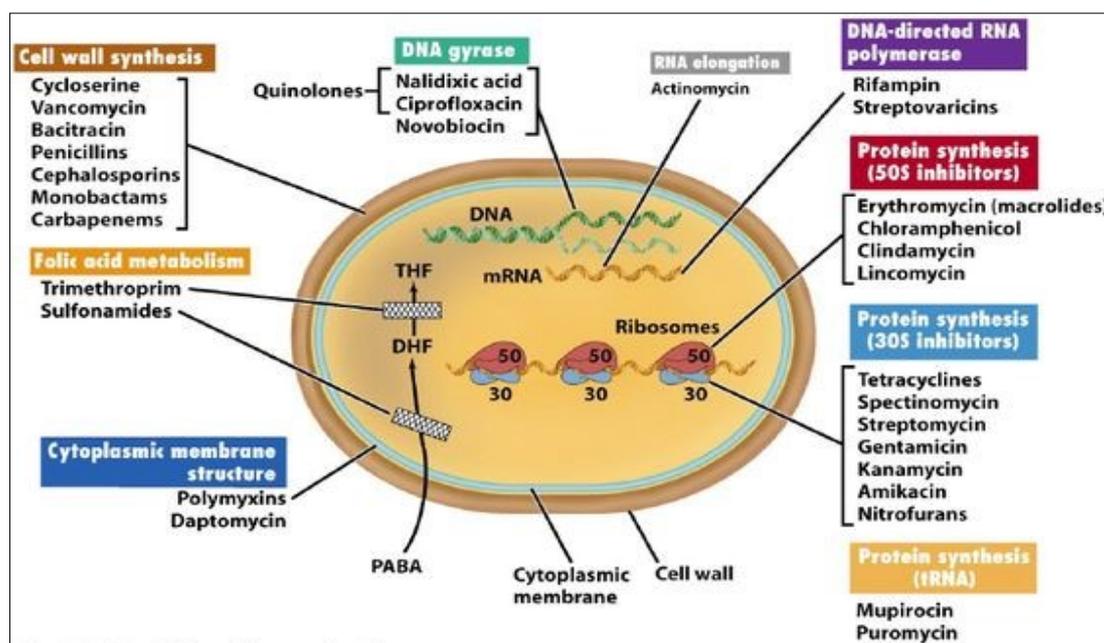


Figure 6. Classes des antibiotiques et leurs cibles (Godfrey *et al.*, 2014).

3.3. Place des actinomycètes dans le monde des antibiotiques

Les actinomycètes sont largement utilisés en industrie afin de produire des molécules bioactives. Ces molécules présentent des activités biologiques antibactériennes, antifongiques, anticancéreuses, antivirales ou antiparasitaires. (Coates et Hu., 2007). Certains antibiotiques Actinomycetales sont bactériostatiques, qui inhibent la croissance des microorganismes sensibles, tandis que d'autres sont bactéricides (Singleton, 1994).

Les actinomycètes sont connus pour produire des antibiotiques antibactériens et antifongiques, dont près de 70% des molécules actives sont commercialisées (Solanki *et al.*, 2008). *Streptomyces* est connu pour être le plus grand producteur d'antibiotiques, sécrétant, à lui seul, 80% des antibiotiques Actinomycetales (Demain, et Lancini, 2006). Divers écosystèmes à travers le monde ont été explorés à la recherche de

nouvelles espèces d'actinomycètes produisant de nouvelles molécules bioactives : sols salins (WenJun *et al.*, 2004), forêts (Thakur *et al.*, 2007), terrains agricoles (Oskay *et al.*, 2007) et écosystème marins (Gorajana *et al.*, 2010, Saleh Abdelfattah *et al.*, 2016).

Le désert du Sahara algérien abrite un écosystème unique dans ses sols, qui possède une abondance d'actinobactéries. Ce potentiel abrite divers genres d'actinobactéries que l'on trouve rarement ailleurs dans le monde, notamment *Planomonospora*, *Planobispora*, *Nocardiosis*, *Actinomadura*, *Saccharothrix*, etc. Ces découvertes ont été rapportées par Sabaou en 1998, se révélant d'une grande importance. Plusieurs études ont été menées sur la création de nouveaux composés antimicrobiens (Boudjella *et al.*, 2006 ; Goudjal *et al.*, 2014).

Tableau 1. Antibiotiques Actinomycetales (Aboul-Enein *et ali*, 2000 ; Chater, 2006 ; Boughachich, 2012).

Microorganismes producteurs	Molécules antibiotiques
<i>Streptomyces orientalis</i>	Vancomycine
<i>Streptomyces azeureus</i>	Thiostreptone
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i>	Teicoplanine
<i>Nocardia lurida</i>	Ristocetine
<i>Nocardia mediterranei</i>	Rifamycine
<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	Kanamycine
<i>Streptomyces griseus</i>	Streptomycine
<i>Streptomyces venezuelae</i>	Chloramphénicol
<i>Streptomyces coeruleorubidus</i>	Daunomycine
<i>Streptomyces clavuligerus</i>	Acide clavulingerus
<i>Micromonospora purpurea</i>	Gentamicine
<i>Streptomyces rimosus</i>	Paromomycine

Chapitre II

Matériel et méthodes

La partie pratique de ce travail a été réalisée aux laboratoires de microbiologie de la faculté SNVST de l'université de Bouira, durant une période allant de 2 avril 2023 au 22 juin 2023. Après un échantillonnage réalisé sur différents sols du Sahara algérien, les échantillons ont été transportés au laboratoire en vue d'isolement et de sélection d'actinomycètes productrices d'éventuelles substances antibactériennes.

1. Echantillonnage

Les échantillons de sol proviennent de différents niches écologiques appartenant à des zones arides situées au sud de l'Algérie. Les prélèvements ont été réalisés au niveau de 8 sites localisés à 8 Wilayas différentes. Les 8 échantillons (E1- E8) de sol ont été prélevés de différents sites appartenant aux wilayas : Biskra, Touggourt, Ouargla, El Ouadi, Boussaâda, Djelfa, Ghardaïa et Illizi, toutes situées au sud de l'Algérie (**Figure 7**). Les échantillons sont prélevés à l'aide d'une grande spatule stérile, avant chaque prélèvement, la couche superficielle du sol est écartée et le sol de la couche sous-jacente (entre 5 et 30 cm de profondeur) est prélevé.

100 à 150 g de terre, dont les gros débris sont écartés (pierres, racines, etc.), sont placés dans un sac stérile et transportés le plus rapidement possible au laboratoire pour analyse (**Pochon et Tardieux, 1962**). Le tableau 2 et la figure 7 déterminent les positions cartographiques des différents sites :

Tableau 2. Localisation géographique des sites d'échantillonnage

	Date	Position GPS	Wilayas
	d'échantillonnage		
Bis	21/01/2023	34°50'55"N 5°44'58"E	Biskra
Toug	14/12/2022	33°4'1.715"N 6°1'35.421"E	Touggourt
Our	14/12/2022	31°56'45"N 5°16'00"E	Ouargla
El ou	14/01/2023	33°35'0.089"N 6°45'56.933"E	El Ouadi
Bou	21/01/2023	35°13'18.912"N 4°13'31.238"E	Boussaâda
Dje	21/01/2023	34°25'08"N 3°14'20"E	Djelfa
Ghr	25/02/2023	32°42'33"N 3°42'24"E	Ghardaïa
Izy	13/02/2023	26°27'52.837"N 8°27'46.141"E	Illizi

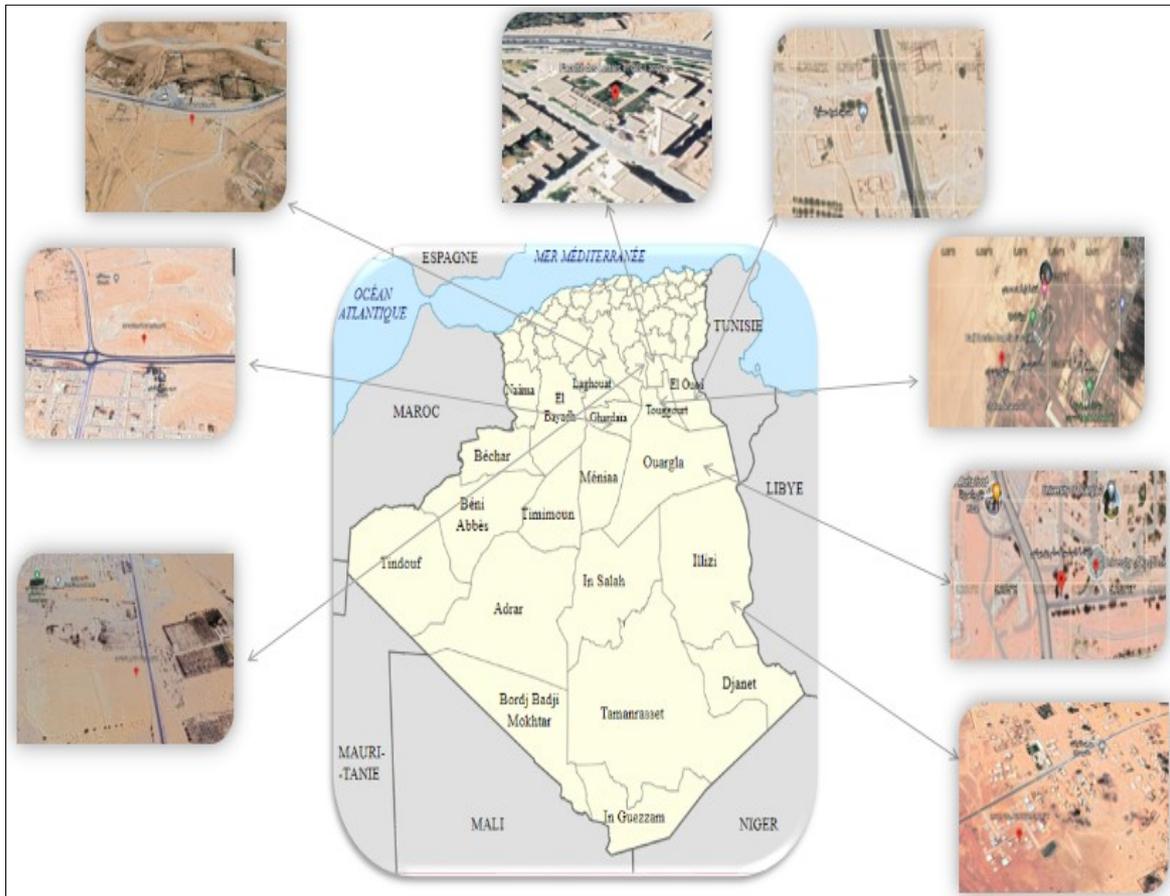


Figure 7. Localisation géographique des stations d'échantillonnage (fabriquée à partir de google map).

2. Propriété physicochimiques des échantillons

2.1. PH

L'acidité d'un sol est évaluée en fonction de sa concentration en ions H^+ . Les mesures de pH dans l'eau (pH-eau, représentant l'acidité effective) ainsi que dans une solution de KCl 1N (pH-KCl, indiquant l'acidité titrable ou de réserve) ont été obtenues pour les échantillons de sol. Avant ces mesures, une quantité de 10 g de l'échantillon de sol est d'abord passée au travers d'un tamis d'une porosité 2 mm de diamètre.

Dans le cas du pH-eau, 25 ml d'eau distillée sont mélangés avec le sol tamisé. Quant au pH-KCl, la même quantité d'échantillon est mélangée avec une solution de KCl 1N. Le mélange est agité pendant une minute à l'aide d'une baguette en verre, puis laissé en décantation pendant une heure. Pour obtenir les valeurs de pH, une électrode de pH-mètre est immergée dans la solution (**Rouiller *et al.*, 1994**).

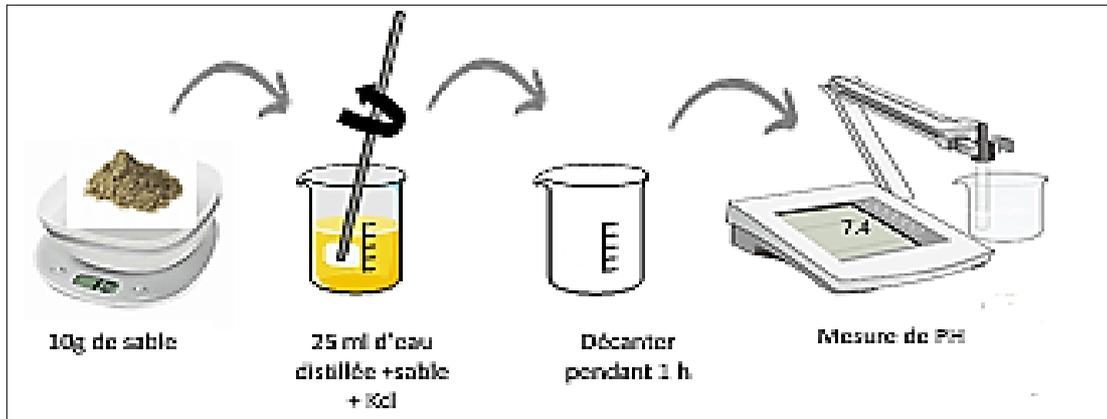


Figure 8. Les étapes de la mesure du pH d'un sol.

2.2. Matière organique totale (MOT)

Chaque échantillon est pris à hauteur d'un gramme et placé dans un bécher d'une de 250 ml. Par la suite, 10 mL d'eau distillée ainsi que 10 mL d'une solution à 30% d' H_2O_2 sont introduits dans le bécher en question, avant d'en recouvrir l'ouverture avec du papier aluminium. Si l'effervescence de la réaction reste modérée, le bécher est déposé sur un bain de vapeur. L'évolution de la réaction est suivie jusqu'à son arrêt complet, identifiable par la cessation de la formation de bulles.

Cette digestion réactionnelle prend généralement environ une heure pour s'achever. Pendant ce processus, le contenu du bécher est agité de manière intermittente à la main, ce qui permet d'assurer que les particules les moins denses de la matière organique entrent en contact avec la solution réactionnelle.

Une fois la digestion terminée, l'échantillon est soumis à un séchage à une température de $105^{\circ}C$. Ensuite, il est pesé de manière répétée jusqu'à ce que son poids se stabilise, assurant ainsi une mesure précise de la masse finale de l'échantillon (Huang *et al.*, 2009).

La proportion de la matière organique présent dans l'échantillon est déterminée par la formule suivante :

$$MOT (\%) = \frac{P_{sec}}{P_{original}} \times 100$$

Où :

MOT : matière organique totale

P sec : la masse de l'échantillon avant traitement

P original : la masse de l'échantillon après traitement et séchage.

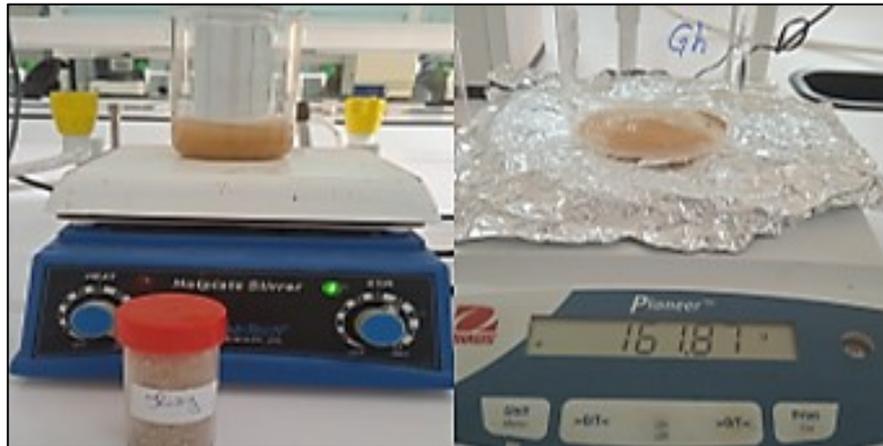


Figure 9. Détermination de la matière organique total (originale).

3. Isolement des actinomycètes

Les milieux de cultures ISP2, Bennet et SCA recommandés par *Ara et al. (2012)* pour l'isolement des actinobactéries, ont été utilisés. La composition de ces milieux de cultures est donnée dans l'**annexe 1**. Les milieux ont été préparés à un pH 7.3 puis stérilisés à l'autoclave (1 bar, 20 min). Les milieux sont par la suite coulés dans des boîtes de Pétri avant utilisation.



Figure 10. Milieu ISP2 en préparation (originale).

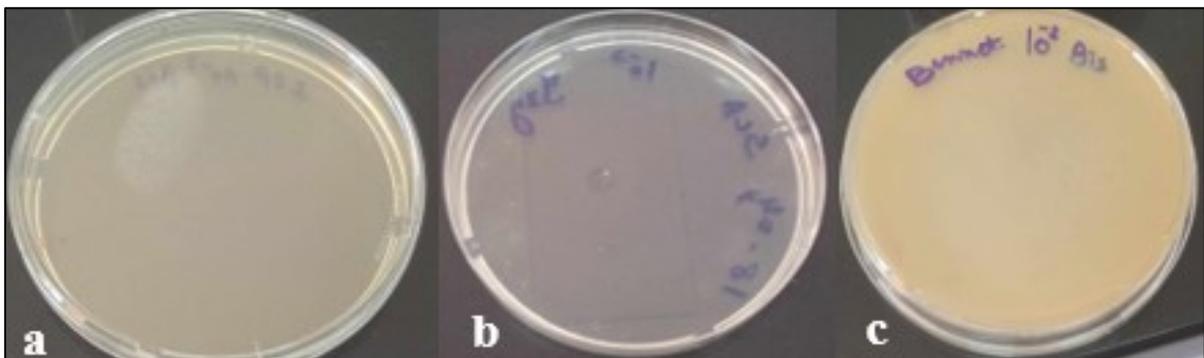


Figure 11. Milieux de cultures ISP2 (a), SCA (b) et Bennet (c) utilisées pour l'isolement (originale).

a. Préparation des dilutions

Les échantillons ont subi un prétraitement thermique avant la préparation des dilutions (50°C pendant une heure) pour l'élimination des champignons et des bactéries Gram négative (El Karkouri *et al.*, 2019).

La préparation des dilutions consiste tout d'abord à ajouter 10 g de sol à 90 ml d'eau physiologique stérile. La suspension subit une agitation pendant quelques minutes par un vortex, ce qui constitue la dilution 10^{-1} . À partir de cette suspension mère on prépare les dilutions jusqu'à 10^{-4} .

b. Ensemencement en surface

Cette méthode consiste à déposer 0.1 mL de chaque dilution aux surfaces des milieux (ISP2, Bennet, SCA). Le volume est par la suite étalé à l'aide d'un écouvillon stérile sur toute la surface de la boîte. Les boîtes sont par la suite incubées pendant 7 à 14 jours à 30°C.



Figure 12. Procédure d'isolement et de mise en culture des actinomycètes (Mateus *et al.*, 2022).



Figure 13. Ensemencement et incubation des boîtes (originale).

4. Purification et caractérisation des souches

Les colonies d'actinobactéries sont reconnues par leur aspect morphologique caractéristique. Elles apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, adhérent à la gélose et présentent un mycélium végétatif et/ou aérien. Certaines montrent seulement un mycélium du végétatif. L'aspect macroscopique des colonies est observé directement sur la gélose (Guiraud, 1998).

4.1. Purification et conservation

Durant la période d'incubation, des observations régulières sont effectuées chaque deux jours. Les colonies ayant un aspect caractéristique des actinobactéries sont repiquées à l'aide d'une once de platine par la méthode des stries croisées sur le milieu de culture ISP2 et incubées à 30°C jusqu'à apparition de colonies pures. (Shirling et Gottlieb, 1966).

4.2. Caractérisation

4.2.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram est une technique de laboratoire utilisée pour différencier les bactéries en deux groupes principaux : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. Voici les étapes de la coloration de Gram (Funke.2003).

- Préparation de l'échantillon : Une fine couche de la culture bactérienne est déposée sur une lame de microscope et laissée sécher à l'air.

- **Fixation** : La lame est ensuite chauffée doucement au-dessus d'une flamme pour fixer les bactéries à la surface de la lame. Cela permet aux bactéries de ne pas être emportées lors des étapes suivantes.
- **Coloration au violet de cristal** : La lame est recouverte d'une solution de violet de cristal (cristal violet), un colorant violet. Ce colorant se fixe aux parois cellulaires de toutes les bactéries.
- **Rinçage à l'iode** : Après la coloration au violet de cristal, la lame est rincée avec de l'iode. L'iode forme un complexe avec le violet de cristal, ce qui contribue à stabiliser la coloration dans les bactéries.
- **Décoloration** : La lame est ensuite délicatement rincée avec de l'alcool ou de l'acétone. Cette étape est cruciale, car elle va déterminer si les bactéries seront classées comme Gram positives ou Gram négatives. Les bactéries à Gram positives retiendront la couleur violette, tandis que les bactéries à Gram négatives la perdront.
- **Coloration à la safranine** : La lame est ensuite colorée avec de la safranine, un colorant rouge. Les bactéries à Gram négatif prendront cette couleur, tandis que les bactéries à Gram positif resteront violettes.
- **Lavage et séchage** : Après la coloration à la safranine, la lame est soigneusement lavée à l'eau et séchée.

Une fois les étapes terminées, les bactéries à Gram positif apparaîtront en violet (ou bleu-violet) sous le microscope, tandis que les bactéries à Gram négatif seront roses.

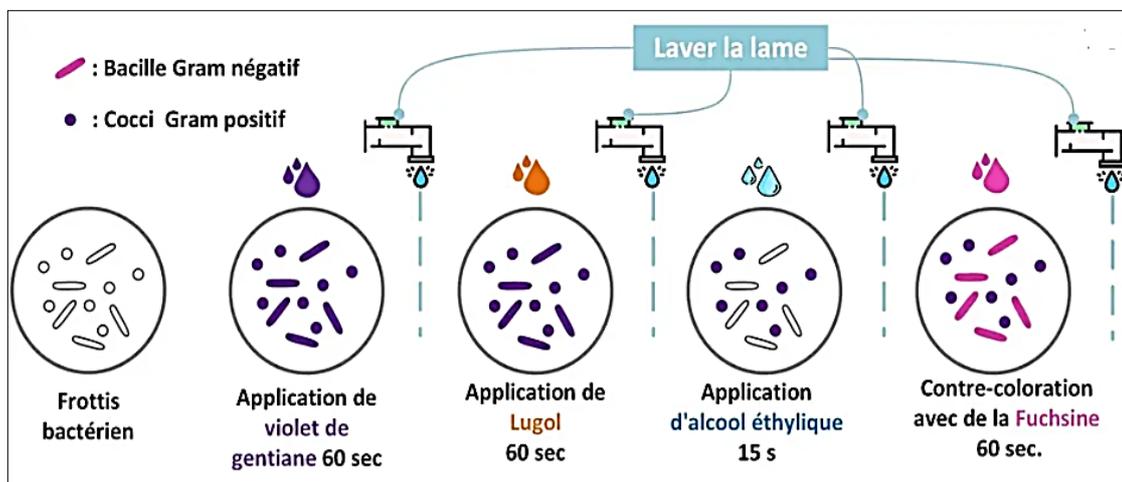


Figure 14. Coloration de Gram (anonyme 1).

4.2.2. Recherche de la catalase

La recherche de l'activité catalase est une technique courante en bactériologie pour différencier certains types de bactéries. La catalase est une enzyme qui décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, ce qui peut être utilisé comme un indicateur de la présence de cette enzyme dans une cellule bactérienne. Voici comment on recherche la catalase en bactériologie :

- Préparation de l'échantillon : Une culture bactérienne fraîche et pure est préparée. Il est important de s'assurer que l'échantillon ne contienne pas d'autres types de bactéries pour obtenir des résultats précis.
- Préparation de la lame de microscope : Une petite quantité de la culture bactérienne est prélevée à l'aide d'une boucle ou d'une pipette stérile. Cette quantité est déposée sur une lame de microscope propre.
- Ajout de peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) : Une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est déposée sur la culture bactérienne étalée sur la lame.
- Observation de la réaction : La réaction est observée visuellement. Si la bactérie produit de la catalase, une effervescence se produira immédiatement au contact du peroxyde d'hydrogène. Des bulles d'oxygène se formeront, ce qui est une indication positive de la présence de l'enzyme catalase.
- Contrôle positif et négatif : Pour valider les résultats, un contrôle positif (une bactérie connue pour être catalase positive) et un contrôle négatif (une bactérie catalase négative) sont utilisés.

4.2.3. Test de l'oxydase

La recherche de l'activité oxydase est une autre technique utilisée en bactériologie pour différencier et identifier certains types de bactéries. L'enzyme oxydase est impliquée dans la chaîne de transport d'électrons des bactéries, et sa présence peut être détectée à l'aide d'un réactif appelé réactif de Kovacs.

- Préparation de l'échantillon : Une culture bactérienne pure et jeune est préparée. Un résultat précis dépend de la pureté de la souche testée.
- Préparation de la lame : Une petite quantité de la culture bactérienne est déposée sur une zone propre de la lame de microscope.

- Application du réactif de Kovacs : Une goutte de réactif de Kovacs est déposée sur la zone où la culture bactérienne a été déposée. Le réactif de Kovacs contient une substance chimique appelée diméthyl-p-phénylènediamine (dans notre travail, des bandelettes préalablement imprégnées de ce réactif ont été directement utilisées ; l'échantillon a donc été déposé sur la bandelette directement).
- Observation de la réaction : Si la bactérie produit l'enzyme oxydase, il y aura un changement de couleur. Habituellement, le réactif de Kovacs vire de l'incolore au rose ou au violet en présence d'oxydase. La réaction peut se produire en quelques secondes à quelques minutes.
- Témoins positif et négatif : Pour valider les résultats, un contrôle positif (une bactérie connue pour être oxydase positive) et un contrôle négatif (une bactérie oxydase négative) sont utilisés.

4.3. Etude de l'activité antibactérienne

4.3.1. Bactéries cibles

Dans le cadre de notre étude, deux souches bactériennes, présumées responsables d'infection urinaires chez des femmes adultes ont été utilisées comme cibles. Les souches ont été isolées à partir de prélèvements vaginaux réalisés le 3 Mars 2023 au niveau de l'hôpital de Mohamed Boudiaf de Bouira. Les deux souches ont été identifiées (par le laboratoire d'analyse du même hôpital) comme appartenant aux deux espèces : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

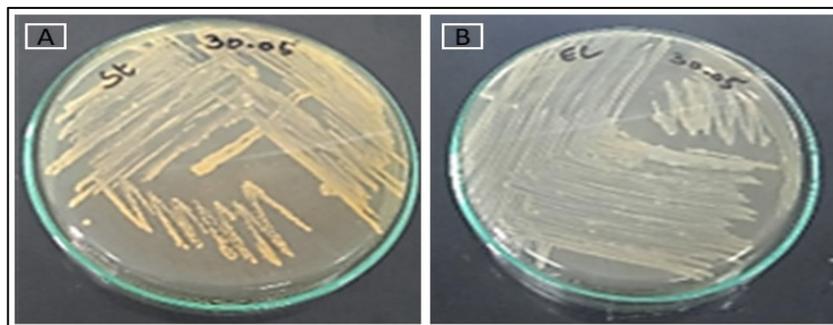


Figure 15. Bactéries cibles : *S. aureus* (A) ; *E. coli* (B) (originale).

4.3.2. Activité antibactérienne sur milieu solide

a. Technique des cylindres d'agar

La recherche des métabolites antibactériens produits par les actinomycètes isolés dans le cadre de ce travail a été effectuée par la technique des cylindres d'agar (Tortorano *et al.*,

1979). La technique consiste à prélever des cylindres de 6mm de diamètre des cultures d'actinomycètes à tester (âgées de 14 jours) et de les déposer sur milieu des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture ISP2 et préalablement ensemencés en surface avec l'une des bactéries cibles (culture jeune standardisée à 0.5 MF). Les boîtes sont d'abord laissées au réfrigérateur pendant 1h (pour donner au disque d'agar le temps de diffuser son contenu métabolique dans le milieu) puis incubées à 37°C pendant 24h. Les zones d'inhibition autour des disques d'agar sont mesurées à la fin de la période d'incubation.

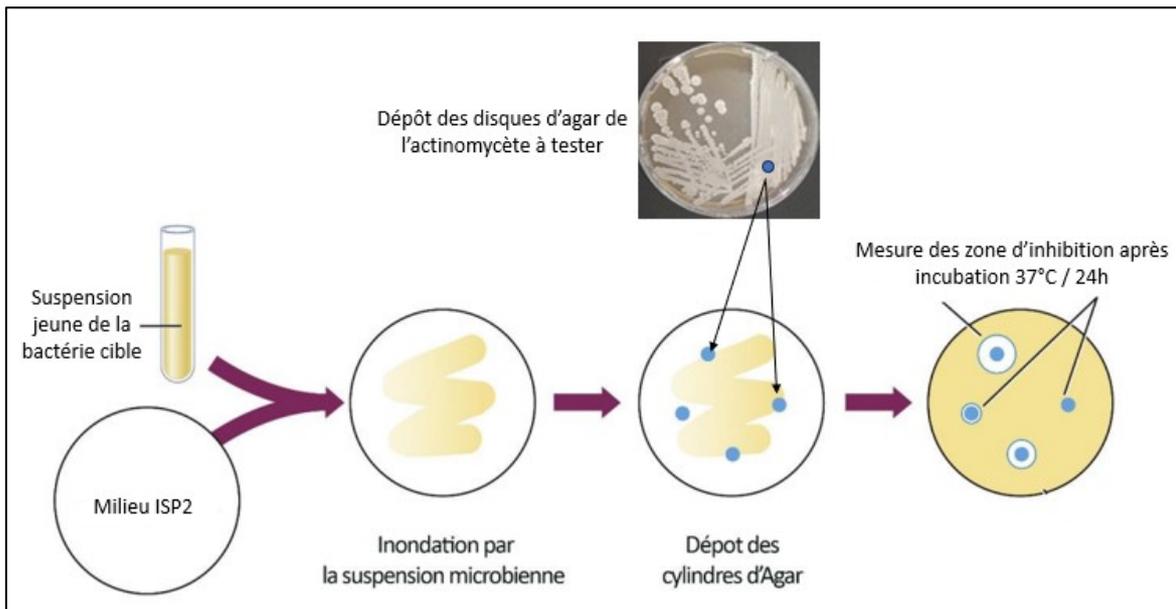


Figure 16. Technique des cylindres d'agar en schéma (originale).



Figure 17. Technique des cylindres d'agar (originale).

b. Technique de diffusion en puits

La technique de diffusion en puits, également appelée méthode de diffusion en gélose avec puits, est couramment utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de différents

microorganismes ou substances, telles que les bactéries, les métabolites bactériens, les agents antimicrobiens, les extraits de plantes etc. (Balouiri *et al.*, 2016 ; Gacem *et al.*, 2020).

Les actinomycètes ayant montré une activité antibactérienne remarquable à travers la technique des cylindres d'agar sont sélectionnés pour être testés à travers la technique de diffusion en puits. Ils sont donc repiqués sur le milieu ISP2 liquide et incubés pendant une période de 20 jours afin de leur donner suffisamment de temps pour produire d'éventuelles molécules à activités antibactériennes. Cette technique permet de tester à la fois :

- Les actinomycètes sélectionnés : dans une Eppendorf stérile 1 mL de la suspension bactérienne de l'actinomycète à tester est obtenue après centrifugation (3000 rpm pendant 10min) du même volume (1 mL) de la culture de l'actinomycète âgée de 20 jour. Le surnageant est écarté et le culot est resuspendu dans 1 mL d'eau physiologique stérile puis utilisé pour l'ensemencement des puits.
- Les métabolites des actinomycètes sélectionnés : 1 mL du surnageant de la suspension bactérienne de l'actinomycète à tester est obtenue après centrifugation (3000 rpm pendant 10min) du même volume (1 mL) de la culture de l'actinomycète âgée de 20 jour. Le culot est éliminé et le surnageant est récupéré dans un Eppendorf stérile puis stériliser par filtration à travers une membrane millipore (0.22 µm).



Figure 18. Centrifugation des cultures d'actinomycètes et préparation des surnageants (originale).

Des boîtes de Pétri contenant de la gélose ISP2 sont ensemencées chacune avec 100 µl d'une suspension jeune (environ 0.5 MF) de la bactérie cible (*S. aureus* ou *E. coli*). Ensuite, des trous de 6 mm de diamètre sont réalisés dans l'agar de manière aseptique à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Par la suite, des volumes de 20 µL de l'agent antimicrobien ou du surnageant préalablement préparé sont introduits séparément dans les puits ainsi créés.

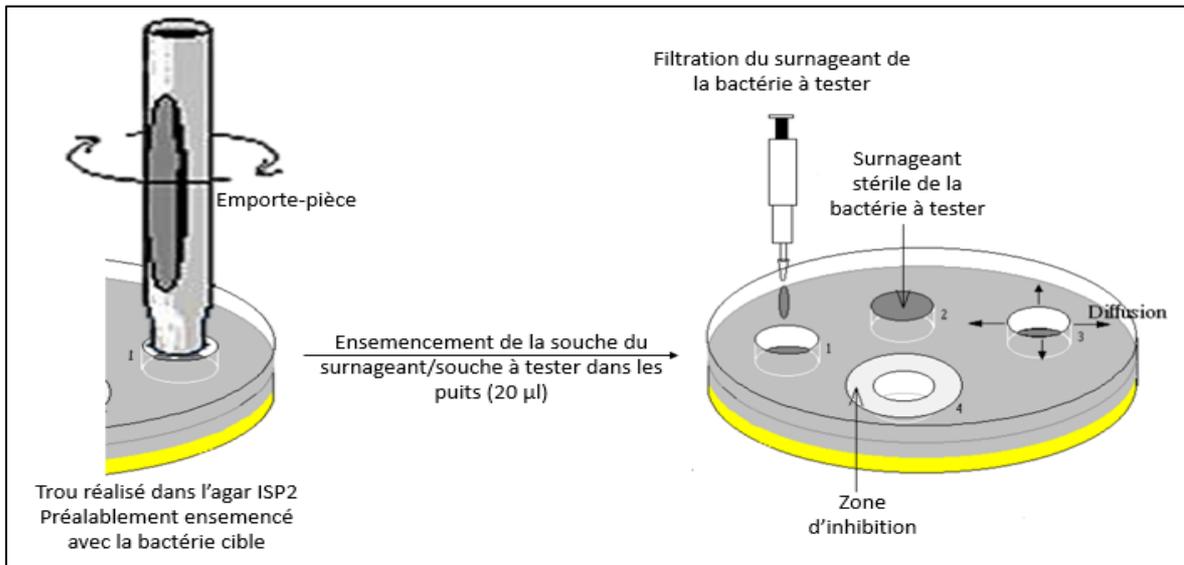


Figure 19. La technique de diffusion en puits (originale).

Les boîtes sont ensuite laissées au repos au réfrigérateur pendant 1h, puis incubées à 37°C pendant 24h (Balouiri *et al.*, 2016 ; Gacem *et al.*, 2020).

Des zones d'inhibition sont observées autour des puits contenant les actinomycètes ou les extraits d'actinomycètes possédant des propriétés antibactériennes contre la souche testée. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés et enregistrés (Petrosyan *et al.*, 2003).

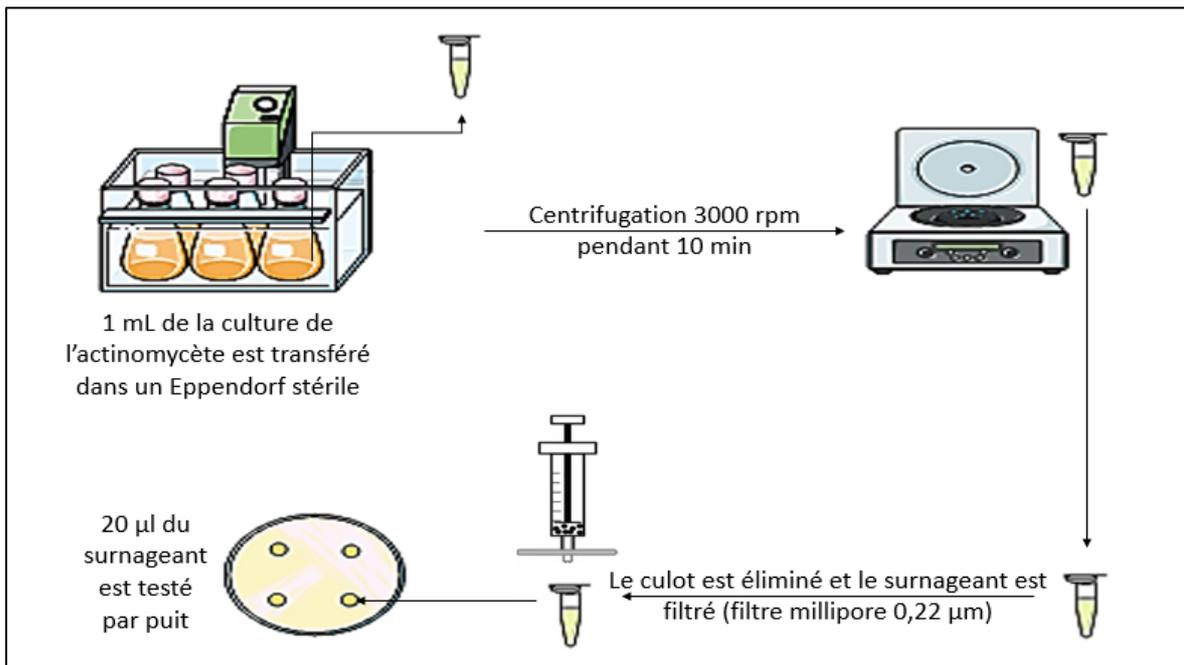


Figure 20. Préparation du surnageant (originale).

c. Technique des disques imprégnés de surnageant

Afin de tester l'activité des métabolites actinomycétales sur milieu solide. La technique des disques imprégnés des surnageants bactériens a été également réalisée. Elle

consiste à remplacer les disques d'agar avec des disques en papier Wattman (n° 1) de 4 mm de diamètre. Les disques sont d'abord imprégnés de 20 µl du surnageant filtré de l'actinomycète à tester (culture âgée de 20 jour filtrée à travers un filtre millipore 0.22 µm). Les disques sont par la suite déposés sur des boîtes de Pétri contenant du milieu ISP2 et préalablementensemencées en surface avec la bactérie cible.

4.3.3. *Activité antibactérienne sur milieu liquide*

Les mêmes surnageants, préalablement préparés pour la technique de diffusion en puits ont été utilisés afin de déterminer l'effet des métabolites secondaires produits par les actinomycètes sélectionnés sur la vitesse de croissance des deux bactéries cibles en milieu liquide.

Des cultures jeunes des deux bactéries cibles servent à ensemencer des tubes à essais contenant 9 mL du milieu de culture ISP2 à raison de 20 µL (densité standardisée à 05 MF). 200 µL du surnageant de l'actinomycète à tester sont ajoutés à la culture cible. La densité optique initiale du mélange est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre (DO = 600nm). Le mélange est par la suite incubé à 37 °C.

L'évolution de l'absorbance des souches cibles en présence des surnageants à tester est déterminée (DO = 600nm) à deux reprises après des durées d'incubation : T1=2h et T2=4h. Un témoin sans surnageant (milieu ISP2 + Souche cible) est réalisé en parallèle à chaque fois.

La présence d'une activité inhibitrice exercée par le surnageant se traduit par une évolution plus lourde de l'absorbance par rapport au témoin.

5. **Analyse statistique**

L'analyse statistique des résultats de l'activité des surnageant sur milieu liquide a été analysé en utilisant le test statistique a été réalisé à l'aide du logiciel GraphPad Prism v. 9.3.6 à travers le test statistique Two-way ANOVA (Fisher LSD test).

Chapitre III

Résultats

Les résultats sont exprimés selon le même ordre des tests et décrits dans la partie « matériel et méthodes » afin d'assurer un flux de lecture flexible et facile à suivre.

1. Propriétés physico-chimiques des échantillons de sol

1.2. PH

Tous les échantillons examinés montrent des niveaux de pH situés dans une plage légèrement acide à légèrement alcaline. Les mesures de pH-H₂O varient de 6,30 pour l'échantillon El Oua à 8,11 pour l'échantillon Bou. En outre, l'échantillon Oua affiche le pH-KCl le plus bas (7,56), tandis que l'échantillon Dje se distingue par le pH-KCl le plus élevé (8,4) (Tableau 3).

Tableau 3. PH-H₂O et pH-KCl des échantillons

	PH-H ₂ O		PH-KCl	
Ghr	7.75	± 0.18	8.07	± 0,07
Dje	7.87	± 0.04	8.4	± 0.10
Bis	7.55	± 0.30	7.61	± 0.13
Izy	7.44	± 0.04	7.895	± 0.01
Toug	7.05	± 0.40	7.95	± 0.14
Bou	8.11	± 0.02	8.035	± 0.08
El Oua	6.30	± 0.14	7.93	± 0.04
Oua	7.42	± 0.11	7.565	± 0.04

1.3. Matière organique

Le tableau 4 affiche les valeurs de la matière organique totale au des huit échantillons des sols étudiés.

Les échantillons Ghr, Dje, Bis et Izy se caractérisent par des quantités relatives en matière organique plus importantes que celles mesurées pour les échantillons Toug, Bou, El Oua et Oua. Pour les premiers, la matière organique totale varie de 0.16 pour l'échantillon Izy à 0.45% pour l'échantillon Bis. Pour les derniers la MOT varie de 0.04 (El Oua) à 0.065% (Oua et Toug).

Tableau 4. Matière organique totale des 8 échantillons

	MOT (%)	
Ghr	0.39	± 0.01
Dje	0.42	± 0.04
Bis	0.45	± 0.04
Izy	0.165	± 0.05
Toug	0.065	± 0.04
Bou	0.045	± 0.04
El Oua	0.04	± 0.03
Oua	0.065	± 0.04

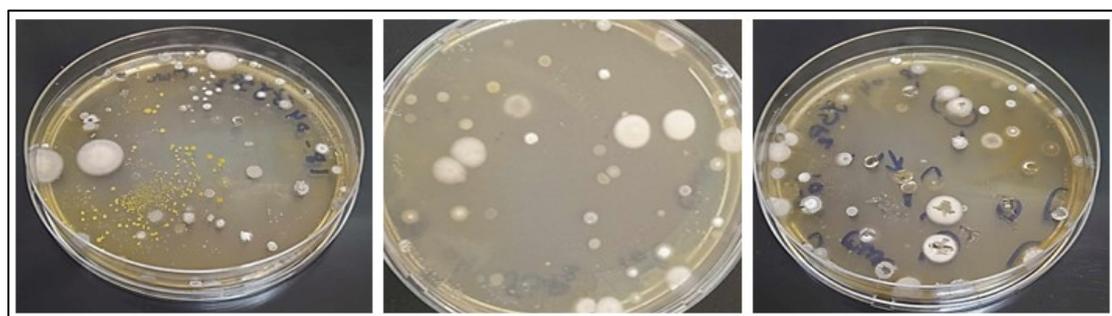
2. Isolement et sélection des actinomycètes

Après 7 à 14 jour d'incubation, des colonies typiques d'actinomycètes sont apparues sur les trois milieux d'isolements utilisés (Milieu ISP2, Milieu Bennet, Milieu SCA). Ces colonies sont reconnues par leurs aspects macroscopiques (colonies dures incrustées dans la gélose : figure 22) et microscopiques (aspects filamenteux ramifier). Après purification, 62 isolats ayant des profils morphologiques de type actinomycétal ont été sélectionnés. Le nombre des isolats d'actinomycètes obtenu à partir de chacune des (8) échantillons du sol sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5. Nombre d'actinomycètes obtenu par échantillon

	Bis	Bou	Dje	El Oua	Ghr	Toug	Oua	Izy
Souches	7	0	0	0	5	0	30	20

Un total de 60 souches sont isolés à partir les 8 régions. Le plus grand nombre d'isolat est obtenue à partir de Illizi (20 souches) et Ouargla (28souches).

**Figure 21.** Cultures polymicrobiennes issues des 8 échantillons (originale).

3. Purification et conservation des souches

La purification des souches a été réalisée sur le milieu ISP2 par le biais de réensemencements successifs en utilisant la méthode des stries croisés à partir de

colonies isolées jusqu'à obtention boîtes pures. Chacun des isolats purifiés présente un profil de croissance distinctif des actinomycètes (une longue période d'incubation), à l'exception des souches S5 BIS, S15 OUR, S33 IZY et S7 OUR. Ces dernières qui ont manifesté une croissance relativement rapide en l'espace de deux jours, les autres isolats ont affiché une vitesse de croissance modérée (début d'apparition de colonies après une période de quatre jours d'incubation).

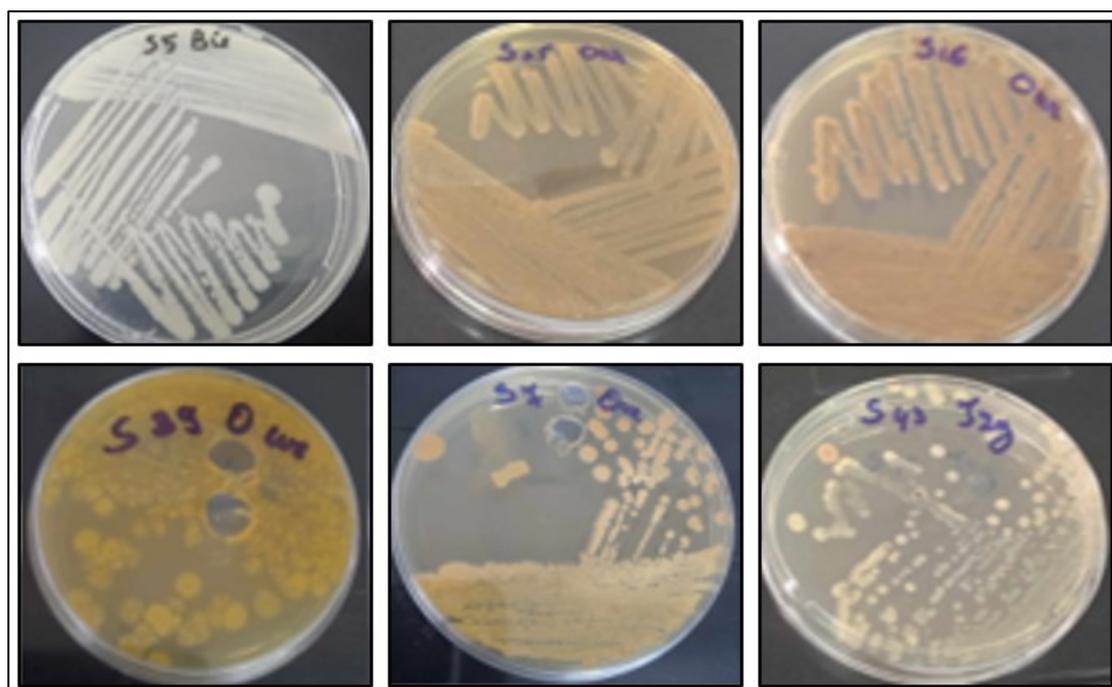


Figure 22. Quelques souches d'actinomycètes purifiées à partir des différents échantillons (originale).

4. Test préliminaire de l'activité antibactérienne

Dans ce test, un affrontement direct entre des disques d'agar contenant l'actinomycète à tester avec une culture en surface de la bactérie cible (*Staphylococcus aureus* ou *Escherichia coli*). Les 60 souches isolées étaient soumises à ce criblage initial et les résultats obtenus sont exprimés en diamètre d'inhibition (mm) dans les tableaux 6, 7, 8 et 9.

Tableau 6. Activité antibactérienne préliminaire des souches de l'échantillon Our.

Souche	Activité vis-à-vis de <i>S. aureus</i> (mm)	Activité vis-à-vis de <i>E. coli</i> (mm)
S10 Our	11	11
S11 Our	-	-
S12 Our	-	11
S13 Our	-	-
S14 Our	14	11

S15 Our	13	-
S16 Our	15	12
S17 Our	17	12
S19 Our	10	12
S19 Our	-	-
S3 Our	10	11
S30 Our	-	-
S31 Our	-	-
S34 Our	-	-
S35 Our	10	-
S36 Our	10	18
S37 Our	-	10
S38 Our	8	12
S39 Our	22	14
S4 Our	13	11
S5 Our	24	-
S50 Our	12	-
S52 Our	12	-
S54 Our	-	-
S55 Our	-	-
S6 Our	-	12
S7 Our	24	-
S8 Our	1	-

* (- : Aucune activité inhibitrice)

Parmi les 28 isolats de l'échantillon Our, 22 ont présenté une activité inhibitrice sur au moins l'une des deux bactéries cibles. Les isolats S5 Our et S7 Our ont démontré la plus grande capacité inhibitrice vis-à-vis de la souche *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition de 24 mm autour du disque d'agar. L'isolat S36 Our s'avère la plus efficace contre la bactérie cible *E. coli*, avec un diamètre d'inhibition de 18 mm (Tableau 6).

Tableau 7. Activité antibactérienne préliminaire des souches de l'échantillon Izy.

Souche	Activité vis-à-vis de <i>S. aureus</i> (mm)	Activité vis-à-vis de <i>E. coli</i> (mm)
S43 Izy	10	14
S44 Izy	-	-
S40 Izy	-	-
S42 Izy	-	-
S14 Izy	20	-
S5 Izy	34	-

S6 Izy	20	-
S33 Izy	18	-
S21 Izy	-	-
S16 Izy	-	-
S26 Izy	-	-
S34 Izy	-	-
S16 Izy	-	-
S41 Izy	-	-
S7 Izy	-	-
S36 Izy	-	-
S15 Izy	-	-
S9 Izy	-	-
S3 Izy	-	-
S11 Izy	-	-

* (- : Aucune activité inhibitrice)

Concernant l'échantillon Bis, les deux isolats S4 Bis et S5 Bis se sont avérés actifs contre la bactérie pathogène *S. aureus*. Par ailleurs, la bactérie *E. coli* a été sensible aux disques d'agar des souches S4 Bis, S6 Bis et S7 Bis avec des diamètres d'inhibition de 14, 12 et 12 mm, respectivement.

Tableau 8. Activité antibactérienne préliminaire des souches de l'échantillon Bis.

Souche	Activité vis-à-vis de <i>S. aureus</i> (mm)	Activité vis-à-vis de <i>E. coli</i> (mm)
S4 Bis	10	14
S5 Bis	16	-
S53 Bis	-	-
S6 Bis	-	12
S7 Bis	-	12
S8 Bis	-	-
S9 Bis	-	-

* (- : Aucune activité inhibitrice)

Seul l'isolat S1 Ghr de l'échantillon Ghr a révélé une activité inhibitrice de la souche *S. aureus*. Cependant, aucun des actinomycètes de cet échantillon n'a exercé une activité inhibitrice de la croissance de la souche *E. coli*.

Tableau 9. Activité antibactérienne préliminaire des souches de l'échantillon Ghr.

Souche	Activité vis-à-vis de <i>S. aureus</i> (mm)	Activité vis-à-vis de <i>E. coli</i> (mm)
S16 Ghr	16	-

S14 Ghr	-	-
S15 Ghr	-	-
S13 Ghr	-	-
S17 Ghr	-	-

* (- : Aucune activité inhibitrice)

Par rapport à l'échantillon Izy, seuls 5 des 20 actinomycètes purifiés ont montré une activité inhibitrice vis-à-vis de la bactérie *S. aureus* (S5 Izy, S6 Izy, S14 Izy, S33 Izy et S34 Izy). Cependant, seul l'isolat S43 Izy s'est avéré actif contre la bactérie *E. coli* avec un diamètre d'inhibition de 14 mm (Tableau 7).

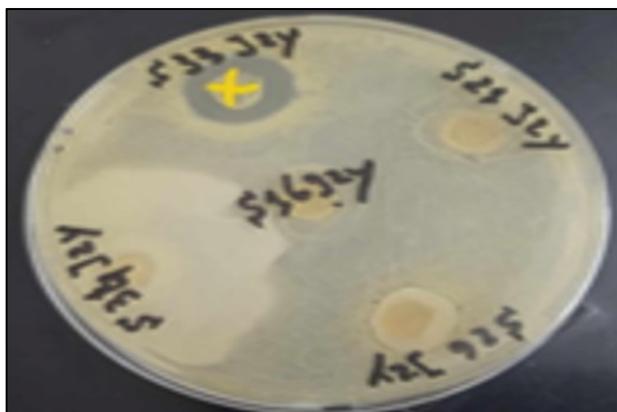


Figure 23. Activité de l'isolat S33 Izy vis-à-vis de la souche *E. coli* sur le milieu ISP2 (originale).

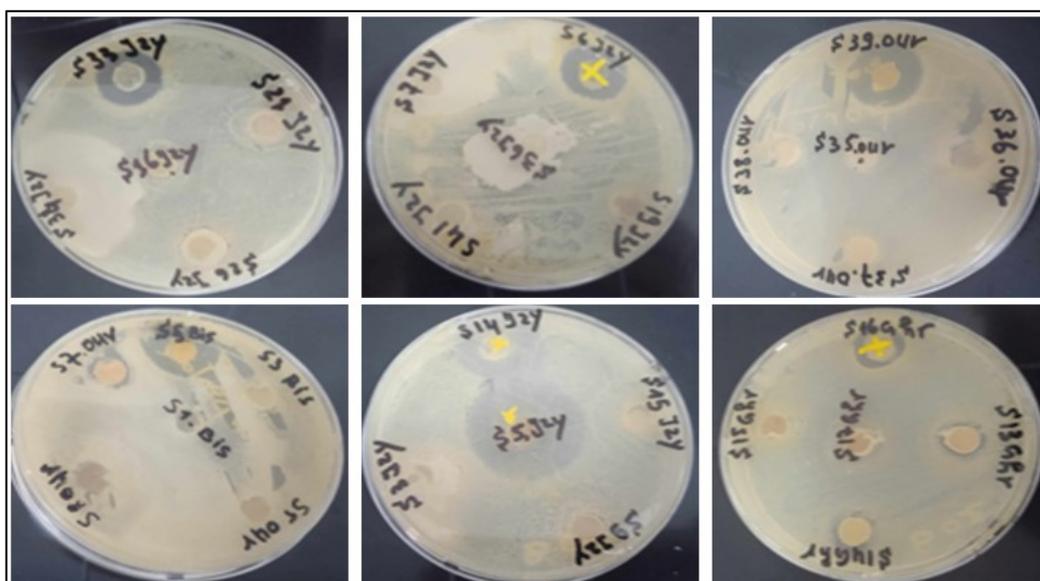


Figure 24. Activité de quelques isolats vis-à-vis de la souche *S. aureus* sur le milieu ISP2 (originale).

Sur la base de ce premier criblage, seuls les 10 isolats S6 Izy, S39 Our, S15 Our, S7 Our, S16 Our, S5 Bis, S33 Izy, S14 Izy, S43 Izy et S5 Izy ont été sélectionnés

pour être caractérisé et soumis à d'autres tests plus approfondis afin de confirmer l'origine métabolique de leurs activités antibactériennes vis-à-vis de la souche *S. aureus*.

5. Caractérisation des isolats sélectionnés

5.2. Caractérisation macroscopique

Les colonies d'actinomycètes sont reconnues par leurs aspects macroscopiques (colonies dures, souvent poudreuses et incrustées dans la gélose) et microscopiques (aspects filamenteux ramifié). Le tableau x détermine les propriétés des 10 isolats sélectionnés

Tableau 10. Caractères macromorphologiques des isolats sélectionnés

	MS	Contour	Élévation	Texture	Couleur
S6 Izy	Présent	Irrégulières	Aplaties	Poudreuses	Beige
S39 Our	Présent	Irrégulières	Bombée	Poudreuses	Blanche
S15 Our	Présent	Irrégulières	Bombée	Poudreuses	Blanche
S7 Our	Présent	Régulières	Bombée	Poudreuses	Blanche
S16 Our	Présent	Irrégulières	Bombée	Poudreuses	Gris
S5 Bis	Présent	Régulières	Aplaties	Muqueuse	Gris
S33 Izy	Présent	Régulières	Aplaties	Poudreuses	Beige
S14 Izy	Présent	Irrégulières	Aplaties	Poudreuses	Doré
S43 Izy	Présent	Irrégulières	Bombée	Poudreuses	Blanche
S5 Izy	Présent	Irrégulières	Aplaties	Poudreuses	Marron

5.3. Coloration de Gram

Les résultats des observations microscopiques des isolats après coloration de Gram nous a permis, en plus de la détermination du type de Gram, d'apprécier un certain nombre de caractères microscopiques des actinomycètes (Tableau 10), ces caractères montrent la morphologie des filaments et l'agencement des spores, sachant que tous les isolats se sont avérés Gram positif (figure 25).

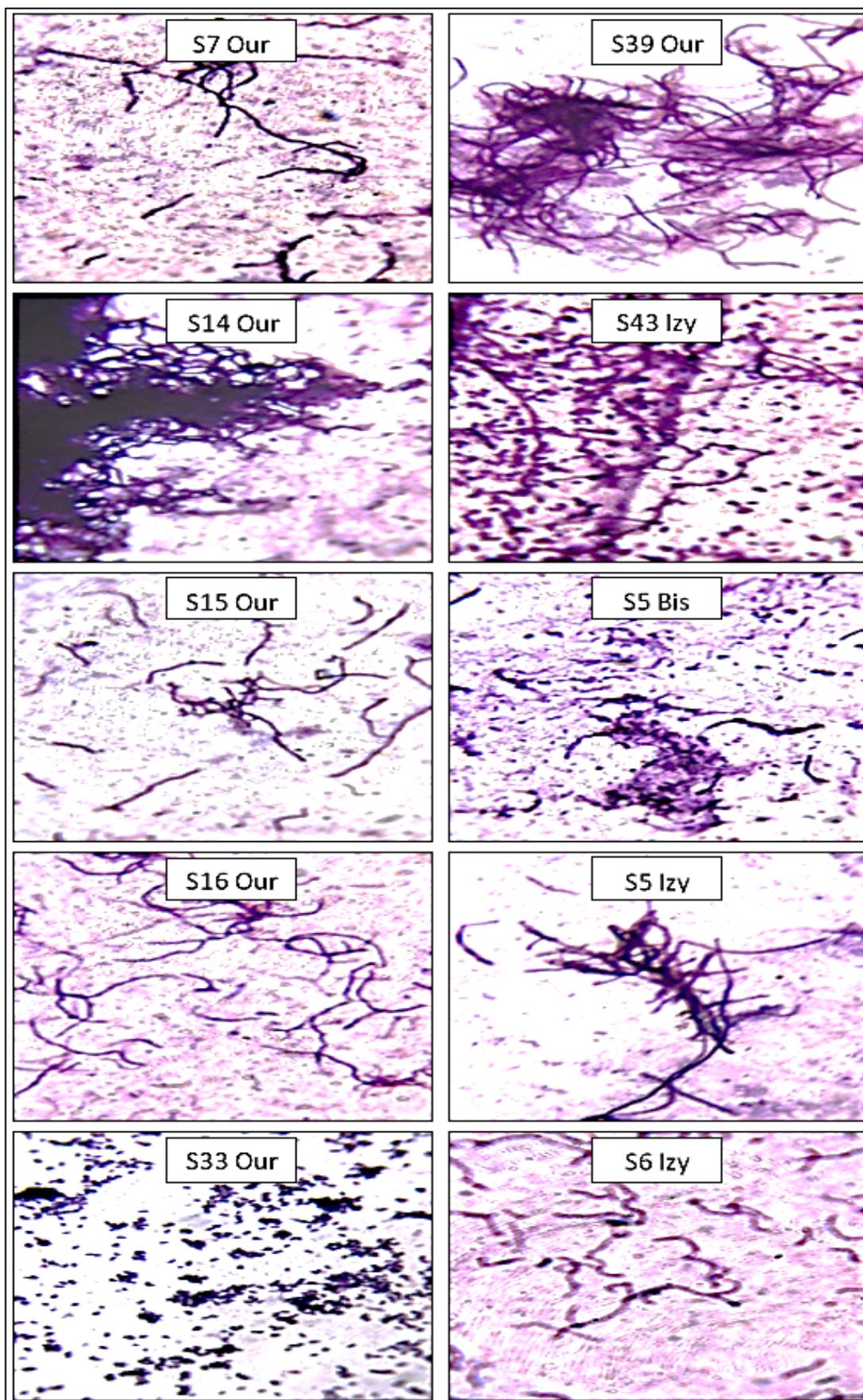


Figure 25. Observation microscopique après coloration de Gram des 10 isolats sélectionnés (Gr×100).

Tableau 11. Caractères micromorphologiques des dix isolats sélectionnés

	Observation microscopique
S14 IZY	Filaments longs, avec des spores regroupées en amas.
S6 IZY	Filaments longs, avec des spores isolées.
S39 OUR	Filaments courts, avec des spores isolées.
S15 OUR	Filaments longs, avec des spores isolées.
S7 OUR	Filaments courts, avec des spores isolées.
S16 OUR	Filaments longs, avec absence des spores.
S5 BIS	Filaments courts, avec longue chaîne des spores.
S33 IZY	Absence des filaments, avec des spores regroupées en amas.
S43 IZY	Filaments longs et fins, avec des spores regroupées en amas.
S5 IZY	Filaments courts, avec des spores isolées.

5.4. Recherche de la catalase et de l'oxydase

L'ensemble des isolats sélectionnés sont des souches positives pour la catalase, à l'exception de l'isolat S39 Our. De même, l'ensemble des isolats sélectionnés se sont avérés positifs pour l'oxydase à l'exception de l'isolat S6 Izy (Tableau 12, Figure 26 et 27).

Tableau 12. Résultats des tests de la catalase et de l'oxydase

	Catalase	Oxydase
S33 IZY	+	+
S14 IZY	+	+
S5 IZY	+	+
S16 OUR	+	+
S5 BIS	+	+
S6 IZY	+	-
S7 OUR	+	+
S15 OUR	+	+
S39 OUR	-	+
S43 IZY	+	+

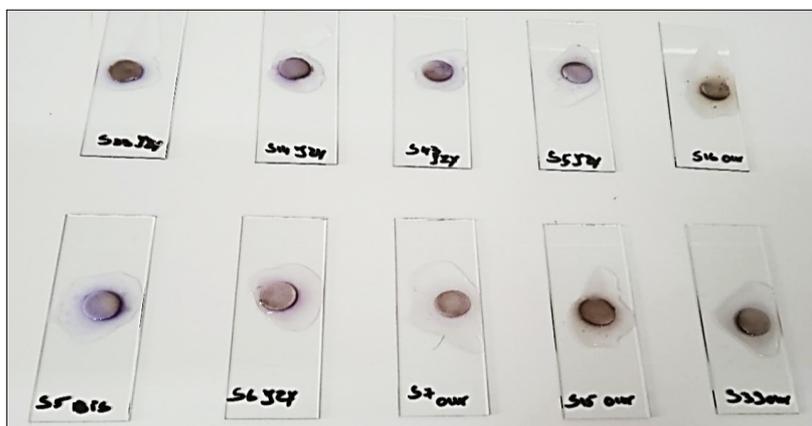


Figure 26. Résultats du test de l'oxydase (originale).

Les résultats des tests de catalase ont révélé que toutes les souches présentent une réaction positive à la catalase, à l'exception de souche S39 OUR qui a montré une réaction négative à cette enzyme.

Les résultats du test d'oxydase ont révélé que l'ensemble des souches ont démontré une réaction positive vis-à-vis de l'oxydase, à l'exception de la souche S6 IZY qui a manifesté une réaction négative vis-à-vis de cette enzyme oxydative.

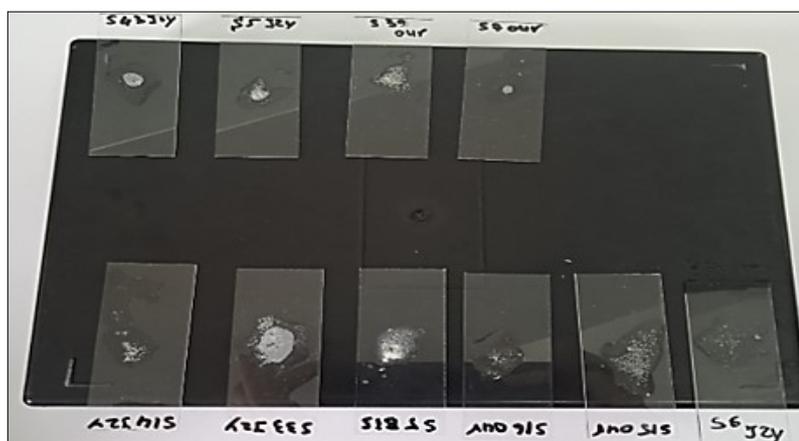


Figure 27. Résultats du test de la catalase (originale).

6. Etude de l'activité antibactérienne des isolats sélectionnés

Dans cette partie, seules les souches d'actinomycètes ayant données des résultats positifs sont mentionnées à chaque test. Les résultats non exprimés correspondent donc à une absence d'activité inhibitrice.

6.2. Technique de diffusion en puits

Parmi les 10 isolats sélectionnés, seules les 4 souches S7 Our, S39 Our, S5 Bis et S5 Izy ont montré une activité inhibitrice de la bactérie pathogène *S. aureus* à travers la technique de diffusion en puits.

Tableau 13. Résultats de technique de diffusion en puits.

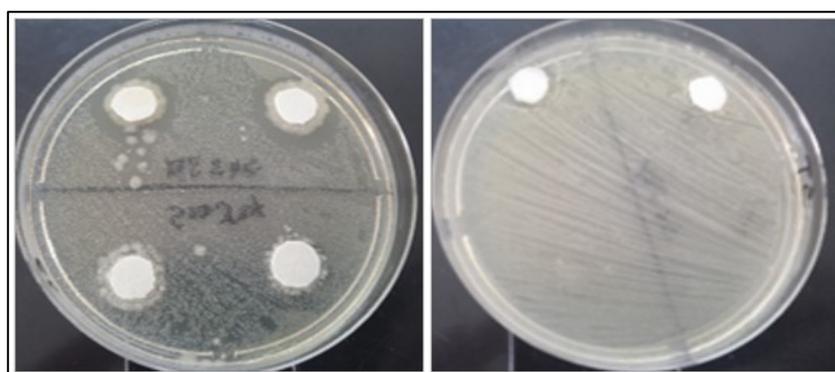
	Activité (mm) vis-à-vis de <i>S. aureus</i>
S7 OUR	18
S39 OUR	17
S5 BIS	12
S5 IZY	15

6.3. Technique des disques imprégnés de surnageant

Seules les surnageants des deux isolats S43 Izy et S5 Izy ont exercé un effet inhibiteur de la souche pathogène *S. aureus* une fois testé par la méthode des disques imprégnés (tableau 14).

Tableau 14. Activité antibactérienne par technique des disques.

	Activité (mm) vis-à-vis de <i>S. aureus</i>
S43 IZY	20
S5 IZY	12

**Figure 28.** Activité des surnageants contre *S. aureus* (Technique des disques imprégnés).

6.4. Activité antibactérienne du culot

Seules les deux souches S39 Our et S6 Izy ont eu un effet inhibiteur de la bactérie pathogène *S. aureus* une fois testées par la méthode du culot (Tableau 15).

Tableau 15. Résultats de l'activité antibactérienne des culots

	Activité (mm) vis-à-vis de <i>S. aureus</i>
S39 Our	10
S6 Izy	24

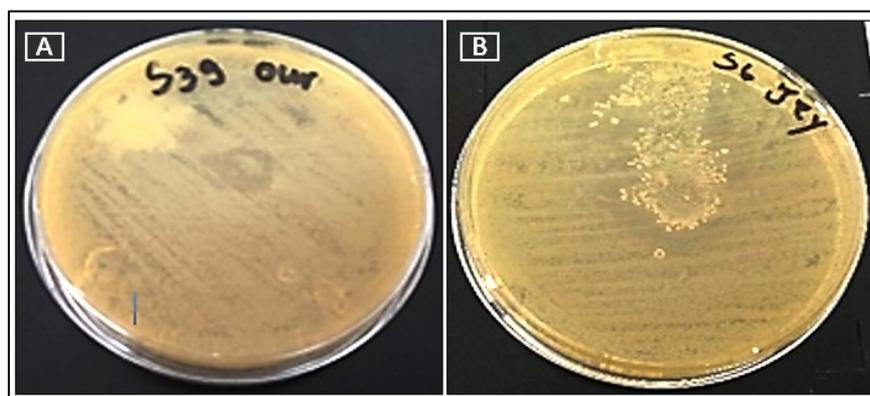


Figure 29. Activité des culots des deux souches S39 (A) Our et S6 Izy (B) contre la souche cible *S. aureus*.

6.5. Activité antibactérienne sur milieu liquide

L'activité des dix isolats sélectionnés a été évaluée sur milieu liquide contre la souche pathogène *S. aureus*. Le surnageant de la souche S5 Izy, a fortement inhibé la croissance du pathogène *S. aureus* pendant les deux premières heures d'incubation. Cependant, la souche *S. aureus* a repris sa croissance pour atteindre des valeurs d'absorbance supérieures à ceux du témoin au bout de la quatrième heure d'incubation (Figure 30).

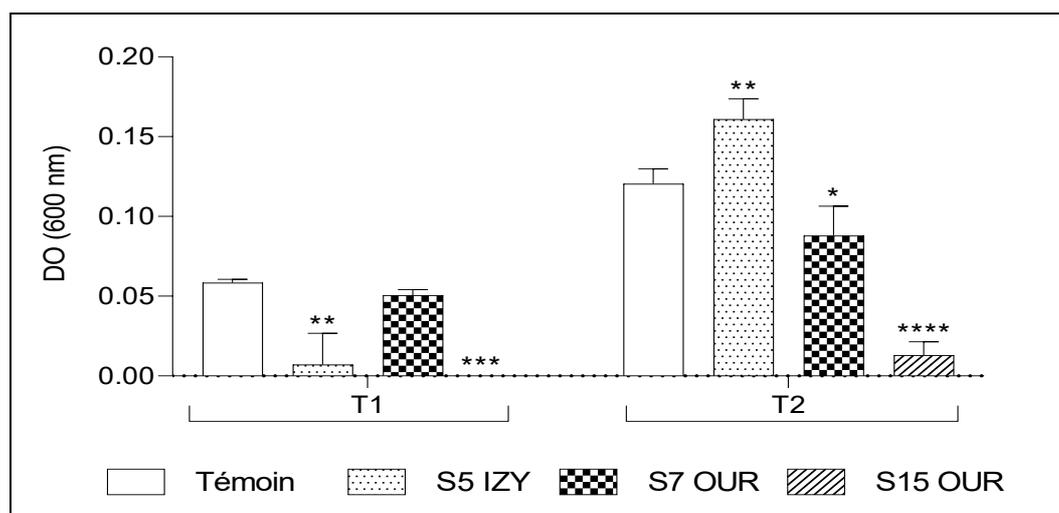


Figure 30. Evolution de l'absorbance de la souche cible *S. aureus* en présence des surnageants des isolats S5 IZY, S7 OUR, S15 OUR après un temps d'incubation T1=2h et T2= 4h. Significativité statistique des différences : * ($p \leq 0.05$), ** ($p \leq 0.01$), *** ($p \leq 0.005$), **** ($p \leq 0.001$).

Pendant les deux premières heures d'incubation, le surnageant de l'isolat S7 Our n'a exercé aucune activité inhibitrice de la croissance de la souche *S. aureus*. Ce résultat s'est traduit par des valeurs d'absorbance similaires à ceux du témoin incubé en absence de surnageant. Par contre, ce dernier a fortement inhibé la croissance du pathogène *S.*

aureus au bout de 4 heures d'incubation. Comparé aux deux surnageant des deux isolats susmentionnés, le surnageant de l'isolat S15 Our à exercer une forte inhibition de la croissance de la souche *S. aureus* sur milieu liquide sur tout la longueur de la période d'incubation. Ces résultats sont traduits par une évolution très lente de l'absorbance des tubes contenant la souche *S. aureus* en présence du surnageant de l'actinomycète S15 Our (Figure 30).

7. Discussion

Ce travail représente une initiation à l'isolement et la sélection des actinomycètes producteurs d'antibiotiques à partir de terrains sahariens de l'Algérie. Les bactéries isolées dans le cadre de cette étude ont été testé sur deux souches pathogène isolées à partir d'échantillons clinique au niveau de l'hôpital de la Wilaya de Bouira.

Les actinomycètes se distinguent par leur capacité à être de bons producteurs d'antibiotiques, tels que les oligosaccharides, les tétracyclines, les macrolides, le chloramphénicol et diverses autres molécules antifongiques (**Larpent et Sanglier, 1989**). Des antibiotiques tels que la streptomycine produite, le chloramphénicol, ainsi que l'auréomycine et la tétracycline issues sont tous produits des actinomycètes : *Streptomyces griseus*, *Streptomyces venezuelae* et *Streptomyces aureofaciens*, respectivement. Outre les antibiotiques, les actinomycètes génèrent des acides (chez *Streptomyces*), des alcools, comme l'isobutylacétate, et des composés tels que l'huile de géosmine isolée de l'espèce *Streptomyces griseus*. Ils sont également responsables de la production d'autres substances telles que des agents antibactériens et antitumoraux (actinomycine, adriamycine, rebeccamycine, mitomycine et dannomycine), des insecticides (rnikkomycine), des pesticides (antimycine A), des herbicides (phinotricine), ainsi que des composés à la fois immunosuppresseurs et immunostimulants (tels que la rapamycine et le FK500) (**Gräfe, 1990 ; Moore et al., 1999 ; Petrosyan et al., 2003**).

Les actinomycètes sont donc considérés comme une source importante d'antibiotiques naturels. La recherche de nouvelles souches capables de produire des molécules de ce type est donc d'une importance capitale afin de faire face au fléau des résistances bactériennes aux antibiotiques déjà existants.

Les sols du Sahara présentent une faible teneur en eau et une pluviométrie souvent inférieure à 100 mm par an. Les températures extrêmement élevées et la rareté de

l'humus caractérisent également ces sols. Des études antérieures ont établi de manière concluante que les sols désertiques ne sont pas dépourvus de vie ; au contraire, ils abritent une grande diversité de micro-organismes. Parmi ces micro-organismes, les actinomycètes occupent une place centrale. Leur présence est particulièrement marquée dans ces écosystèmes extrêmes, comme en témoignent les travaux de **Fecher et Kiliane (1940)**.

Les sols sahariens sont donc soumis à des contraintes environnementales sévères, notamment des températures élevées, des niveaux de sécheresse élevés et des conditions de salinité variables. Les actinomycètes, grâce à leur adaptation à ces conditions extrêmes, pourraient posséder des mécanismes uniques de production de composés bioactifs, dont certains pourraient avoir des propriétés antibactériennes (**Grover et al., 2016**).

Les données présentées dans ce travail révèlent une répartition hétérogène des actinomycètes présents dans les échantillons étudiés. Cette différence peut être attribuée aux différences dans les propriétés physicochimiques des échantillons elles même (pH et matière organique). Ces différences exercent une influence significative sur l'abondance des actinomycètes (**Hop et al., 2012 ; Adegboye et al., 2012**). Selon les travaux de **Lee et Hwang (2002)**, les deux principaux facteurs écologiques qui façonnent la diversité des actinomycètes dans le sol sont le pH et la teneur en matière organique. D'autres paramètres, tels que la température du sol, la nature du sol, la composition végétale et la localisation géographique, jouent également un rôle déterminant dans cette diversité (**Adegboye et al., 2012**).

Dans ce travail, certains des actinomycètes isolés se sont avérés aptes à produire des pigments diffusibles sur milieu gélosé. La production des pigments est une caractéristique très importante pour les Actinomycètes. (Shirling et Gottlieb, 1972) considère la pigmentation des actinomycètes comme un critère de leur classification. La pigmentation diffusible des actinomycètes est souvent le résultat de la libération de substances bioactives (**Margalith, 1992**).

La majorité des actinomycètes isolés dans le cadre de ce travail ont montré une activité antimicrobienne contre au moins un microorganisme test utilisé (*Staphylococcus aureus* et/ou *Escherichia coli*). En effet plusieurs travaux ultérieurs

ont corroboré le pouvoir antibactérien remarquable des actinomycètes (**McKenzie et al., 2010 ; Mythili et Ayyappa, 2011 ; Ng et Amsaveni, 2012**).

La majorité des isolats se sont montrés actifs contre la bactérie à Gram positif (*S. aureus*) plutôt que contre la bactérie à Gram négatif (*E. coli*). Cette distinction pourrait être attribuée aux différences structurales existantes entre les deux types bactériens. Les études menées par **Aouiche et al. (2012)**, et **Badji et al. (2006)** ont également révélé que les actinomycètes utilisés dans le cadre de leurs études sont hautement inhibiteurs des *Staphylococcus aureus*. Par ailleurs, plusieurs chercheurs ont observé la résistance notable des bactéries à Gram négatif à l'activité antimicrobienne des actinomycètes (**Ullah et al., 2012 ; Omar et al., 2013**). Similairement, **Cwala et al. (2011)**, ont examiné l'activité antimicrobienne de quatre espèces appartenant à trois genres d'actinomycètes. Leurs résultats ont démontré une prédominance de l'activité des isolats d'actinomycètes envers les bactéries à Gram positif comparés aux bactéries à Gram négatif.

Dans ce travail, les surnageants sont immédiatement actifs, d'autre ne sont actif qu'après un certain temps de contact avec la bactérie cible, tandis que d'autre sont actif uniquement pendant les premières heures de contact. Les différences dans le moment et la durée d'activité antibactérienne observées avec les surnageants peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment la nature des composés produits par les actinomycètes, leur cinétique d'action et leur interaction avec la bactérie cible. En effet, certains actinomycètes pourraient produire des composés antibactériens qui agissent rapidement et directement sur la bactérie cible dès le contact initial. Ces composés pourraient être libérés rapidement dans le surnageant et agir efficacement dès le début du contact (**Kozyrskyj et al., 2010**).

Certains composés produits par les actinomycètes pourraient nécessiter un certain temps pour être activés ou pour interagir avec la bactérie cible. Il se peut que ces composés nécessitent une modification ou une activation spécifique qui se produit avec le temps, avant qu'ils ne deviennent efficaces contre la bactérie. Ce qui peut expliquer l'action tardive du surnageant de la souche S7 Our dans notre travail (**Zhang et Cheng, 2022**).

D'autres composés pourraient être instables dans le milieu ou être rapidement dégradés par des enzymes ou d'autres facteurs dans le surnageant. Cela pourrait

expliquer pourquoi leur activité antibactérienne est observée uniquement pendant les premières heures de contact (**Laure *et al.*, 2021**).

Les interactions entre les composés produits par les actinomycètes et la bactérie cible peuvent varier en fonction du temps de contact. Il est possible que certains composés nécessitent un certain temps pour se lier ou interagir avec la bactérie avant de produire leur effet antibactérien (**Abdelmohsen *et al.*, 2015**).

Les différents isolats d'actinomycètes peuvent produire une variété de composés bioactifs en fonction de leur génétique et de leur environnement de culture. Cette variabilité peut expliquer pourquoi certains isolats montrent une activité immédiate, tandis que d'autres nécessitent plus de temps pour montrer leur activité (**Mohammadipanah and Wink, 2016**).

Les actinomycètes pourraient être influencés par des facteurs de croissance et de régulation qui affectent la production et la libération de leurs métabolites antibactériens. Ces facteurs pourraient varier au fil du temps, ce qui expliquerait les différentes observations et le changement des activités antibactériennes constatées, dans ce travail, pour une même souche, en passant d'un milieu de culture à l'autre et d'une technique à l'autre (**Kurtböke, 2017**).

Il est important de noter que les actinomycètes sont des micro-organismes complexes, et il peut y avoir de nombreuses raisons possibles pour les variations dans le moment et la durée d'activité antibactérienne des surnageants testés dans notre étude. Des études plus approfondies, y compris des analyses biochimiques et génétiques, pourraient aider à élucider les mécanismes sous-jacents à ces observations.

Conclusion

Conclusion

Avec l'apparition de nouvelles bactéries pathogènes à travers le monde et la propagation croissante de la résistance bactérienne aux antibiotiques existants, il devient de plus en plus crucial d'orienter nos efforts vers la recherche et le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques contre les infections. Dans ce contexte, les actinomycètes semblent tenir la première place des organismes producteurs d'antibiotiques naturels. Cependant, le manque de molécules novatrices issues des actinomycètes récemment isolés à partir d'environnements ordinaires pousse les chercheurs vers la recherche de telles molécules chez les actinomycètes des environnements extrêmes tels que les déserts.

Dans ce travail les actinomycètes provenant des sols sahariens d'Algérie présentent des activités antibactériennes très prometteuses. Cette étude constitue une tentative d'isolement et de sélection de bactéries telluriques d'origine saharienne, dans le but de cribler leur capacité à produire des molécules antagonistes vis-à-vis des bactéries pathogènes. Certaines des bactéries sélectionnées au cours de cette recherche ont démontré un potentiel antibactérien remarquable et pourraient représenter de nouvelles sources d'antibiotiques utiles dans la lutte contre les bactéries pathogènes.

En termes de perspectives, il est essentiel de procéder à l'identification moléculaire précise des bactéries isolées ayant révélé une activité antagoniste positive. Il est également crucial de purifier et d'identifier les molécules responsables de cette activité. Des techniques de purification et d'identification issues de la biologie moléculaire et de la biochimie peuvent s'avérer utiles dans cette démarche qui reste à explorer.

Références Bibliographiques

Références

- Abdelmohsen., U. R., Grkovic, T., Balasubramanian, S., Kamel, M. S., Quinn, R. J., & Hentschel, U., (2015).** Elicitation of secondary metabolism in actinomycetes. *Biotechnology advances*, 33(6), 798-811.
- Adegboye. M. F & Babalola. O. O., (2012).** Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. *African Journal of Agricultural Research*. Vol 7. N° 15. Pp: 2255-2261.
- Anonyme 1:** <https://andre4088.blogspot.com/2012/11pewarnaan-gram-dan-pengamatan-morfologi.html?m=1>. Consulter le 24/04/2023.
- Aouiche A., Sabaou N., Meklat A., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., (2012).** Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes clinique et toxigènes résistants aux antibiotiques *journal de Mycologie*, vol. 22(n°1). Pp. 42-51. ISSN 1156-5233.
- Atlas R., (1997).** Principles of microbiology. WCB McGraw-Hill, New York, NY.
- Badji, B., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Sabaou, N., (2006).** Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura* sp. AC104 isolated from an Algerian Saharan soil. *Canadian Journal of Microbiology* 52, 373.
- Baize, D., Jabiol, B., (1995).** Guide pour la description des sols. Ed INRA.375p.
- Barka E.A., Vasa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Vasa J.P., Klenk H.-P., Clément C., Ouhdouche Y., van Wenzel G.P., (2016).** Taxonomie, physiologie, and Natural products of Actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* ;80 :1– 43.
- Benzeggouta, N., (2005).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Thèse Présentée en vue de l'Obtention du Diplôme de Magister en Pharmacochimie. Université Mentouri de Constantine :22.
- Bergey's manual of Systematic Bacteriologie., (2010),** vol 5, 2nd end, The Actinobacteria, Part Springer, New York, pp 33–34.

- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology., (2012).** Volume 5, Whitman W.B., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.-J., Trujillo M.E., Ludwig W., and Suzuki K.I., (Eds.) Springer, 2nd Edition
- Boudjella, H., (2007).** Étude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens (PhD Thesis). INA.
- Boudjella, H., Bouti, K., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Sabaou, N., (2006).** Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium Sg* 10 isolated from a Saharan soil. *Microbiological Research*, 161: 288-298.
- Calamita, H.G., Doyle, R.J., (2002).** Regulation of autolysins in teichuronic acid Containing *Bacillus subtilis* cells. *Mol Microbiol.* 44: 601-606.
- Chater KF., (2016).** Recent advances in understanding *Streptomyces*. *F1000Research.* 5 :2795
- Classes of Antibiotics/Antibacterials agents and their modes of action on Bacteria**
(Adopted from Labnotesweek4., 2013). Antibacterials, Bacterial Resistance and Drug Use | ResearchGate, the Professional network for scientists.
- Coates, A., et Hu, Y., (2007).** Novel approaches to developing new antibiotics for bacterial infections. *Brit. J. Pharmacol.* 152: 1147-1154.
- Coûteaux, M. M., & Darbyshire, J. F., (1998).** Functional diversity amongst soil protozoa. *Applied Soil Ecology*, 10(3), 229-237
- Crawford, J. W., Harris, J. A., Ritz, K., & Young, I. M., (2005).** Towards an evolutionary ecology of life in soil. *Trends in ecology & evolution*, 20(2), 81-87.
- Cross, T., Goodfellow, M., (1973).** Taxonomy and classification of the actinomycetes. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser 2* :11–112.
- Cwala Z., Igbinsa E. O., and Okoh A. I., (2011).** Assessment of antibiotics production potentials in four actinomycetes isolated from aquatic environments of the Eastern Cape Province of South Africa. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* Vol. 5. N°: 2. Pp118-124.
- Demain, A.L et Lancini, G., (2006).** Bacterial Pharmaceutical Products in *Procaryotes*, 1 : 812-833.

- Dommergues, Y et Mangenot, F., (1970).** Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie (Eds.), Paris.
- Duchaufour P., (1984).** Abrège de pédologie. Edit : Masson, paris, France. 220p.
- El Karkouri, A., Assou, S. A., & El Hassouni, M. (2019).** Isolation and screening of actinomycetes producing antimicrobial substances from an extreme Moroccan biotope. The Pan African medical journal, 33: 329.
- Essaïd A.B., Cédric J., Nathalie V.G. et Hanspeter K., (2015).** Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria, Microbiology and molecular biology.
- Euzéby, J.P., (2008).** List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. Annu. Rev. Phytopathol. 37: 307–334.
- Feher, D., & Killian, C., (1940).** Researches on the Biological Activity of Desert Soils. Soil Science Society of America Journal, 4, 234.
- Fierer, N., Bradford, M. A., & Jackson, R. B. (2007).** Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88(6), 1354-1364.
- Finance, C., Ouhdouche, Y., Jaques, A., Bonaly, R., (1985).** Nouvelles substances à action antifongique produites par des souches d'actinomycétales isolées à partir des milieux naturels. Ana. Biol. Clin (Paris). 43: 652.
- Flärdh K., (2003).** Growth polarity and cell division in Streptomyces. Curr Opin Microbiol 6 :564–571.
- Funke T., (2003).** Case, Introduction à la microbiologie, Pearson Education. P: 603.
- Garrigues, E., Corson, M. S., Angers, D. A., van der Werf, H. M., & Walter, C. (2012).** Soil quality in Life Cycle Assessment: Towards development of an indicator. Ecological indicators, 18, 434-442.
- Girard M, C., Walter C., Remy J.C., Businelli D., B et Morel J.L., (2005).** Sols et Environnements. Collection : Sciences sup.80p.
- Gobat J., M., Aragno M. et Matthey, W., (2003).** Le sol vivant. Bases de pédologie. Biologie des sols. Edit. Presses polytechniques et universitaires romandes. 571P.

- Göker M., Klenk H., (2013).** Phylogeny-driven target selection for largescale genome-sequencing (and other) projects. *Stand Genomic Sci* 8:360–374.
- Goodfellow M., (2012).** Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In: Whitman WB, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Ludwig W, Suzuki KI, Parte A(eds).
- Goodfellow M., Busarakam K., Idris H., Labeda DP., Nouioui I., Brown R., Kim BY., del Carmen Montero-Calasanz M., Andrews BA., Bull AT., (2017).** *Streptomyces asenjonii* sp. nov., isolated from hyper-arid Atacama Desert soils and emended description of *Streptomyces viridosporus* Pridham *et al.* 1958. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 110 :1133–1148.
- Goodfellow, M., Minnikin, D.E., (1985).** Chemical methods in bacterial systematics. Academic Press.
- Goodfellow., M and Williams, S. T., (1983).** Ecology of actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37:189-216.
- Gorajana, Adinarayana., Ellaiah, Poluri and Axel Zeeck., (2010).** Cytotoxic compounds from a marine actinomycete, *Streptomyces albovinaceus* var. *baredar* AUBN10/2. *Afr. J. Biotechnol.* 9: (42) 7197-7202.
- Goshi, K., Uchida, T., Lezhava, A., Yamasaki, M., Hiratsu, K., Shinkawa, H., Kinashi H., (2002).** Cloning and analysis of the telomere and terminal inverted repeat of the linear chromosome of *Streptomyces griseus*. *J Bacteriol.* 184:3411-3415.
- Gottlieb, D., (1973).** General consideration and implication of the actinomycetal. In: *Actinomycetales characteristics and practical importance*. Edited by G Sykes and F.
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Yekkour, A., Sabaou, N., Mathieu, F. and Zitouni, A., (2014).** Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara. *Microbiol. Res.*, 169: 59-65.

- Gräfe, U., (1990).** Jean-Paul Larpent et Jean-Jacques Sanglier, Biotechnologie des Antibiotiques. XII+ 481 S. Paris-Milan–Barcelone–Mexico 1989. Masson Editeur. 380 F. ISBN : 2-225-81657-3.
- Gras R., (1988).** Physique du sol pour l'Aménagement. Masson, paris.12p.
- Grasso, D. J., Dierkhising, C. B., Branson, C. E., Ford, J. D., & Lee, R. ,(2016).** Developmental patterns of adverse childhood experiences and current symptoms and impairment in youth referred for trauma-specific services. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 44(5), 871–886.
- Grover, M., Bodhankar, S., Maheswari, M., Srinivasarao, C. (2016).** Actinomycetes as Mitigators of Climate Change and Abiotic Stress. In: Subramaniam, G., Arumugam, S., Rajendran, V. (eds) *Plant Growth Promoting Actinobacteria*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0707-1_13.
- Guo X., Liu N., Li X., Ding Y., Shang F., Gao Y., Ruan J., Huang Y., (2015).** Redsoilsharbor diverse culturable actinomycetes that are promising sources of novel secondary metabolites. Löffler FE, editor. *Appl Environ Microbiol*. 81(9) :3086–3103.
- Hassan HM., Degen D., Jang KH., Ebright RH., Fenical W., (2015).** Salinamide F, new depsipeptide antibiotic and inhibitor of bacterial RNA polymerase from a marinederived *Streptomyces* sp. *J Antibiot (Tokyo)*. 68 :206–209.
- Hillel D., (1984).** L'eau et le sol principes et processus physique. Cobaye.
- Hop. D. V., Sakiyama. Y, Binh. C. T. T., Otoguro. M., Hang. D. T., Miyadoh. S., Luong. D. T & Ando. K., (2012).** Taxonomic and ecological studies of actinomycetes from Vietnam: isolation and genus-level diversity. *The Journal of Antibiotics*. Vol: 64. Pp: 599–606.
- Jiang Z., Guo L., Chen C., Liu S., Zhang. L, Dai S., He Q., You X., Hu X., Tuo L., (2015).** Xiakemycin A, a novel pyrano naphthoquinone antibiotic, produced by the *Streptomyces* sp. CC8-201 from the soil of a karst cave. *J Antibiot (Tokyo)*. 68 :771 774.

- Kassah-Laouar, A., (2020).** De la définition princeps à la totorésistance. *Revue Aurassienne du laboratoire*, 29.
- Khan, Z., & Kim, Y. H., (2007).** A review on the role of predatory soil nematodes in the biological control of plant parasitic nematodes. *Applied soil ecology*, 35(2), 370- 379.
- Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Hamdiken, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., Boiron, P., (2005).** Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north–east of Algeria. *J Med Mycol*, 15(1): 45–51.
- Kozyrskyj, A., Klassen, T. P., Moffatt, M., & Harvey, K., (2010).** Short-course antibiotics for acute otitis media. The Cochrane database of systematic reviews, 2010(9), CD001095. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001095.pub2>.
- Kurtböke, D. İ., (2017).** Ecology and habitat distribution of actinobacteria. *Biology and biotechnology of actinobacteria*, 123-149.
- Larpent, J.P. et Larpent- Gourgaud, M., (1985).** Manuel pratique de microbiologie. Herman. Paris.
- Larpent., J.P et Sanglier. J.J., (1989).** Biotechnologies des antibiotiques. Masson. Paris, p. 481.
- Laure, N. N., Dawan, J., & Ahn, J., (2021).** Effects of Incubation Time and Inoculation Level on the Stabilities of Bacteriostatic and Bactericidal Antibiotics against *Salmonella Typhimurium*. *Antibiotics*, (, Basel, Switzerland),10(8),101,9.
- Lechevalier, HA., Lechevalier, MP., (1965).** Classification des actinomycètes aérobies basée sur leur morphologie et leur composition chimique. *Ann Inst Pasteur* 108:662–673. (In French.)
- Lechevalier, M.P., (1980).** The chemotaxonomy of actinomycetes. *Actinomycete taxonomy* 227– 291.

- Lechevalier, M.P., De Bievre, C., Lechevalier, H., (1977).** Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochemical Systematics and Ecology* 5,249–260.
- Lee L-H., Cheah Y-K., MohdSidik S., Ab Mutalib N-S., Tang Y-L., Lin HP., Hong K., (2012).** Molecular characterization of Antarctic actinobacteria and screening for antimicrobial metabolite production. *World J Microbiol Biotechnol.* 28 :2125–2137.
- Lee. J. Y &Hwang. B. K. 2002.**Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Can. J. Microbiol.* Vol: 48. Pp: 407–417.
- Leminor, L., Veron, M., (1989).** *Bacteriologie médicale.* 2 ème édition. Pp 335- 349.
- Lete.k, M., Ordonez, E., Vaquera, J., Margolin, W., Flårdh, K., Mateos, LM., Gil, JA., (2008).** DivIVA is required for polar growth in the MreB-lacking rodshaped actinomycete *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol* 190 : 3283–3292.
- Letunic, I., Bork, P., (2011).** Interactive Tree of Life v2: online annotation and display of phylogenetic trees made easy. *Nucleic Acids Res* 39: W475– W478.
- Locci, R., Schaal, KP., (1980).** Apical growth in facultative anaerobic actinomycetes as determined by immunofluorescent labeling. *Zentralbl Bakteriol A* 246:112–118.
- Loria, A., (1986).** The national institute of health quality control program. III. Fllox-up stidies (phase 3). *Rev. Invest. Clin.*, 38: 435-440.
<http://dx.doi.org/10.1128/JB.01934-07>.
- Macagnan D., Romeiro RDS., de Souza JT., Pomella AWV., (2006).** Isolation of actinomycetes and endospore-forming bacteria from the cacao pod surface and their antagonistic activity against the witches' broom and black podpathogens. *Phytoparasitica*3 :122–132
- Mateus Torres Nazari1., Bruna Strieder Machado., Giovana Marchezi., Larissa Crestani ., Valdecir Ferrari .,Luciane Maria Colla1 ., Jeferson Steffanello Piccin., (2022).** Use of soil actinomycetes for pharmaceutical, food, agricultural, and environmental purposes, *Science and Technology*, Springer.
<https://doi.org/10.1007/s13205-022-03307-y>.

- Mc Neeley S. G., Baselski V. S., Ryan G.M., (1987).** An evaluation of two rapid bacteriuria screening procedure. *Obstet. Gynecol.*, 69,550-553.
- McKenzie. N. L; Thaker. M; Koteva. K; Hughes. D. W; Wright. G. D; and Nodwell. J. N. 2010.** Induction of antimicrobial activities in heterologous streptomycetes using alleles of the *Streptomyces coelicolor* gene abs A. *The Journal of Antibiotics*. Pp: 1– 6.
- Meier-Kolthoff, JP., Auch, AF., Klenk, HP., Goker M., (2013).** Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinformatics* 14:60. /10.1186/1471-2105-14-60.
- Meier-Kolthoff, JP., Auch, AF., Klenk, HP., Göker, M., (2013).** Highly parallelized inference of large genome-based phylogenies. *Concurrency Comput Pract Experience* 26 :1715–1729. .3112.
- Mimoz, O., (2003).** Impact des résistances bactériennes. Conférences d’actualisation, Elsevier SAS. P :665 - 672.
- Mohammadipanah, F., & Wink, J., (2016).** Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity. *Frontiers in microbiology*, 6, 1541.
- Moore, B. S., Trischman, J. A., Seng, D., Kho, D., Jensen, P. R., & Fenical, W., (1999).** Salinamides, anti-inflammatory depsipeptides from a marine streptomycete. *The Journal of Organic Chemistry*, 64(4), 1145-1150.
- Mustin M., (1987).** Le composte, gestion de la matière organique. Edit. François.12p.
- Musy, A., Soutter, M., (1991).** Physique du sol. Edit. Presses polytechniques et universitaires romandes. 331p.
- Mythili. B and Ayyappa Das. M. A., (2011).** Studies on Antimicrobial Activity of *Streptomyces* spp. Isolates from Tea Plantation Soil. *Research Journal of Agricultural Sciences*. Vol: 2. N°: 1. Pp: 104-106.
- Ng. Z. Y and Amsaveni. S., (2012).** Isolation, Screening and Characterization of Antibiotic-Producing Actinomycetes from Rhizosphere Region of Different Plants from a Farm of Sungai Ramal Luar, Malaysia. *Journal of Advanced Biomedical & Pathobiology* Vol: 2 N°: 3. Pp: 96-107.

- O'Donnell, AG., (1988).** Recognition of novel actinomycetes. In Goodfellow MM, Williams ST, Mordarski M (ed), *Actinomycetes in biotechnology*. Academic Press, London, United Kingdom p 69 –88.
- Okami, Y., et Hotta, K., (1988)-**"Search and discovery of new antibiotics" in «*Actinomycetes in biotechnology*». Academic Press.
- Osman, K. T., (2013).** Concepts of soil. In: Osman K.T. (ed) *Soils: Principles, Properties and Management*. Springer Science+Business Media, Dordrecht, pp 1-7.
- Peltola, J.S.P., Anderson, M.A., Kampfer, P., Auling, G., Kropensstedt, R.M., Busse, H.J., Salkinoja-Salonen, M.S. and Rainey, F.A., (2001).** Isolation of toxigenic *Nocardioopsis* strains from indoor environments and description of two new *Nocardioopsis* species, *N. exhalans* sp.nov. and *N. umidischholae* sp. nov. *Appl. Env. Microbiol.*, 67 : 4293-4304.
- Petit J., Jobin. P., (2005).** La fertilisation organique des cultures, fédération d'agriculture biologique du Québec.48p.
- Petrosyan, P., García-Varela, M., Luz-Madrigal, A., Huitron, C., & Flores, M. E. (2003).** *Streptomyces mexicanus* sp. nov., a xylanolytic micro-organism isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(1), 269-273.
- Prauser, H., Lechevalier, MP., Lechevalier, H., (1970).** Description of *Oerskovia* gen. n. to harbor Orskov's motile *Nocardia*. *Appl Microbiol* 19 :534.
- Prescott, L., Harley, J. P. et Klein, D. A., (1995).** *Microbiologie* tome II. De Boeck, Bruxelles. Pp 506–517.
- Prescott., Linda, M., Sherwood., Christopher, J. Woolverto., (2010).** *Microbiologie*. 3 ème edition. Bruxelle. P :589.
- Prescott., Willey, J., Sherwood, L. M., Woolverton, C., (2013).** *Microbiologie*. 4ème Edition, de boeck, Paris, 1070p.
- Pridham, TG., Hesseltine, CW., Benedict, RG., (1958).** A guide for the classification of streptomycetes according to selected groups; placement of strains in morphological sections. *Appl Microbiol* 6 :52–79.

- Rajnisz A., Guśpiel A., Postek M., Ziemska J., Laskowska A., Rabczenko D., Solecka J., (2016).** Characterization and optimization of biosynthesis of bioactive secondary metabolites produced by *Streptomyces* sp. 8812. *Pol J Microbiol.* 65 :51.
- Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Oulmi, L., Kitouni, M., Boudemagh, A., & Boulahrouf, A. (2006).** Activité antibactérienne d'actinomycètes rares isolés d'échantillons de sol aride du Sud-est Algérien. *Antibiotiques*, 8(3), 147-152.
- Sabaou, N., Boudjella, H., Bennadji, A., Mostefaoui, A., Zitouni, A., Lamari L., (1998).** Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Sécheresse*; 9 :147-53.
- Scow, K. M., (2004).** Soil microbiology. In: Schaechter, M. (ed). *The Desk Encyclopedia of Microbiology*. Elsevier Ltd, China, pp 914-926.
- Simon, P., Meunier, R., (1970).** *Microbiologie industrielle et génie biochimique*. 452p.
- Singh B, Gupta V., Passari A., (2018).** New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. *Actinobacteria: diversity and biotechnological applications*. Amsterdam, Oxford, Cambridge: Elsevier.
- Singleton, P., (1994).** *Bactériologie*. Masson. France. Prescott, L., Harley, J.P., Klein D.A. *Microbiologie tome II*. De Boeck, Bruxelles. P 506–517.
- Solanki, R., Khanna, M. and Lal, L., (2008).** Bioactive compounds from marine actinomycetes. *Indian. J. Microbiol.* 48: 410 431.
- Solecka J., Ziemska J., Rajnisz A., Laskowska A., Guśpiel A., (2013).** Promieniowce – Występowanie i wytwarzanie związków biologicznie czynnych. *Postępy Mikrobiol.* 52 :83–91
- Soltner D., (2003).** Les bases de la production végétale. Tome I. Le sol et son amélioration. *Collection Sciences et Techniques Agricoles*. 23ème. Ed, Paris. 472p.

- Staneck, J.L., Roberts, G.D., (1974).** Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. *Appl. Environ. Microbiol.* 28, 226–231.
- Starke, R., Fiore-Donno, A. M., White III, R. A., Fernandes, M. L. P., Martinović, T., Bastida, F., ... & Jehmlich, N. (2022).** Biomarker metaproteomics for relative taxa abundances across soil organisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 175, 108861.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N. S., Wijesundera, R., ... & Abarenkov, K., (2014).** Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346(6213), 1256688.
- Thakur, D., Yadav, A., Gogoi, B. K, and Bora, T.S., (2007).** Isolation and screening *Streptomyces* in soil from *areas* from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. *J. Med Microbiol.*, 17: 242-249.
- Ullah. I., Masood Arshad, M, Chuadhry. I. J. M, Noureen. U., Jadoon, W. A., Jadoon. M. A., (2012).** Actinomycetes screening for bioactive potential isolated from the moist forest soils of Pakistan. *Rec. Zool. Surv. Pakistan.* Vol: 21. Pp: 10-13.
- Valan, Arasu M., Duraipandiyan, V., Agastian, p. and Ignacimuthu, S., (2008).** Antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. ERI-26 recovered from Western Ghats of Tamil Nadu. *J. Mycol. Méd.* 18: 147-153.
- Walsh, C., (2000).** Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature.* Vol 4. N °06.P: 775-779.
- Wen-Jun, Li., Dong-Jin, Park., Shu-Kun, Tang., Dong, Wang., Jae-Chan, Lee., 11: Chang-Jin Kim and Cheng-Lin Jiang., (2004).** *Nocardiopsis salina* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from saline soil in China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 54: 1805-1809.
- Wild A., (1993).** Soils and environment. In Cambridge price editions. Cambridge University press, Cambridge. pp. 281
- Wopereis., (2008).** Curriculum APRA-GIR: Manuel technique.9p.

Xu L, Li Q, Jiang C., (1996). Diversity of soil actinomycetes in yunnan, china. Appl Environ Microbiol. Jan ;62(1) :244-8. Doi : 10.1128/aem.62.1.244-248.1996.

Zomahoun, C., (2005). Evaluation de la sensibilité aux antibiotique des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier universitaire- Hubert koutoukou Maga (C.N.H.U.H.K.M). Thèse de doctorat d'état, Université du Mali. P : 20-90.

Annexes

Annexes 1

Compositions des milieux de culture

Milieu ISP2

Extrait de levure.....	4g
Extrait de malt	10g
Dextrose	4g
Agar.....	15g

pH:7.3

Starch casein agar

Amidon soluble.....	10g
Casein	0.30g
KNO ₃	2g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0.05g
K ₂ HPO ₄	2g
NaCl.....	2g
CaCO ₃	0.02g
FeSo ₄ .7H ₂ O.....	0.01g
Agar.....	18g

pH: 7.3

Bennet

Glucose	10g
Extrait de levure.....	2g
Peptone	2g
Extrait de viande.....	1g

Agar.....15g

Eau distillée..... 1000 ml

PH :7.3

Annexe 2 :

Equipements

Matériel	Nom	Références
	Frigidaire	SNVST/9277/21
	Vortex	FSVNVST 5112
	Autoclave	FSNVST/138/13
	Bain marie	FSNVST 9049/2019

	<p>Spectrophotomètre</p>	<p>FSNVST 29/9339</p>
	<p>Etuve</p>	<p>9046/2019</p>
	<p>Agitateur magnétique</p>	<p>FSNV 522/9323</p>
	<p>Ph mètre</p>	<p>FSNVST/18722118</p>
	<p>Balance</p>	<p>FSNV/1746</p>

Résumé

Résumé

L'émergence de résistances bactériennes aux antibiotiques justifie l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. Ce travail vise à rechercher, cribler et sélectionner des actinomycètes capables de synthétiser des substances antimicrobiennes à partir d'environnements extrêmes tel que le Sahara Algérien. Huit échantillons de sols sahariens du sud-est algérien (Biskra, Boussaâda, Djelfa, Ghardaïa, El Ouadi, Touggourt, Ouargla, Illizi) ont été explorés. Soixante (60) souches d'actinomycètes ont été isolées à partir des 8 échantillons collectés. Elles ont été testées pour leurs activités antibactériennes contre deux bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*). Seuls les échantillons de sols d'Illizi, Biskra et Ouargla ont donné toutes les souches des 60 actinomycètes. Sur la base de ce test préliminaire 10 souches ont été sélectionnées afin de déterminer leur aptitude à produire des métabolites secondaires capable d'inhiber la croissance de la bactérie *S. aureus*. Parmi les 10 isolats sélectionnés, les surnageants issue d'une culture discontinue des actinomycètes S5 Izy, S7 Our, S15 Our sur le milieu liquide ISP2 ont pu retarder (S5 Izy, S7 Our), voir bloquer (S15 Our) la croissance de la bactérie cible de façon significatif. Les résultats obtenus laissent espérer un avenir prometteur de la richesse métabolique des actinomycètes du Sahara Algérien, notamment en matière de molécules antibactériennes.

Mots clé : actinomycètes, activité antibactérienne, sol algérienne saharienne.

Abstract

The emergence of bacterial resistance to antibiotics justifies the urgency of having new antimicrobial molecules. This work aims to search, screen and select actinomycetes capable of synthesizing antimicrobial substances from extreme environments such as the Algerian Sahara. Eight samples of Saharan soils from southeastern Algeria (Biskra, Boussaâda, Djelfa, Ghardaïa, El Ouadi, Touggourt, Ouargla, Illizi) were explored. Sixty (60) strains of actinomycetes were isolated from the 8 collected samples and tested for their antibacterial activities against two pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*). Based on this preliminary test, 10 strains were selected to determine their ability to produce secondary metabolites capable of inhibiting the growth of the bacterium *S. aureus*. Among the 10 selected isolates, the supernatants from a discontinuous culture of the actinomycetes S5 Izy, S7 Our, S15 Our on ISP2 liquid medium were able to significantly delay (S5 Izy, S7 Our), or even block (S15 Our), the growth of the target bacterium. The results obtained provide hope for a promising future about the metabolic richness of actinomycetes from the Algerian Sahara, particularly in terms of antibacterial molecules.

Key words: actinomycetes, antibacterial activity, Algerian Saharan soil.

المخلص

إن ظهور المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية يبرر الحاجة الملحة إلى وجود جزيئات جديدة مضادة للميكروبات. يهدف هذا العمل إلى البحث عن الأكتينومايسيتات وفحصها واختيارها القادرة على تصنيع مواد مضادة للميكروبات من البيئات القاسية مثل الصحراء الجزائرية. تم استكشاف ثماني عينات من التربة الصحراوية من جنوب شرق الجزائر (بسكرة، بوسعادة، الجلفة، غرداية، الوادي، تقرت، ورقلة، إليزي). تم عزل ستين (60) سلالة من الأكتينومايسيتات من 8 عينات تم جمعها واختبار نشاطها المضاد للبكتيريا ضد نوعين من البكتيريا المسببة للأمراض (المكورات العنقودية الذهبية، الإشريكية القولونية). وبناءً على هذا الاختبار الأولي، تم اختيار 10 سلالات لتحديد قدرتها على إنتاج مستقلبات ثانوية قادرة على تثبيط نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية. من بين العزلات العشرة المختارة، كانت المواد الطافية من الأكتينومايسيتات S5 Izy، S7 Our، S15 Our على الوسط السائل ISP2 قادرة على تأخير النمو بشكل كبير (S5 Izy، S7 Our)، أو حتى منع (S15 Our). من البكتيريا المستهدفة. توفر النتائج التي تم الحصول عليها الأمل لمستقبل واعد فيما يتعلق بالثراء الأبيض للأكتينومايسيتات من الصحراء الجزائرية، وخاصة فيما يتعلق بالجزيئات المضادة للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: الشعيات النشاط المضاد للبكتيريا التربة الصحراوية الجزائرية.