

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHAJ-BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/FSNVST/DEP.BIO/2022

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔMEMASTER

Domaine : SNV      Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

KACIMI Khaled & GACEM Ahmed

*Thème*

**Activité antibactérienne de quelques actinomycètes  
isolés du Sahara Algérien**

Soutenu le : 15 / 09 / 2022

Devant le jury composé de

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
Allaoua NOURI	MAA	Univ. de Bouira	Président
Salima TIGHIDET	MCB	Univ. de Bouira	Examinatrice
Abdelwahab RAI	MCB	Univ. de Bouira	Promoteur
Khalef HANSALI	Doctorant	UO-Chine	Co-promoteur

*Année Universitaire : 2021/2022*

# **Remerciements**

## *Remerciements*

*Ce travail est l'aboutissement d'un dur labeur et beaucoup de sacrifices, nos remerciements vont d'abord au créateur du l'univers qui nous a doté d'intelligence et nous a maintenu en santé pour mener à bien cette année d'étude.*

*Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à notre promoteur « **M. RAJA** » pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion. Permettez-nous Monsieur de vous témoigner ici notre profonde gratitude et notre respect.*

*Nos remerciements s'adressent également à notre Co-promoteur « **M. HANSALI K.** » pour sa patience ainsi que son suivi tout au long de notre travail.*

*Nous tenons également à remercier l'examinatrice de notre travail, « **Mme TIGHIDET S.** », Merci de nous avoir fait l'honneur de juger et d'examiner notre travail. Mille merci également au président du jury de notre soutenance « **NOURI A.** » qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.*

*Merci à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.*

# **Dédicace**

## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail*

### ***A MA TRES CHERE MAMAN REBIHA***

*Celle qui m'a donné la vie, la source de l'amour et le symbole de tendresse, qui s'est  
Sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.*

### ***A MON TRES CHER PERE LOUNES***

*Ce qui m'a soutenu, m'éduquer, m'encourager mon école de la vie.  
Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect  
Que j'ai toujours eu pour toi.  
Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon  
bien-être.  
Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma  
formation.*

*Dieu vous accorde la santé, le bonheur et longue vie.*

*Puisse Dieu, le Très-Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en  
sorte que jamais je ne vous déçoive.*

### ***A TOUT MA FAMILLE MATERNELLE ET PATERNELLE***

***À MES MEILLEURS AMIES :***

*KHALED, ABDOU ET AMINE.*

***A TOUT MES COLLEGUES.***

Ahmed.

*Je dédie ce modeste travail*

***A MA TRES CHERE MAMAN DALILA***

*Celle qui m'a donné la vie, la source de l'amour et le symbole de tendresse, qui s'est  
Sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.*

***A MON TRES CHER PERE BOUALEM***

*Ce qui m'a soutenu, m'éduquer, m'encourager mon école de la vie.  
Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect  
Que j'ai toujours eu pour toi.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon  
bien-être.*

*Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma  
formation.*

*Que Dieu vous accorde la santé, le bonheur et longue vie.*

***A MA TRES CHERE GRANDE MERE PATERNEL***

*A la mémoire de ma grand-mère qui a été toujours dans mon esprit et dans mon cœur,  
je vous dédie aujourd'hui ma réussite, que dieu miséricordieux, vous accueille dans  
son éternel paradis*

***À MA TRÈS CHÈRE SOEUR HANAN ET À***

***MES TRES CHERS FRERES BOUBEKER, SEIF EDDINE ET IYAD***

*Qui étaient toujours à mes côtés et qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de  
m'encourager, Jamais de simples mots ne me permettront de vous exprimer mes  
remerciements.*

Khaled.

# Liste des Figures

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Les actinobactéries dans la nature .....	6
<b>Figure 2.</b> Colonies d'actinomycètes se développant sur de la gélose.....	7
<b>Figure 3.</b> Microgramme de production de spores en chaînes courtes.....	8
<b>Figure 4.</b> Cibles et modes d'action des antibiotiques.....	13
<b>Figure 5.</b> Mécanisme de résistance aux antibiotiques.....	14
<b>Figure 6.</b> Régions d'échantillonnage .....	15
<b>Figure 7.</b> Colonies d'actinomycètes isolées à partir des 4 échantillons.....	19
<b>Figure 8.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E2S2 contre <i>Pseudomonasaeruginosa</i> .....	22
<b>Figure 9.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E4S4 contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
<b>Figure 10.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E4S4 contre <i>Pseudomonasaeruginosa</i> .....	23
<b>Figure 11.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E4S4 contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	23
<b>Figure 12.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E2S2 contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	24
<b>Figure 13.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E4S4 contre <i>Pseudomonasaeruginosa</i> .....	24
<b>Figure 14.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E4S10 contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
<b>Figure 15.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E2S1 contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
<b>Figure 16.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E4S7 contre <i>Pseudomonasaeruginosa</i> .....	26
<b>Figure 17.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E4S7 contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
<b>Figure 18.</b> Activité (culot et surnageant) de la souche E4S7 contre <i>Pseudomonasaeruginosa</i> .....	26



# Liste des Tableaux

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Distribution des actinomycètes selon leurs habitats .....	5
<b>Tableau 2.</b> Localisation géographique des stations d'échantillonnage.....	15
<b>Tableau 3.</b> Souches bactérienne ciblées dans le test d'activité antibactérienne .....	17
<b>Tableau 4.</b> Nombre de colonies d'actinomycètes isolés à partir de chaque échantillon.....	19
<b>Tableau 5.</b> Activité antibactérienne des culots et des surnageants des différentes souches ....	21
<b>Tableau 6.</b> Effet de la composition du milieu sur l'activité antibactérienne. ....	27

# **Sommaire**

## Sommaire

### Remerciements

### Dédicaces

### Liste des Figures

### Liste des tableaux

### Introduction .....1

## Chapitre I. Synthèse Théorique

1. Les actinomycètes.....	3
1.1. Généralités.....	3
1.2. Ecologie.....	4
1.3. Rôles et impact.....	5
1.4. Biologie et développement.....	6
1.4.1. Le mycélium de substrat.....	7
1.4.2. Le mycelium aérien.....	7
1.5. Métabolisme bactérien et actinomycètes.....	8
1.5.1. Les métabolites primaires.....	8
1.5.2. Les métabolites secondaires.....	9
2. Les antibiotiques.....	10
2.1. Définition.....	10
2.2. Classification.....	10
2.2.1. Critères de classification.....	10
2.2.2. Classification selon mode d'action.....	11
2.3. Résistance des bactéries aux antibiotiques.....	13
2.3.1. Définition.....	13
2.3.2. Résistance naturelle.....	13
2.3.3. Résistance acquise.....	14

## Chapitre II. Matériel et Méthodes

1. <b>Échantillonnage</b> .....	15
2. <b>Isolementdesactinomycètes</b> .....	16
2.1. Les milieux de cultures.....	16
2.2. Préparation des suspensions et ensemencement.....	16
2.3. Observation microscopique .....	16
2.4. Purification et conservation des souches .....	16
2.5. Activité antibactérienne.....	17
2.5.1. Bactéries cibles.....	17
2.5.2. Préparation du milieu de culture .....	17
2.5.3. Standardisation et ensemencement des bactéries cibles.....	17
2.5.4. Préparation des actinomycètes isolées .....	18

### **Chapitre III. Résultats et Discussion**

1. Isolement des actinomycètes.....	19
2. Résultats de l'activité antimicrobienne.....	20
3. Étude du milieu sur l'activité antibactérienne des actinomycètes .....	27
Conclusion.....	29

# **Introduction**

## Introduction

Les maladies infectieuses, responsables de 13 millions de décès chaque année, sont maintenant la principale cause de mortalité chez les enfants et les jeunes adultes. En 1998, 6 maladies : SIDA, paludisme, tuberculose, rougeole, maladies diarrhéiques et infections respiratoires ont, à elles seules, provoqué près de 90% de ces décès (OMS, 1999).

Il y a des décennies, le monde croyait que la science avait vaincu les maladies infectieuses et que tout était sous contrôle. Les vaccins et les antibiotiques permettaient de contrôler efficacement certains fléaux comme la variole ou la tuberculose (Kitouni, 2007). Cependant, certains événements nous rappellent que nous sommes toujours confrontés à de nouveaux défis en matière de maladies.

Depuis l'apparition des premiers agents antibactériens, notamment la pénicilline et les sulfamides, les bactéries n'ont cessé de s'adapter à l'environnement hostile que nous leur avons imposé par l'utilisation massive d'antibactériens d'origine naturelle ou de synthèse. Cette adaptation s'est traduite par le développement de la résistance bactérienne avec, en particulier, une évolution vers la multirésistance de certaines bactéries pathogènes. À cela s'ajoutent des pathologies infectieuses émergentes de nouvelles espèces bactériennes telles que *Helicobacter pylori*, *Troperymawhipplei*, de nouvelles rickettsies, susceptibles de développer de nouveaux mécanismes de résistances (Maccrain *et al.*, 2000).

Ces constats expliquent l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. Celles-ci sont, entre autres, recherchées à partir de microorganismes isolés d'échantillons prélevés de différents écosystèmes, dont le but est de découvrir des microbes producteurs de nouvelles molécules biologiquement actives (Newman et Cragg, 2016).

Les actinobactéries représentent le groupe le plus important de microorganismes producteurs de composés bioactifs. Elles synthétisent environ deux tiers de tous les antibiotiques d'origine naturelle actuellement utilisés en médecine, en pratique vétérinaire et en agriculture. La majorité de ces molécules proviennent du genre *Streptomyces* (Barka *et al.*, 2016 ; Chater, 2016).

Une approche traditionnelle dans l'obtention de nouveaux agents bioactifs, en particulier avec des structures chimiques uniques, repose sur l'isolement des microorganismes capables d'exercer une activité antibactérienne et, donc, de produire de

telles molécules. Les souches actinobactériennes proviennent généralement du sol (**Guo et al., 2015**), mais elles sont aussi abondamment présentes dans les mers et les océans (**Hassan et al., 2015 ; Xu et al., 2017**). En outre, les habitats extrêmes tels que les grottes (**Jiang et al., 2015**), les déserts (**Goodfellow et al., 2017**) ou les écosystèmes antarctiques (**Lee et al., 2012**), sont reconnus comme des sources précieuses d'actinomycètes produisant de nouveaux métabolites d'importance pharmacologique (**Solecka et al., 2013 ; Singh et al., 2018**).

La biosynthèse des métabolites secondaires (antibiotiques ou autres) par les microorganismes dépend des conditions de croissance de chaque souche. Depuis des années, les chercheurs appliquent différentes modifications des nutriments et des facteurs physicochimiques pendant les processus de fermentation afin d'optimiser la production de composés bioactifs (**Rajnisz et al., 2016**). Actuellement, la modélisation et l'analyse des processus de fermentation sont réalisées à travers des approches d'optimisation statistique, permettant d'améliorer la production d'antibiotiques, d'enzymes et de probiotiques (**Latha et al., 2017**).

La découverte de nouveaux antibiotiques et d'autres métabolites microbiens bioactifs est une priorité, compte tenu de la fréquence de l'émergence des microorganismes pathogènes multirésistants. Dans ce travail, notre objectif consiste à isoler des actinomycètes à partir de terrains sahariens en Algérie, et à tester leurs activités antimicrobiennes sur deux souches bactériennes appartenant à deux espèces pathogènes et multirésistantes et responsables de diverses pathologies humaines. La perspective finale est de trouver, purifier et identifier de nouvelles molécules à activité antibiotiques.



# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

L'embranchement des Actinobactéries est l'une des plus grandes unités taxonomiques. C'est l'un des principales lignées actuelles du domaine des Bactéries (**Ludwig *et al.*, 2012**). Les génomes actinobactériens séquencés à ce jour appartiennent à des organismes qui relèvent de la médecine humaine et vétérinaire, la biotechnologie, et l'écologie (**Ventura *et al.*, 2007**). La majorité des Actinobactéries sont des organismes vivants libres. Elles sont largement distribuées dans les écosystèmes terrestres et aquatiques et sont connues par leur aptitude à produire une large gamme de métabolites. Elles sont donc ciblées comme de potentiels sources de différents produits de base utilisés en biotechnologie moderne (**Macagnan *et al.*, 2006**).

## 1. Les actinomycètes

Waksman divise l'histoire des actinomycètes en quatre principales étapes. (1) la découverte du rôle des actinomycètes en pathologie entre 1874 et 1900. (2) recherche et identification des actinomycètes du sol entre 1900-1919 (travaux de Krausky, Cohn, Waksman et Curtis). (3) approfondissement et compréhension des actinomycètes 1919-1940 (travaux de Waksman, Lieske, Krassilnikov etc.). (4) révolution des travaux qui s'intéressent à la production des antibiotiques par les actinomycètes, où tout a commencé en 1940 avec les fameux travaux Selman Waksman (**Léon *et al.*, 1989**).

### 1.1. Généralités

Les actinobactéries sont des bactéries filamenteuses à Gram positif. Le nom « actinomycète » est composé des mots grecs (*aktis* ou *aktin*) pour rayon et (*mukes*) pour champignon. Traditionnellement, les actinomycètes étaient considérés comme des formes transitoires entre les champignons et les bactéries. En effet, comme les champignons filamenteux, beaucoup d'actinobactéries produisent un mycélium, et beaucoup de ces actinomycètes mycéliens se reproduisent par sporulation. Cependant, la comparaison avec les champignons est superficielle : les cellules des actinomycètes sont minces avec un chromosome qui est organisé dans un nucléoïde procaryote et une paroi cellulaire en peptidoglycane. De plus, les cellules sont sensibles aux agents antibactériens (**Barka *et al.*, 2016**).

Physiologiquement et écologiquement, la plupart des Actinobactéries sont aérobies. En outre, elles peuvent être hétérotrophes ou chimioautotrophes, mais la plupart sont

chimio hétérotrophes et utilisent une grande variété de sources nutritionnelles, y compris les polysaccharides complexes (Lechevalier *et al.*, 1965 ; Zimmerman, 1980).

Les bactéries actinomycétales sont un ordre de bactéries comprenant des bactéries bénignes et pathogènes appartenant au phylum Actinobacteria (McGuire *et al.*, 2012). Ce sont des bactéries à teneur élevée en GC% (entre 60-70%). Elles sont caractérisées par une grande diversité morphologique (Barka *et al.*, 2016). Cependant, le diamètre des hyphes, est typiquement entre 0,5 à 2 µm, est de 2 à 10 fois plus petit que celui Champignons (2 à 5µm) (Gottlieb, 1973 ; Larpent *et al.*, 1985). Récemment, de nouvelles espèces d'actinomycètes, en particulier celles découvertes en eau douce, se sont avérées à faible GC% relativement aux autres, suggérant, en plus de la diversité écophysologique, une grande diversité génétique des actinomycètes (Kavagutti *et al.*, 2019).

Les actinobactéries habitent les sols et les environnements aquatiques (*Streptomyces*, *Micromonospora*, *Rhodococcus*, et *Salinispora*). Elles peuvent également être des symbiotes de plantes (*Frankia* spp.), des pathogènes pour les végétaux ou des animaux (*Corynebacterium*, *Mycobacterium* ou *Nocardia*) ou des commensaux gastro-intestinaux (*Bifidobacterium* spp.) (Tableau 1).

## 1.2. Ecologie

Historiquement, les Actinobactéries étaient considérées comme des bactéries du sol, mais elles sont maintenant reconnues comme étant cosmopolites ; on les trouve dans, pratiquement, tous les écosystèmes. En tant que microbes libres, elles sont abondantes dans les sols, en particulier ceux du pH élevé et dans les écosystèmes marins et d'eau douce (Lauber *et al.*, 2009). Les actinobactéries sont également associées à des hôtes eucaryotes dans diverses niches, comme l'exosquelette de certaines fourmis tropicales, les poumons et la peau des mammifères, ainsi que les racines et les tissus internes des plantes (Figure 02). Certains genres, dont *Streptomyces*, *Kineococcus* et *Mycobacterium*, couvrent divers écosystèmes, du sol aux environnements marins et d'eau douce. D'autres, comme *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Kocuria* et *Rothia* se trouvent principalement dans des associations d'hôtes. La diversité des niches occupées par les actinobactéries reflète leur capacité physiologique à se développer dans une large gamme de conditions, comme le confirment les analyses basées sur la culture et le génome. Néanmoins, notre compréhension des rôles écologiques des Actinobactéries dans un bon nombre de ces systèmes reste mal définie (Lewin *et al.*, 2016).

**Tableau 1.**Distribution des actinomycètes selon leurs habitats(**Goodfellow, 1983**).

<b>Genre</b>	<b>Habitat</b>
<i>Actinomadura, Microbispora, Streptosporangium, Micromonospora, Nocardia.</i>	Sol
<i>Actinoplanes, Streptomyces.</i>	Sol, eau
<i>Rhodococcus.</i>	Sol, eau, litière.
<i>Sacharomonospora.</i>	Sol, eau, litière, fumier
<i>Thermomonospora.</i>	Matière en décomposition et fermentation
<i>Frankia.</i>	Nodule de racines

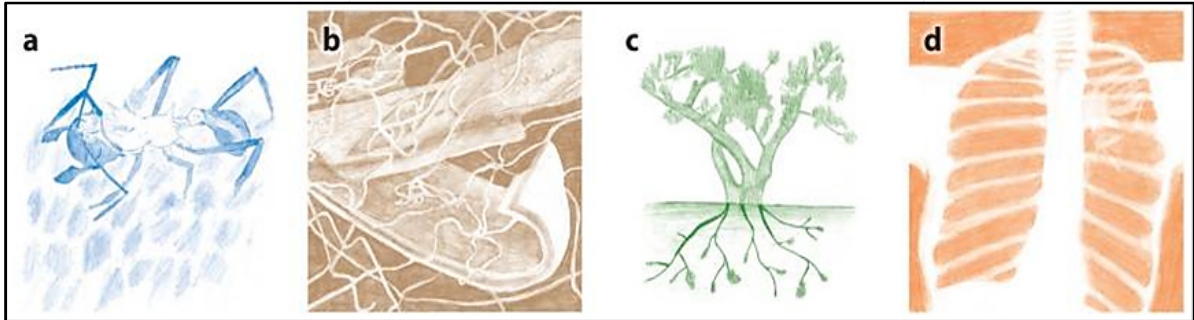
Certaines espèces d'actinomycètes semblent préférer certains habitats à d'autres. Par exemple, des actinomycètes thermophiles ont été trouvés dans le compost, le foin fermenté et les condenseurs des réfrigérateurs et des climatiseurs. *Actinoplanes* et *Actinosynnema* sont présents dans les sols cultivés et les débris végétaux, le long des rives des rivières et des lacs. *Micromonospora* préfère les fonds des lacs et des réservoirs. *Alternaria sporangia* est un actinomycète des surfaces forestières. *Microbispora* et *Actinomadura* préfèrent les sols cultivés. Les *Streptomyces*, par contre, sont cosmopolites (**Xu et al., 1996**).

Selon **Lewin (2016)**, Les actinobactéries sont omniprésentes et constituent l'un des groupes de bactéries les plus diversifiés de la nature. Ses membres vont des organismes unicellulaires anaérobies aux lignées aérobies, filamenteuses et sporulées. À lui seul, le genre *Streptomyces* représente près de 5 % des 16 000 espèces bactériennes décrites.

### 1.3. Rôles et impact

En plus de leur importante influence sur la santé humaine, les actinobactéries jouent des rôles écologiques clés. Leur impact sur la productivité agricole a travers la décomposition de la matière organique du sol et ainsi, la biodisponibilité des nutriments au plante a été largement discuté par **Waksman (1931) et Hopwood et al., (2007)**. Plus récemment, les actinobactéries se sont avérées être des symbiotes répandues des eucaryotes, aidant les herbivores à accéder à la biomasse végétale en tant que mutualistes nutritionnels et produisant des produits naturels en tant que mutualistes défensifs. Les études sur les actinobactéries en tant que mutualistes défensifs ont conduit à la découverte

de nouveaux antibiotiques avec des applications pharmaceutiques potentielles ; renouvelant la reconnaissance de l'intérêt de comprendre l'écologie des actinobactéries pour la découverte de médicaments et rappelant le voyage de Waksman vers la découverte de la streptomycine (Lewin *et al.*, 2016).



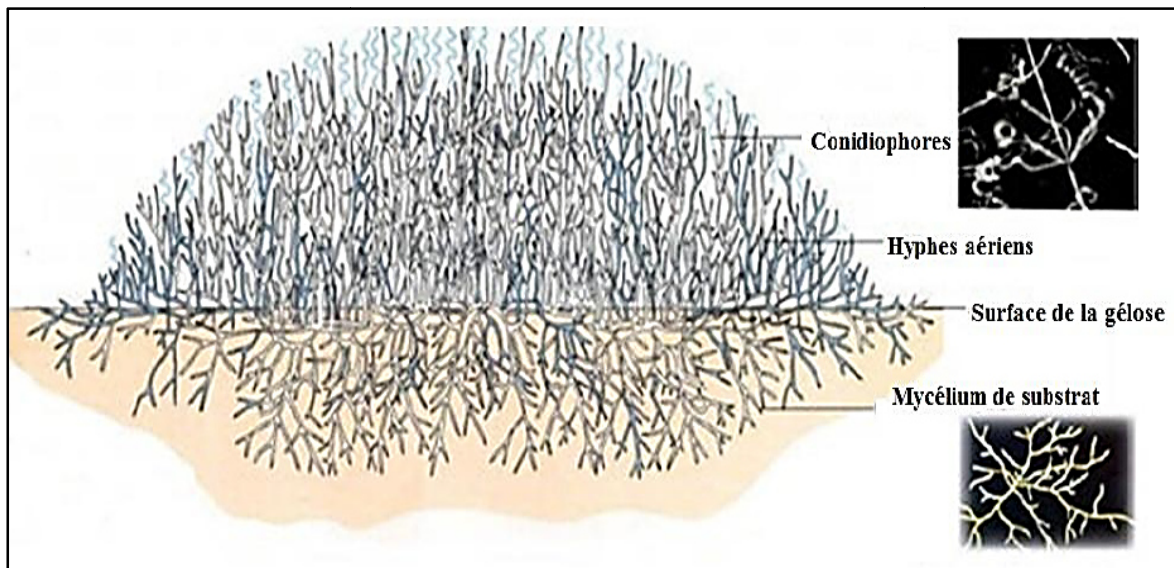
**Figure 1.** Les actinobactéries dans la nature. (a) Une fourmi coupeuse de feuilles *Acromyrmex* dans son jardin de champignons, couverte de bactéries *Pseudonocardia* blanches. (b) Une souche de *Streptomyces* se développant sur de la biomasse végétale en décomposition. (c) Nodules de *Frankia* sur les racines d'un olivier russe. (d) Radiographie montrant un poumon sain à gauche et une croissance de *Mycobacterium tuberculosis* à droite (Lewin *et al.*, 2016).

#### 1.4. Biologie et développement

Les actinobactéries présentent la plus grande différenciation morphologique parmi les bactéries gram-positives (Li *et al.*, 2015). En matière de morphologie, elles vont de simples bacilles diphtéroïdes (la plupart des mycobactéries) aux formes complexes d'hyphes telles que (le genre *Streptomyces*) (Gottlieb, 1973). Cette variation morphologique s'accompagne généralement d'une différenciation marquante dont le cycle biologique est comparable à celui de certains eucaryotes. Certaines peuvent exprimer du mycélium sur et/ou dans le milieu (mycélium végétatif) ou dans l'air au-dessus du substrat (mycélium aérien) (Kitouni., 2007). L'ensemble de la structure d'une cellule d'hyphes correspond à l'organisation bactérienne : le cytoplasme contient des régions d'ADN génomique, des ribosomes et diverses inclusions, probablement des substances de réserve (polyphosphates, lipides, polysaccharides). Les actinomycètes classiques ont un mycélium radial bien développé (Figure 02).

Certaines actinobactéries peuvent former des structures compliquées, telles que la spore, la chaîne de spores, le sporange et la sporangiospore. Les modes de croissance et de fracture du mycélium de substrat, la position de la spore, le nombre de spores, les structures de surface de la spore, la forme des sporanges et la présence ou non de flagelles

chez les sporangiospores sont des caractéristiques morphologiques longtemps utilisées pour la classification des actinobactéries(Li *et al.*,2015).



**Figure 2.** Colonies d'actinomycètes se développant sur de la gélose (morphologie commune des actinomycètes, la section transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant le mycélium de substrat et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores) (Li *et al.*, 2015).

#### 1.4.1. Le mycélium de substrat

Appelé aussi mycélium végétatif ou mycélium primaire, le mycélium de substrat se développe dans le milieu ou à la surface du milieu de culture. La fonction principale du mycélium de substrat est l'absorption des nutriments pour la croissance des actinobactéries. Au microscope, les mycéliums de substrat sont minces, transparents, à phase sombre, et plus ramifiés que les hyphes aériens. L'hyphe unique a une épaisseur d'environ 0,4 à 1,2  $\mu\text{m}$ , ne forme généralement pas de diaphragmes et de fractures, capable de développer des branches. Chez des groupes minoritaires (comme *Nocardia*), il est rudimentaire à largement ramifié comme les racines. Les hyphes de substrat se fragmentent souvent *in situ* ou lors d'une perturbation mécanique en éléments coccoïdes ou en formes de bâtonnets, non mobiles lorsqu'ils ont atteint un certain stade de croissance.

#### 1.4.2. Le mycelium aérien

Le mycélium aérien est l'hyphe que le mycélium de substrat développe dans l'air. Parfois, les hyphes aériens et les mycéliums de substrat sont difficiles à distinguer. Il est facile de les distinguer par une préparation d'empreinte sur une lamelle couvre-objet, observée dans un système sec avec un microscope optique : les hyphes du substrat sont

minces, transparents et de phase sombre ; les hyphes aériens sont grossiers, réfringents et de phase claire. Les hyphes du mycélium aérien sont caractérisés par une gaine fibreuse, sauf les genres *Pseudonocardia* et *Amycolata*. Elle est composée d'éléments fibrillaires et de courts rameaux, formant un motif caractéristique. La gaine fibreuse est également présente sur les hyphes aériens de sporulation, ce qui explique les différentes ornementsations de surface de la spore. La formation de toutes sortes d'hyphes aériens d'actinobactéries dépend des caractéristiques de l'espèce, des conditions nutritionnelles ou des facteurs environnementaux. Le mycélium aérien de certains genres se développe en un hyphe reproducteur, produisant des spores (figure 03).



**Figure 3.** Microgramme de production de spores en chaînes courtes. *Catellatospora* sp. MB-VE 1321 Contributor: G. Vobis Source: [The Society for Actinomycetes Japan](#) (Hayakawa, 2008)

## 1.5. Métabolisme bactérien et actinomycètes

Durant le cycle de croissance bactérienne, de nombreux métabolites de diverses natures sont produits en fonction des phases de croissance pour servir à la biosynthèse du matériel cellulaire ou en réponse aux fluctuations des conditions du milieu. Ces métabolites sont généralement répartis en métabolites primaires et métabolites secondaires (Belle, 1998).

### 1.5.1. Les métabolites primaires

Les métabolites primaires sont produits pendant la phase de croissance des bactéries (trophopase), quand l'ensemble des voies cataboliques et anaboliques sont catalysées par

des enzymes spécifiques et soumis à divers contrôles. Ces voies fournissent à la cellule les métabolites intermédiaires, ainsi que l'énergie nécessaire à la biosynthèse des macromolécules essentielles telles que les protéines, les lipides, les polysaccharides ou les acides nucléiques. Les métabolites primaires sont pratiquement identiques pour tous les organismes vivants (animaux, végétaux, microorganismes) **(Larpent et Sanglier, 1989)**.

### 1.5.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont produits après la fin de la phase de croissance des bactéries (idiophase), le métabolisme secondaire n'est pas indispensable à l'organisme producteur, bien qu'il joue vraisemblablement un rôle pour sa différenciation et sa survie dans le milieu naturel **(Grafe, 1988)**. Ces métabolites possèdent en général des structures chimiques diverses, formant souvent des familles de composés, Les métabolites secondaires possèdent une plus grande variété de voies que les métabolites primaires et ils possèdent une bioactivité (Strub, 2008). Les antibiotiques constituent le groupe le plus important des métabolites secondaires synthétisés par les microorganismes, notamment les actinomycètes **(Sanglier et Trujillo, 1997, Kim et al., 2000)**.

Continuellement de nouveaux métabolites secondaires à différentes activités biologiques sont découvertes chez des souches d'actinomycètes **(Williams et al., 1993 ; Lopes et al., 1999 ; Khattabia et al., 2002)**. La grande majorité des métabolites isolés sont originaires des espèces du genre *Streptomyces* **(Sanglier et al., 1993 ; Anderson et Watve et al., 2001)**. Les actinomycètes jouent un rôle très important dans le secteur pharmaceutique **(Prescott et al., 2002)**. De nombreux isolats produisent des substances intéressantes, telles que: les acides aminés, les enzymes **(Larpent et Sanglier, 1989)**.

Les actinomycètes sont également de bons producteurs d'antibiotiques tel que les oligosaccharides, les tétracyclines, les macrolides, le chloramphénicol et d'autres molécules antifongiques **(Larpent et Sanglier, 1989)**. Par exemple, la streptomycine produite par *Streptomyces griseus*, le chloramphénicol par *Streptomyces venezuela* ou encore l'auroéomycine et tétracycline par *Streptomyces aureofaciens*. En plus des antibiotiques, les actinomycètes produisent des acides (*Streptomyces*) et des alcools, de l'isobutylacetate, et de l'huile géosmine isolée d'espèce *Streptomyces griseus*. D'autres substances antibactériennes et antitumorales (actinomycine, adriamycine, rebeccamycine, mitomycine et dannomycine), insecticides (rnikkomycine), pesticides (antimycine A), herbicides (phinotricine) et immunosuppressives et immunostimulantes (la rapamycine et le FK500)



sont également produites par des actinomycètes (**Chun *et al.*, 1997 ; Sanglier et Trujillo, 1997 ; Moore *et al.*, 1999 ; Petrosyan *et al.*, 2003**). Certaines souches interviennent même dans la transformation des stéroïdes en dérivés plus intéressants (**Prescott *et al.*, 2007**).

Les actinomycètes peuvent donc être considérées comme une source non négligeable d'antibiotiques naturels. La recherche de souches nouvelles 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.

## **2. Les antibiotiques**

Un médicament est une substance ayant des propriétés thérapeutiques, prophylactiques ou diagnostiques. Un médicament est plus couramment utilisé pour guérir, favoriser la guérison, soulager ou prévenir les maladies des personnes ou des animaux. Les antibiotiques sont donc des médicaments ; des molécules capables de tuer (bactéricide) ou de limiter la propagation bactérienne (bactériostatique). Ils sont utilisés en médecine pour lutter contre les infections. Les antibiotiques, doivent être sélectionnés en fonction de leur efficacité contre les bactéries à combattre. Ils sont, soit fabriqués à partir de cultures microbiennes comme métabolites de ces dernières, soit entièrement issus d'une synthèse chimique, soit constitués d'un mélange de fraction synthétique et d'autres fractions (**Mouna, 2012**).

### **2.1. Définition**

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**).

### **2.2. Classification**

#### **2.2.1. Critères de classification**

Les antibiotiques sont classés selon plusieurs critères :

- ❖ **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semisynthétique) (Kassah-Laouar, 2020).
- ❖ **Mode d'action** : antibiotique actif sur la paroi, la membrane, la synthèse protéique et la synthèse des acides nucléique (Tchiengang, 2019).
- ❖ **Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) (Delarras, 2007).
- ❖ **Nature chimique** : basées souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$ -lactame) sur laquelle il y a une hémisynthèse. Cette dernière classification nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$ -lactamines, aminosides, tétracyclines etc.). Souvent, la structure chimique d'un antibiotique conditionne son mode d'action (Kassah-Laouar, 2020).

### 2.2.2. Classification selon mode d'action

La classification basée sur le mécanisme d'action rend compte des propriétés particulières de chaque groupe d'antibiotiques (Walsh, 2000).

#### a. Inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane

De nombreux antibiotiques inhibent la synthèse du peptidoglycane, un composant essentiel de la différenciation bactérienne Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>. La synthèse de la paroi bactérienne est composée de trois étapes successives : La première étape implique la formation d'unités de base, l'UDP-N-acétylglucosamine et l'UDP-N-acétylmuramyl-pentapeptide. La deuxième étape permet à ces deux précurseurs de passer à travers un système de transport lipidique et de se combiner pour former une molécule de disaccharide-pentapeptide. Au cours de la troisième étape, cette molécule se lie au peptidoglycane préexistant, et à ce stade, deux enzymes essentielles interviennent : une transglycosylase (fixation des disaccharide-pentapeptides entre eux et formation de chaînes polysaccharidiques) et une transpeptidase (liaison des chaînes entre elles : liaison peptidique). Chacune de ces étapes peut être perturbée par l'action des antibiotiques. Par exemple, les  $\beta$ -lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane (Smaoui, 2010).

#### b. Antibiotiques actifs sur la membrane plasmique

Les antibiotiques polypeptidiques (polymyxine, tyrothricine, etc.) ont la capacité unique de se lier aux phospholipides de la membrane cytoplasmique, qui est ainsi désorganisée. Cette action est aussi efficace sur les bactéries métaboliquement actives que sur les bactéries dormantes. En conséquence, une fuite des constituants cytoplasmiques se produit, entraînant la mort cellulaire (**Yala et al., 2001**).

*c. Inhibiteurs de la synthèse protéique*

De nombreux antibiotiques inhibent la synthèse des protéines en se liant au ribosome et à d'autres composants du processus traductionnel, affectant une ou plusieurs étapes de ce dernier : fixation de l'acide aminé-ARN, formation de liaisons peptidiques, translocation et lecture de l'ARNm (**Prescott et al., 2013**).

- ❖ **Macrolides** : empêchent la synthèse des protéines en se fixant à la sous-unité 50S du ribosome. Les macrolides inhibent la translocation des acides aminés et leur incorporation ultérieure (**Smaoui, 2010**).
- ❖ **Aminoglycosides** : perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome, entraînant la destruction bactérienne (**Yala et al., 2001**).
- ❖ **Chloramphénicol** : se fixe à l'ARNr 23S sur la sous-unité 50S (au site A) du ribosome et inhibe la peptidyltransférase (**Prescott et al., 2013**).
- ❖ **Tétracyclines** : Ils inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome et ils inhibent la fixation des molécules d'acide aminé-ARN sur le site A du ribosome (**Lavigne, 2007 ; Prescott et al., 2013**).

*d. Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques et de leurs précurseurs*

Les inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques ciblent soit l'ADN polymérase et l'ADN hélicase soit l'ARN polymérase. Ils empêchent ainsi la réplication ou la transcription (**Prescott et al., 2013**). Dans cette catégorie, on retrouve :

- ❖ **Quinolones** : Agissent sur les enzymes qui régulent la conformation de l'ADN, telles que les topoisomérases (notamment l'ADN gyrase). L'inhibition de l'activité de ces enzymes empêche tout changement conformationnel et la synthèse d'ADN (**Smaoui, 2010**).
- ❖ **Rifamycines** : La molécule inhibe la synthèse protéique à une étape très précoce puisqu'il s'agit d'une inhibition de la transcription de l'ADN en ARN messager. La

rifampicine se fixe sur une sous-unité de l'ARN polymérase et bloque son action (Gaudy et Buxeraud, 2005).

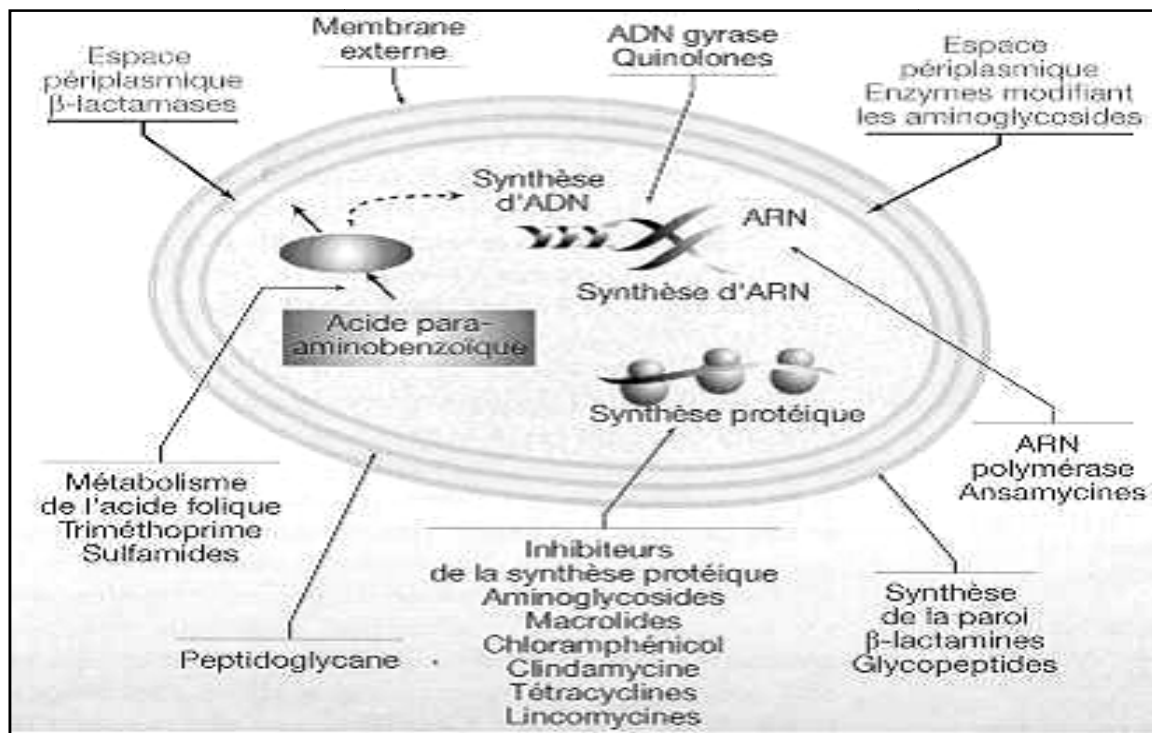


Figure 4. Cibles et modes d'action des antibiotiques (Davies et Mazel, 1997).

## 2.3. Résistance des bactéries aux antibiotiques

### 2.3.1. Définition

On dit qu'une bactérie est « résistante » vis-à-vis d'un antibiotique lorsque la concentration minimale inhibitrice de ce dernier (CMI) est supérieure à celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches du même espèce (Carle, 2009).

Une bactérie est considérée multirésistante lorsqu'une accumulation de résistances naturelles et acquises à plusieurs antibiotiques est constatée. Les bactéries multirésistantes ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques (Carle, 2009).

### 2.3.2. Résistance naturelle

La résistance naturelle est un trait partagé par toutes les souches d'une même espèce, et les gènes de résistance font partie de leur patrimoine génétique. La résistance bactérienne naturelle est d'origine chromosomique et est permanente. La résistance naturelle est stable et peut être transmise à la progéniture (transmission verticale) lors de la

division cellulaire, mais elle ne peut pas être transmise d'une bactérie à une autre (transmission horizontale) (Carle, 2009).

### 2.3.3. Résistance acquise

La résistance acquise n'est pas un trait de l'espèce. L'acquisition d'une résistance est le résultat d'un événement génétique : soit une mutation bactérienne au sein de la population de l'espèce (nouvelle résistance) ; soit une acquisition d'un gène de résistance porté par un plasmide ou un transposon d'une autre bactérie (Schlemmer, 2009).

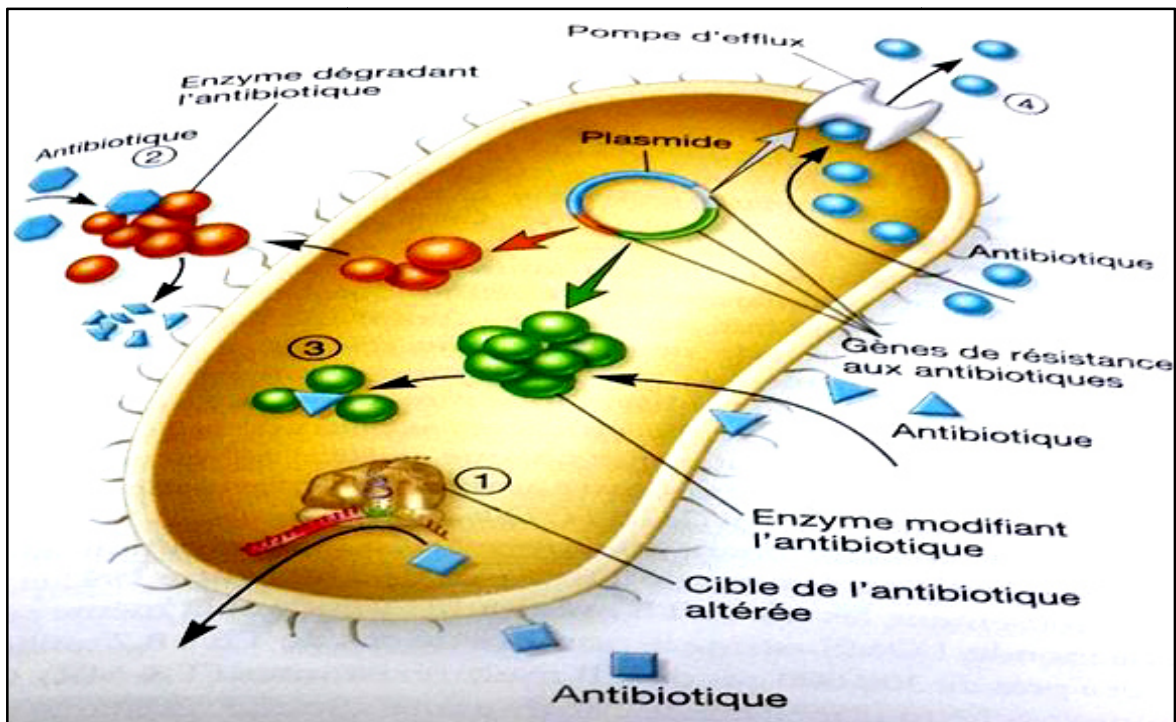


Figure 5. Mécanisme de résistance aux antibiotiques (Bouaziz, 2018)

# **Chapitre II**

## **Matériel et méthodes**

La partie pratique de notre travail a été réalisée aux laboratoires de microbiologie de la faculté SNVST de l'université de Bouira durant 2 mois à partir de Mai 2022. 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.

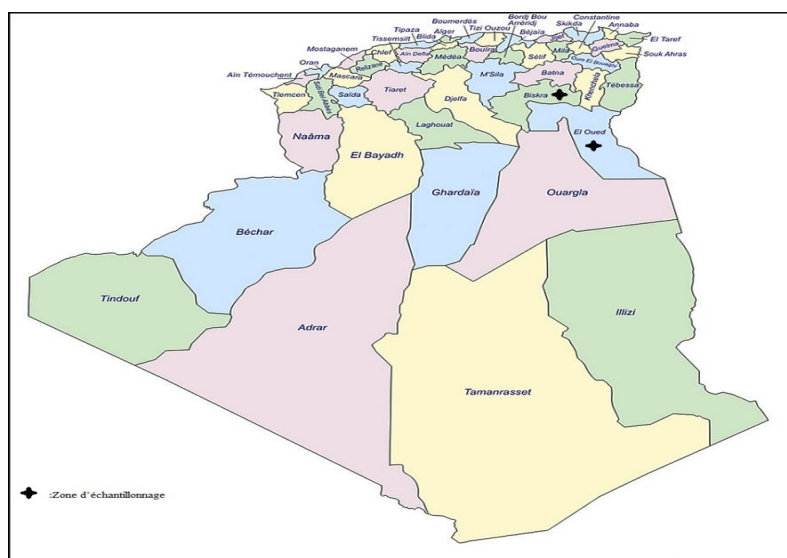
## 1. Échantillonnage

Quatre échantillons (E1, E2, E3 et E4) de sol sont prélevés de différents sites appartenant aux deux wilayas Biskra et Oued Souf, situées au sud de l'Algérie.

Les échantillons sont prélevés à l'aide d'une grande spatule stérile, les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés, on prélève alors le sol de la couche sous-jacente (entre 5 et 30 cm de profondeur). 100 à 150 g de terre, sont déposés sur une feuille d'aluminium. Les gros débris sont écartés (pierres, racines, etc.) et environ 50 g sont placés dans un flacon stérile et transportés le plus rapidement possible au laboratoire pour analyse (**Pochon et Tardieux, 1962**).

**Tableau 2.** Localisation géographique des stations d'échantillonnage

Wilaya	Région (échantillon)	Latitude	Longitude	Étage bioclimatique
El Oued	Soualah (E1)	33° 19'40"	6° 53'20"	Saharien
Biskra	Lichana (E2)	34° 43'29"	5° 25'57"	Saharien
Biskra	Bouhegroun (E3)	34° 43'18"	5° 27'56"	Saharien
Biskra	Lichana (E4)	34° 43'29"	5° 25'57"	Saharien



**Figure 6.** Régions d'échantillonnage (**Djazaïrouna l'Atlas pratique de l'Algérie, 2004**).

## 2. Isolement des actinomycètes

### 2.1. Les milieux de cultures

Pour l'isolement des actinomycètes, deux milieux de culture ont été utilisés :

- **Milieu williams (Williams et Kuster, 1964)** : Amidon : 10g; caséine : 0,3g; KNO<sub>3</sub> : 2g; NaCl : 2g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 2g; MgSO<sub>4</sub> . 7H<sub>2</sub>O : 0,05g; CaCO<sub>3</sub> : 0,02g; FeSO<sub>4</sub> . 7H<sub>2</sub>O : 0,01g; Agar : 18g; Eau distillée : 1000 ml. pH 7,2.
- **Milieu Czapek** : NaNO<sub>3</sub> :3g ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> :1g ; MgSO<sub>4</sub> .7H<sub>2</sub>O :0.5g ; KCl : 0.5g ; FeSO<sub>4</sub> . 7H<sub>2</sub>O :10.0 mg ; Amidon : 10.0g ; Agar : 18.0 g ; Eau distillée : 1000 ml. pH 7,2

### 2.2. Préparation des suspensions et ensemencement

10 g de chaque échantillon de sol sont ajoutés à 90 ml d'eau physiologique stérile et homogénéisés au vortex pour constituer la solution mère, considérée comme une première dilution. À partir de cette suspension, des dilutions décimales jusqu'à 10<sup>-6</sup> ont été préparées. Des volumes de 100µl de chaque dilution ont été étalés sur la surface des milieux culture utilisés (**Kumar et al., 2010**).

Après ensemencement, les boîtes sont incubées à 28±1°C durant une période allant jusqu'à 4 semaines et examinées régulièrement.

### 2.3. Observation microscopique

Les colonies qui se rapprochent des actinomycètes par leurs aspects macroscopiques, colonies dures et incrustées dans la gélose, sont prélevées et observées au microscope optique, en utilisant la coloration de Gram. L'observation au microscope optique est effectuée avec des grossissements gradués (×100) (**Kalyani et al., 2012**).

### 2.4. Purification et conservation des souches

Les colonies présentant des critères typiques des actinomycètes sont repiquées et purifiées pour obtenir des cultures pures. À l'aide d'une pipette pasteur stérile, un inoculum est prélevé à partir des colonies du milieu d'isolement. Il est ensuite ensemencé par épaissement sur le milieu ISP2 sous forme de stries. Cette dernière opération est répétée jusqu'à obtention de cultures pures (**Boussaber et al., 2012**).



## 2.5. Activité antibactérienne

### 2.5.1. Bactéries cibles

Pour l'étude de l'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des bactéries pathogènes, deux souches bactériennes de références [*AmericanTypeCultureCollection (ATCC)*](**Tableau 05**).

**Tableau 3.** Souches bactérienne ciblées dans le test d'activité antibactérienne

Espèce	Gram	Code
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC6538

### 2.5.2. Préparation du milieu de culture

Vingt-cinq gramme du milieu Muller-Hinton déshydraté ont été versés dans 1 litre d'eau distillée jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Par la suite, le milieu a été stérilisé à l'autoclave (121°C pendant 15 minutes). En fin, les boîtes de pétri ont été coulé, et laissée solidifier près du bec benzène. Après solidification, les boîtes ont étéensemencés avec les deux bactéries cible (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*).

### 2.5.3. Standardisation et ensemencement des bactéries cibles

Afin d'obtenir des inocula jeunes, les souches bactériennes cibles (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) ont été revivifiées sur une gélose nutritive préalablement préparée. Par la suite, les souches ont été incubées à 37°C pendant 24 h.

Après incubation, des colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes cibles ont été prises à l'aide d'une anse de platine. L'anse a été déchargé dans un tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique stérile, La suspension bactérienne a été homogénéisée à l'aide d'un vortex, cela a pour but d'avoir une densité bactérienne de  $10^8$ UFC/mL, correspondant à une densité optique de 0.08 à 0.10, lue à une longueur d'onde de 620 nm.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop chargé. Après standardisation des inocula, les bactéries cibles ont étéensemencées sur le milieu Muller-Hinton.

L'ensemencement a été réalisé par la méthode d'écouvillonnage sur les boîtes de Pétri préalablement préparées. Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne standardisée et est étalé par la suite sur la totalité de la surface gélosée en stries serrées (Reghioua *et al.*, 2006).

#### 2.5.4. Préparation des actinomycètes isolées

Afin d'étudier l'activité antibactérienne des actinomycètes isolées et de leurs surnageants, elles ont été incubées sur différents milieux de culture liquides afin d'apercevoir l'effet de la composition du milieu de culture sur la croissance et la production de métabolites secondaires par les actinomycètes isolées.

Chacune des souches d'actinomycètes est mise en culture dans 7 ml des bouillons : Williams, MSG, MSA et MSAE. Puis incubées 7 jours à  $28\pm 1^\circ\text{C}$  avec agitation. Des puits de 6 mm de diamètre sont creusés dans le milieu Muller-Hinton préalablement ensemencés avec les deux bactéries cible (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*). 20  $\mu\text{L}$  de chaque culture d'actinomycète (ou du surnageant de la culture) ont été déposés dans chaque puits. Les boîtes de Pétri sont incubées à  $37\pm 1^\circ\text{C}$  pendant 24 h. Les diamètres de la zone d'inhibition sont alors mesurés. Les surnageants sont obtenus par centrifugation des cultures d'actinomycètes à partir de chaque milieu de culture [15 minutes à 3000 rotations par minute à  $4^\circ\text{C}$ ]. Les surnageants sont filtrés à travers des filtres millipores (0,22  $\mu\text{m}$  de diamètre) avant remplissage des puits (Lemriss *et al.*, 2003 ; Duraipandiyan *et al.*, 2010).

# **Résultats et Discussion**

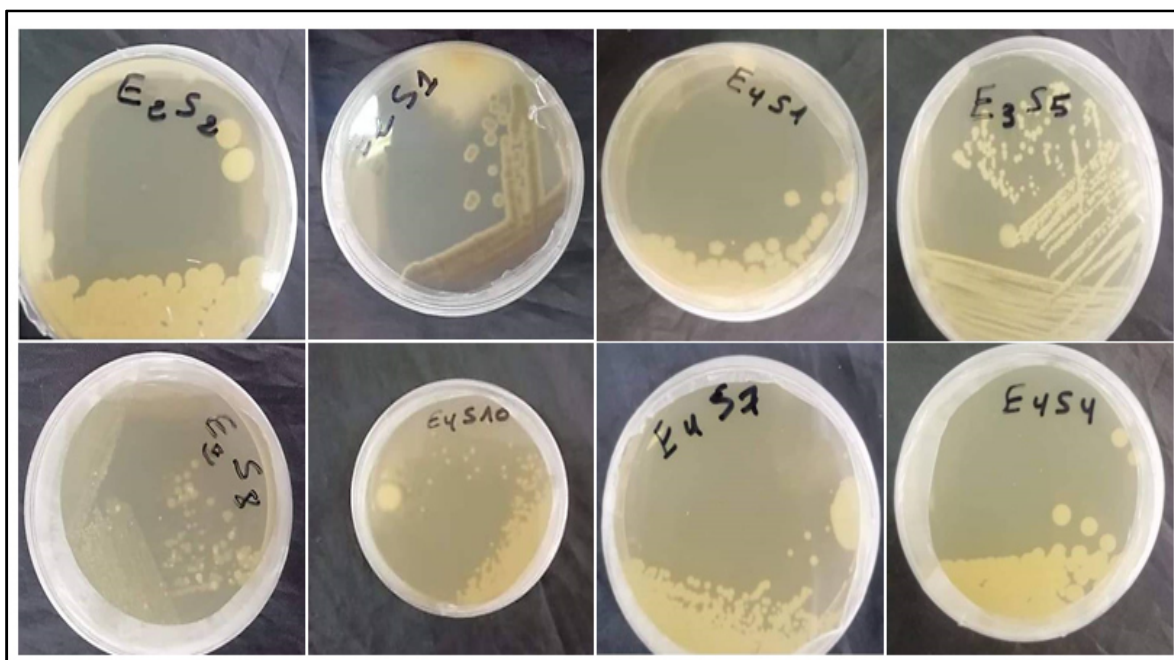
### 1. Isolement des actinomycètes

Les colonies d'actinomycètes apparaissent après 14 à 21 jours d'incubation sur les deux milieux d'isolements utilisés (Milieu williams, Milieu czapek). Ces colonies sont reconnues par leurs aspects macroscopiques (colonies dures incrustées dans la gélose) et microscopiques (aspects filamenteux ramifié). Les résultats de l'isolement des colonies d'actinomycètes à partir des (4) échantillons du sol, sont présentés dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Nombre de colonies d'actinomycètes isolés à partir de chaque échantillon.

Région	Oued Souf	Biskra		
Les échantillons	E1	E2	E3	E4
Nombre de colonies	0	3	1	4

Un totale de 8 colonies d'actinomycètes sont isolées à partir du sol de Biskra et aucune partir du sol d'Oued Souf. Le plus grand nombre d'isolat est obtenue à partir de l'échantillon E4 par 4 colonies, une colonie a été isolée à partir de l'échantillon E3 et trois colonies à partir de l'échantillon E2.



**Figure 7.** Colonies d'actinomycètes isolées à partir des 4 échantillons (**Originale**)

Les résultats d'isolement indiquent que 8 actinomycètes ont été isolés à partir de 3 échantillons du sol prélevés dans les différents endroits de Biskra (E2, E3, E4). Ce nombre faible d'actinomycètes isolés peut-être expliqué par la période d'échantillonnage réalisé en (avril). Les résultats indiquent aussi que les actinomycètes sont absents dans l'échantillon (1) du sol prit à Oued Souf. Ceci peut s'expliquer par le taux de la matière organique faible pour cet échantillon. Ces résultats concordent avec les travaux de **Mahmoud *et al.*, (2005)**, ils ont isolé Vingt-sept (27) souches d'actinomycètes de trois sols sahariens du sud-est algérien. Le sol de la région de Biskra a donné le plus grand nombre d'actinomycètes, soit 52 % contre 18 % et 30 % pour les sols d'El-Oued et d'Ourgla, respectivement.

Les résultats présents dans le **tableau 04**, indiquent une distribution hétérogène des actinomycètes isolés à partir de chaque échantillon du sol. En effet cela est dû à la différence dans les facteurs physico-chimiques, qui influent considérablement sur le nombre actinomycètes (**Hop *et al.*, 2012 ; Adegboye *et al.*, 2012**). Selon **Lee et Hwang (2002)**, les trois facteurs écologiques les plus importants qui influent sur la diversité des actinomycètes dans le sol sont : le pH, la matière organique et l'humidité. D'autres facteurs sont aussi importants comme la température du sol, le type du sol, la végétation et l'emplacement géographique etc. (**Adegboye *et al.*, 2012**).

Le plus grand nombre des colonies des actinomycètes isolés sont récupérés à partir de l'échantillon E4, avec 4 colonies, cela peut être expliqué par sa richesse en matière organique par rapport aux autres échantillons. Ceci est corroboré avec plusieurs travaux qui affirment que le nombre des actinomycètes est en corrélation positive avec le pourcentage de la matière organique (**Hayakawa *et al.*, 1988. George *et al.*, 2010**).

## **2. Résultats de l'activité antimicrobienne**

Nous avons testé l'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes contre les microorganismes cibles par la méthode des puits, Les résultats obtenus sont montrés dans les tableaux de l'annexe 2.

D'après les résultats trouvés, la plupart des isolats ont montré une activité antimicrobienne contre au moins une des deux bactéries cible. Le culot des souches E2S2, E2S8, E3S5, E4S10 a montré un effet sur les bactéries cible alors que leurs surnageant n'a aucun effet cela indique que les substances bioactives produites par ces souches est endogène, tandis que le culot et le surnageant des souches E4S4 et E4S7 ont montré un

effet sur les deux bactéries, cela signifie que les substances bioactives produites par ces deux souches est exogène (**Tableau 5**).

**Tableau 5.**Activité antibactérienne des culots et des surnageants des différentes souches.

Les souches	Culot	Surnageant
E2S1		+
E2S2	+	
E2S8	+	
E3S5	+	
E4S1		
E4S4	+	+
E4S7	+	+
E4S10	+	

Les quatre isolats, E2S1, E2S2, E4S4 et E4S7, ont montré une activité contre les deux bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, tandis que les trois isolats, E2S8, E3S5 et E4S10 ont inhibé seulement la croissance de *Staphylococcus aureus*, alors que la souche E4S1 n'a montré aucune activité vis-à-vis les deux bactéries cible (*Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) (**Figures 8-18**).

La plus grande zone d'inhibition est obtenue par l'isolat E4S7 avec 20 mm de diamètre contre *Pseudomonas aeruginosa*, suivie par l'isolat E4S4 contre la même bactérie par une zone d'inhibition de 16 mm de diamètre.

Par rapporte à ces résultat, 07 isolats sont actifs contre la bactérie à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et 04 contre la bactérie à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*), Ce qui nous amène à dire que la bactérie *Staphylococcus aureus* à Gram positif est plus sensible par rapport à la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à Gram négatif, Donc, on peut dire aussi que y a une relation entre l'effet des substances produites par les souches d'actinomycètes isolées et le type de gram de la bactérie cible. Cela dû peut-être à la structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram-négatives qui est constituée essentiellement de Lipopolysaccharide (LPS).

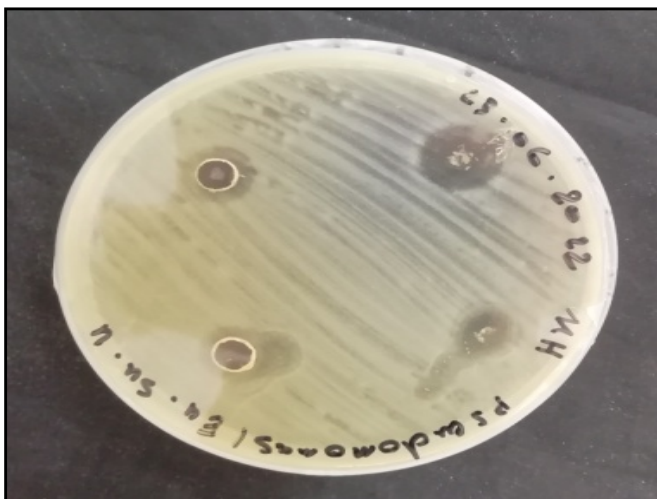


**Figure 8.** Activité (culot et surnageant) de la souche E2S2 contre *Pseudomonasaeruginosa*(Originale).

La majorité des actinomycètes isolés au cours de ce travail ont montré une activité antimicrobienne contre au moins un microorganisme test utilisé. En effet plusieurs travaux ultérieurs ont corroboré le pouvoir antibactérien remarquable de ces bactéries (McKenzie et al., 2010 ; Mythili et Ayyappa, 2011 ; Ng et Amsaveni, 2012).



**Figure 9.** Activité (culot et surnageant) de la souche E4S4 contre *Staphylococcus aureus*(Originale).



**Figure 10.** Activité (culot et surnageant) de la souche E4S4 contre *Pseudomonasaeruginosa*(Originale).

Reghioua et *al.*, (2006) ont isolé 10 souches d'actinomycètes à partir d'un échantillon prélevé à partir d'échantillons de sol aride prélevés dans la région de Biskra où tous les isolats sont présentés une activité antibactérienne plus ou moins importante contre toutes les bactéries-tests utilisées.

Ameur et Ghoul *etal.*, (2012) ont isolé sept actinomycètes à partir d'un échantillon du sol de Sétif (Algérie) dont une possède une activité antimicrobienne intéressante.

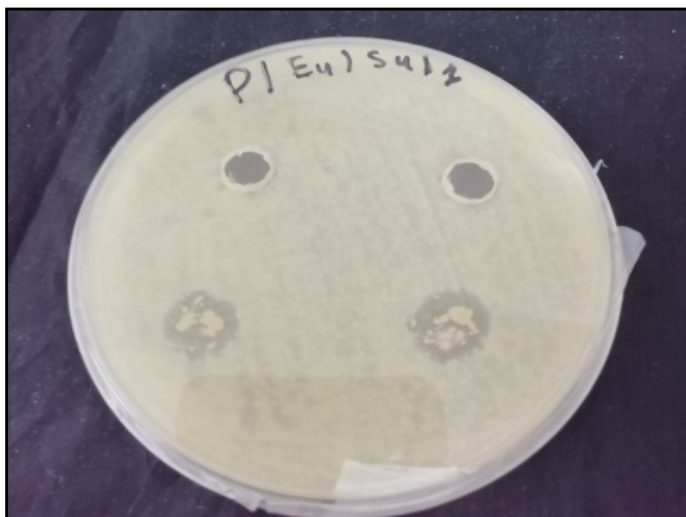


**Figure 11.** Activité (culot et surnageant) de la souche E4S4 contre *Staphylococcus aureus*(Originale).





**Figure 12.** Activité (culot et surnageant) de la souche E2S2 contre *Staphylococcus aureus*(Originale).

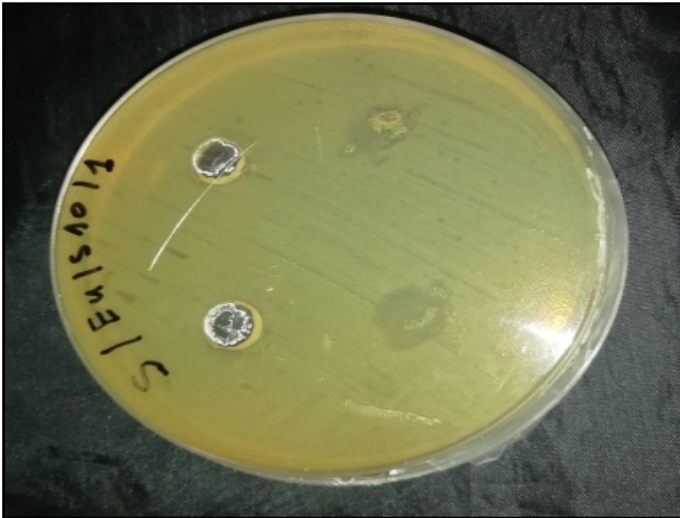


**Figure 13.** Activité (culot et surnageant) de la souche E4S4 contre *Pseudomonas aeruginosa*(Originale).

Les résultats de l'activité antimicrobienne indiquent que la plupart des isolats sont actifs sur les bactéries à Gram positif (*S. aureus*) que sur les bactéries à Gram négatifs (*P. aeruginosa*). Cela, peut-être attribué à la différence morphologique qui existe entre les deux types bactériens. Aussi les résultats de **Fortas et al. (2017)** ; **Aouiche et al., (2012)** ; **Belghit et al., (2016)** ; **Khebizi et al. (2018)** (**Badji et al. (2006)**) montrent que toutes les souches ont une grande activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*. Plusieurs chercheurs aussi ont observé la résistance remarquable des bactéries à Gram négatifs par rapport aux bactéries Gram positif (**Ullah et al., 2012** ; **Omar et al., 2013**).

Des résultats similaires ont été trouvés par **Cwala et al., (2011)**, dont il a été testé l'activité antimicrobienne de quatre espèces appartenant à trois genres d'actinomycètes.

Les résultats trouvés indiquent que les isolats d'actinomycètes sont plus actifs sur des bactéries de coloration de Gram positif que sur des bactéries de coloration de Gram négatif.

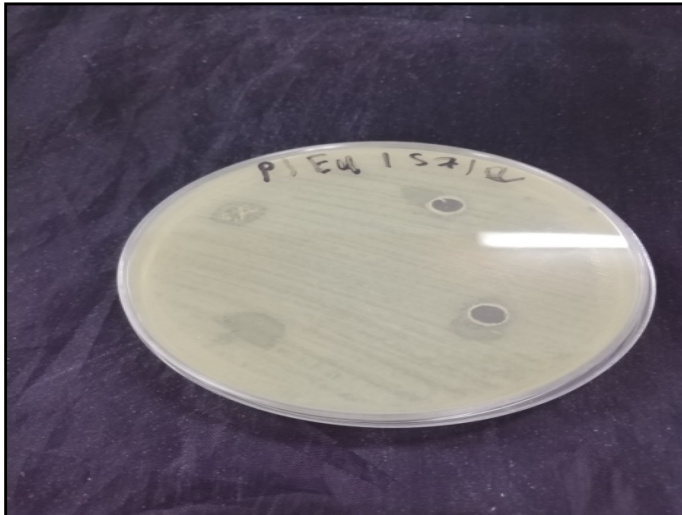


**Figure 14.** Activité (culot et surnageant) de la souche E4S10 contre *Staphylococcus aureus* (Originale).

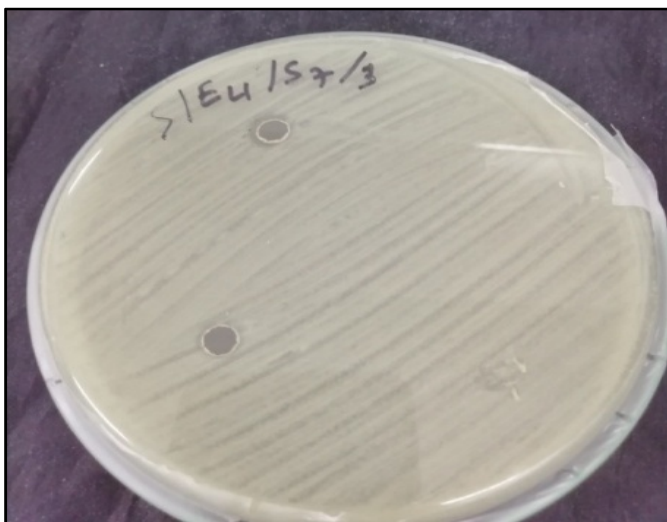


**Figure 15.** Activité (culot et surnageant) de la souche E2S1 contre *Staphylococcus aureus* (Originale).

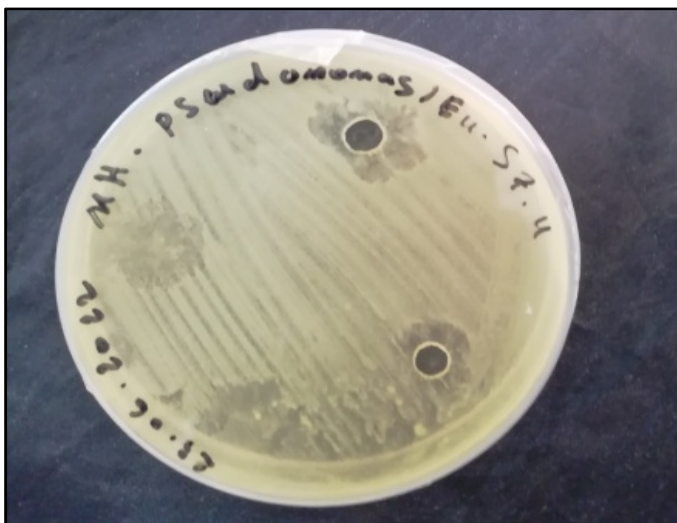
Au contraire à nos résultats dont on a trouvé que 04 isolats ont une activité contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, les travaux d'Aouiche et al. (2012) ; Khebizi et al. (2018) et Badji et al. (2006), ont montré qu'il n'y a aucune souche à une activité antimicrobienne contre *Pseudomonas aeruginosa*.



**Figure 16.** Activité (culot et surnageant) de la souche E4S7 contre *Pseudomonasaeruginosa*(Originale).



**Figure 17.**Activité (culot et surnageant) de la souche E4S7 contre *Staphylococcus aureus*(Originale).



**Figure 18.**Activité (culot et surnageant) de la souche E4S7 contre *Pseudomonasaeruginosa*(Originale).

### 3. Étude du milieu sur l'activité antibactérienne des actinomycètes

Dans cette optique nous avons testé cinq milieux préconisés pour la production des substances antimicrobiennes qui sont : MSA, MSAE, MSG et MW (**Annexe1**). Les résultats obtenus sont montrés dans le **Tableau 14**.

Les résultats obtenus montrent que le meilleur milieu de culture pour la production d'antibactériens est le milieu MSAE sur lequel la plupart des souches d'actinomycètes se sont montrées actives contre toutes les bactéries-test (**Tableau 14**). Les huit (08) souches présentent 75 % des activités détectées sur le milieu MSAE. Contrairement au milieu MSA qui est le faible milieu pour la production des antibactériens par rapport aux autres qu'on a utilisé, il a présenté une seule activité réalisée par le surnageant de la souche E2S1 contre la bactérie *P. aeruginosae*.

L'influence des milieux de cultures sur l'activité des différentes souches d'actinomycètes isolées, et la comparaison entre eux.

**Tableau 6.** Effet de la composition du milieu sur l'activité antibactérienne.

Échantillon	Souches	MSA		MSAE		MSG		WM	
		C	S	C	S	C	S	C	S
E2	E2S1		+					+	+
	E2S2			+				+	
	E2S8			+					
E3	E3S5			+					
E4	E4S1								
	E4S4			+		+	+	+	+
	E4S7			+		+	+	+	+
	E4S10			+					

C : Culot / S : Surnageant

Les résultats trouvés confirment que la composition des milieux de culture, en particulier la nature et la concentration des sources de carbone, influent considérablement sur la quantité ainsi que la qualité des substances antimicrobiennes sécrétées par les actinomycètes (**Arasu et al., 2009 ; Song et al., 2012**).

Une faible modification de la composition du milieu de culture peut favoriser ou inhiber cette production. En effet **Kauffmann, (1962) indique** qu'une production intense

d'un antibiotique par une souche d'actinomycète est observée sur un milieu renfermant de l'extrait de malt et 1 % de farine de soja. Cette production n'a pas lieu sur le même milieu avec 0.5 % de farine de soja, bien que la croissance de la souche soit identique sur les deux concentrations de farine de soja.

D'autres études (**Singh *et al.*, 2009**) sur les facteurs nutritionnels ont révélé que la production d'antibiotiques la plus élevée était obtenue lorsque le glucose et le tourteau de soja à 1 % (p/v) étaient utilisés respectivement comme sources de carbone et d'azote. Ils ont montré aussi que sept jours d'incubation à 28 °C est l'optimum pour la production d'antibiotiques par la souche d'actinomycète testé.

Tous ces résultats montrent que la composition de milieu de culture influence la qualité et la quantité des substances produites par les actinomycètes, pour une meilleure production et plus précisément une meilleure croissance des actinomycètes et par conséquent une très bonne activité on doit opter à optimiser les caractéristiques physicochimiques de la production.

# **Conclusion**

## **Conclusion**

Avec l'émergence de nouvelles bactéries pathogènes dans le monde et la propagation de la résistance bactérienne aux antibiotiques actuels, il est de plus en plus primordial de se diriger vers la recherche et le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques contre les infections. Les actinomycètes demeurent la source la plus importante des molécules bioactives. Par manque de molécules innovantes, les chercheurs se sont orientés ces dernières années, vers la recherche des actinomycètes. Les résultats de ce travail montrent que les actinomycètes qui proviennent des sols sahariens de l'Algérie possèdent des activités antibactériennes très intéressantes.

Ce travail constitue une tentative d'isolement et de sélection de bactéries telluriques d'origine saharienne, dont l'intérêt est le criblage de leur aptitude à produire des molécules à activité antagoniste vis-à-vis des bactéries pathogènes. Certaines des bactéries sélectionnées dans le cadre de cette recherche ont montré un potentiel antibactérien remarquables et peuvent constituer de nouvelles sources d'antibiotiques utiles dans la lutte contre les bactéries pathogènes.

Comme perspectives, il est important de passer à l'identification moléculaire précise des bactéries isolées et ayant révélé une activité antagoniste positive. Il est également important de procéder à la purification et l'identification des molécules responsables de cette activité. Des techniques de purification et d'identification émanant de la biologie moléculaire et de la biochimie peuvent être utiles pour y parvenir.

# **Références Bibliographiques**



## Références bibliographiques

**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

**Ameur H ., Ghoul M & al. (2012).** Screening of Actinomycetes Producing Antibacterial Substances and Indole Acetic Acid (IAA) and Optimization of Growth and IAA Production Conditions in *Streptomyces* sp. SF5. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives. Vol 3(3). Pp :545-551

**Arasu M., V Duraipandiyan., V Agastian., P Ignacimuthu S. (2009).** In vitro antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. ERI-3 isolated from Western Ghats rock soil (India). Journal de Mycologie Médicale. Vol: 19. N° 1. Pp: 22-28.

**Barka E.A., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Meier-Kolthoff J.P., Klenk H.-P., Clément C., Ouhdouch Y., van Wezel G.P.(2015)** Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2015;80:1–43. doi: 10.1128/MMBR.00019-15.

**Bastide A., De Méo M., Andriantsoa M., Laget M., & Duménil G. (1986).** Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. MIRCEN journal of applied microbiology and biotechnology, 2(4), 453-466.

**Bouaziz S. (2018).** Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de Doctorat. Université KasdiMerbah-Ouargla.

**Carle S. (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Pharmactuel, 42.

**Chater KF. 2016.** Recent advances in understanding *Streptomyces*. F1000Research. 5:2795.

**Cwala Z., Igbinsola 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.

**Davies J., and Mazel D. (1997).** Comment la résistance vient aux bactéries. Biofutur. 170 : 14-17.

**DELARRAS C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse de contrôle sanitaire. Tec & Doc. Lavoisier, Paris.

**Duraipandiyar V., Sasi A. H., Islam V. I. H., Valanarasu M., & Ignacimuthu S. (2010).** Antimicrobial properties of actinomycetes from the soil of Himalaya. Journal de Mycologie Médicale, 20(1), 15-20.

**Djazairouna l'Atlas pratique de l'Algérie (2004)** 1er Edition de l'Institut national de Cartographie et de télédétection (I.N.C.T). 200p

**EL ABDANI S. (2016).** Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie (Doctoral dissertation).

**El Arbi Boussaber S. B. S., Idrissi, E. L., Kadmiri, I. M., Hilali, L., & Hilali, A. (2014).** Extraction and preliminary characterization of bioactive molecules produced by a new *Streptomyces* strain. *Journal of Environmental Treatment Techniques*, 2(2), 50-55.

**Gaudy Catherin Yala D., Merad A. S., Mohamedi D et Ouar Korich M. N. (2001).** CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES, Buxeraud Jacques (2005) : Antibiotique : pharmacologie et thérapeutique Elsevier /Masson

**George M., George G and Hatha. M. A. A. (2010).** Diversity and antibacterial activity of actinomycetes from wetland soil. The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences. Vol: 28. Pp: 52-57.

**Goodfellow M., Busarakam K., Idris H., Labeda DP., Nouioui I., Brown R., Kim B-Y., del Carmen Montero-Calasanz M., Andrews BA., Bull AT. (2017).** *Streptomyces* *senjoni* 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.

**Goret P., & Joubert L. (1951).** Sur une nouvelle espèce de streptomycetes (streptomycetes *galtieri* n. sp.), isolée d'un cas d'actinomycose septicémique chez le chien. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 26(1-2), 118-127.

**Gottlieb D. (1973).** General consideration and implication of the Actinomycetales. In: Actinomycetales characteristics and practical importance. Edited by G. Sykes and F.A. Skinner. Academic Press, London, New York.

**Grasso L. L., Martino D. C., & Alduina R. (2016).** Production of antibacterial compounds from Actinomycetes. *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*, 214(11), 272-282.

**Guo X., Liu N., Li X., Ding Y., Shang F., Gao Y., Ruan J., Huang Y. (2015).** Red soil harbor 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., Ebricht RH., Fenical W. (2015).** Salinamide F, new depsipeptide antibiotic and inhibitor of bacterial RNA polymerase from a marine-derived *Streptomyces* sp. *J Antibiot (Tokyo)*. 68:206–209.

**Hayakawa M., Ishizawa K., and Nonomura H. 1988.** Distribution of rare actinomycetes in Japanese soils. *J. Ferment. Technol.* Vol: 66. Pp: 367–373.

**Hayakawa M. (2008).** Studies on the isolation and distribution of rare actinomycetes in soil. *Actinomycetologica*, 22(1), 12-19.

**Hop D. V., Sakiyama Y., Binh C. T. T., Otaguro 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.

**Hopwood., David A. (2007).** *Streptomyces* in nature and medicine: the antibiotic makers. Oxford University Press.

**Jiang Z., Guo L., Chen C., Liu S., Zhang L., Dai S, He Q., You X., Hu X., Tuo L., et al. (2015).** Xiakemycin A, a novel pyranonaphthoquinone antibiotic, produced by the

*Streptomyces* sp. CC8-201 from the soil of a karst cave. *J Antibiot (Tokyo)*. 68:771–774.

**Kalyani A.L.T., RamyaSravani K. M., Annapurna J. B.(2012)**. isolation and characterization of antibiotic producing actinomycetes from marine soil samples. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. Vol: 4. N°: 2. Pp: 109-112.

**Kassah-Laouar A. (2020)**. De la définition princeps à la totorésistance. *Revue Aurassienne du laboratoire*, 29.

**Kauffmann. (1962)**. sur les antibiotiques d'origine microbienne. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*. Vol : 255. Pp : 599-601

**Kavagutti V.S., Andrei A.-Ş., Mehrshad M., Salcher M.M., Ghai R.( 2019)**. Phage-centric ecological interactions in aquatic ecosystems revealed through ultra-deep metagenomics. *Microbiome*. ;7:135. doi: 10.1186/s40168-019-0752-0.

**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.

**Kumar N., Singh R. K., Mishra S. K., Singh A. K., & Pachouri U. C. (2010)**. Isolation and screening of soil Actinomycetes as source of antibiotics active against bacteria. *International Journal of Microbiology Research*, 2(2), 12.

**Lamari L.( 2006)**. Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

**Larpent J.P. et Larpent- Gourgaud M., (1985)**. Manuel pratique de microbiologie. Herman. Paris.

**Lauber CL., Hamady M., Knight R., Fierer N. (2009)**. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Appl Environ Microbiol*. ;75(15):5111–20. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

**Lavigne J-P. (2007)**. Effet des antibiotiques et mécanismes de résistance. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.

**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.)

**Lee L-H., Cheah Y-K., MohdSidik S., Ab Mutalib N-S., Tang Y-L., Lin H-P., 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

**Lemriss, S., Laurent F., Couble A., Casoli E., Lancelin J. M., Saintpierre-Bonaccio D & Boiron P. (2003).** Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Canadian Journal of Microbiology*, 49(11), 669-674.

**Léon Le Minor., Michel Véron.(1989).** *Bactériologie médicale*, pages 335-349

**Lewin GR., Carlos C., Chevrette MG., Horn HA., McDonald BR., Stankey RJ., Fox BG., Currie CR.(2016).** Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenergy Applications. *Annu Rev Microbiol.* 8;70:235-54. doi: 10.1146/annurev-micro-102215-095748. PMID: 27607553; PMCID: PMC5703056

**Ludwig W., Euzéby J., Schumann P., Buss HJ., Trujillo ME., Kämpfer P., Whitman WB. (2012).** Road map of the phylum Actinobacteria, p 1–28. *In* Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Suzuki KI, Ludwig W, Whitman WB (ed), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 5. Springer-Verlag, New York, NY.

**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 pod pathogens. *Phytoparasitica* **3**:122–132. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02981312>.

**Mahmoud K., Zerizer H., Mouniee D., & Boulahrouf A. (2005).** Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra... *Journal de Mycologie Médicale*, 15, 45-51.

**Mayfield CL., Williams ST., Ruddick SM., Hatfield HL. (1972).** Studies on the ecology of actinomycetes in soil. IV. Observations on the form and growth of *streptomycetes* in soil. *SoilBiolBiochem*4:79–91.

**McGuire A., Weiner B., Park S., Wapinski I., Raman S., Dolganov G., Peterson M., Riley R., Zucker J., Abeel T., et al. (2012).** Comparative analysis of *Mycobacterium* and related actinomycetes yields insight into the evolution of *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis. *BMC Genom.* ;13:120.  
doi: 10.1186/1471-2164-13-120.

**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 *absA*. *The Journal of Antibiotics*. Pp: 1– 6

**MOUNA M. (2012).** *Classification et structure chimiques des antibiotiques* (Doctoral dissertation, Faculté des Sciences et Technologies).

**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.

**Newman DJ, Cragg GM. (2016).** Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod.* 79:629–661.

**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.

**Omar M., Yasmina M., & Ibrahim B. M. B. (2013).** Isolation of actinomycetes producing antimicrobial substances from Bechar region (southwestern Algeria). *Worldwide Research Efforts in the Fighting Against Microbial Pathogens*, 181.

**Prescott., Willey J., Sherwood L. M., Woolverton C., (2013).** *Microbiologie*. 4<sup>ème</sup> édition, de boeck, Paris, 1070p.

**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.* 65:51–61.

**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.

**Schlemmer B. (2009).** mode d'action des antibiotiques.

**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.

**Singh L. S., Mazumder S., & Bora T. C. (2009).** Optimisation of process parameters for growth and bioactive metabolite produced by a salt-tolerant and alkaliphilic actinomycete, *Streptomyces anashiensis* strain A2D. *Journal de mycologie médicale*, 19(4), 225-233.

**Smaoui S. (2010).** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés (Doctoral dissertation).

**Solecka J., Ziemska J., Rajnisz A., Laskowska A., Guśpiel A. (2013).** Promieniowce – Występowanie i wytwarzanie związków biologicznie czynnych. *Postępy Mikrobiol.* 52:83–91

**Song Q., Huang Y & Yang H. (2012).** Optimization of Fermentation Conditions for Antibiotic Production by Actinomycetes YJ1 Strain against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Agricultural Science*; Vol. 4, No. 7. Pp : 95-102.

**Tchiengang Youmo N. M. (2019).** Prescription des antibiotiques au service réanimation polyvalente du CHU-Gabriel Touré (Doctoral dissertation, USTTB).

**Thompson John N. (2009).** "The coevolutionary process." *The Coevolutionary Process.* University of Chicago press.

**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.

**Ventura M., Canchaya C., Fitzgerald GF., Gupta RS., van Sinderen D. (2007).** Genomics as a means to understand bacterial phylogeny and ecological adaptation: the case of bifidobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* **91**:351–372. <http://dx.doi.org/10.1007/s10482-006-9122-6>.

**Waksman Selman A.** "Decomposition of the various chemical constituents etc. of complex plant materials by pure cultures of fungi and bacteria." *Archiv für Mikrobiologie* 2.1 (1931): 136-154.

**Walsh C. (2000).** Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*, 406(6797), 775-781.

**WHO. (1999).** report on infectious diseases: WEEKLY EPIDEMIOLOGICAL RECORD, No. 33, 20 AUGUST 1999 [Internet]. Geneva (Switzerland): World Health Organization;

**Xu J., Gu K., Zhang D-J., Li Y-G., Tian L. (2017).** Ghanamycins A and B, two novel  $\gamma$ -butyrolactones from marine-derived *Streptomyces ghanaensis* TXC6-16. *J Antibiot (Tokyo)*. 70:733–736.

**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. PMID: 16535212; PMCID: PMC1388754.

**Zimmerman W. (1980).** Degradation of lignin by bacteria. *J Biotechnol* **13**:199–130.



# **Annexes**

## Annexe 1

### MILIEUX DE CULTURE D'ISOLEMENT ET D'IDENTIFICATION DES ACTINOMYCETES

#### I. MILIEU D'ISOLEMENT

- **Milieu WILLIAMS (Williams et Kuster, 1964)**

(Williams et Kuster, 1964) (composition du milieu Williams modifié) Amidon: 10g; caséine : 0,3g; KNO<sub>3</sub> : 2g; NaCl : 2g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 2g; MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O : 0,05g; CaCO<sub>3</sub> : 0,02g; FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O : 0,01g; agar : 18g; Eau distillée : 1000 ml. pH 7,2.

- **Milieu czapek (Goret et Joubert, 1951)**

NaNO<sub>3</sub> : 3g ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 1g ; MgSO<sub>4</sub> .7H<sub>2</sub>O : 0.5g ; KCL : 0.5g ; FeSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O : 10.0 mg ; Amidon : 10.0g ; Agar : 18.0 g ; Eau distillée : 1000 ml.

#### II. Milieu de production d'antibiotiques (Williams et Kuster, 1964)

- **Milieu WILLIAMS modifié**

Amidon : 10g; caséine : 0,3g; KNO<sub>3</sub> : 2g; NaCl : 2g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 2g; MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O : 0,05g; CaCO<sub>3</sub> : 0,02g; FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O : 0,01g; Eau distillée : 1000 ml. pH 7,2.

- **Milieu MSG**

0,2 % (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,02 % MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O; 0,05 % KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,1 % K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,2 % NaCl; 0,5% glucose; Eau distillée 1000 ml; pH 7,2

- **Milieu MSA**

0,2 % (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,02 % MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O; 0,05 % KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,1 % K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,2 % NaCl; 0,5% Amidon ; Eau distillée 1000 ml; pH 7,2

- **Milieu MSAE**

0,2 % (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,02 % MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O; 0,05 % KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,1 % K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,2 % NaCl; 0,5% amidon ; 0,3% extrait de levure ; Eau distillée 1000 ml; pH 7,2

## Annexe 2

**Tableau 01** : Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) de la souche (**E2S1**) vis-à-vis des souches testées.

		E2S1	
		Culot	Surnageant
<i>P. aeruginosae</i>	MSA	(R)	<b>(S) 12</b>
		(R)	<b>(S) 2</b>
	MSAE	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
MW	<b>(S) 12</b>	(R)	
	<b>(S) 3</b>	(R)	
<i>S. aureus</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
MW	(R)	<b>(S) 12</b>	
	(R)	<b>(S) 12</b>	

**Tableau 02** : Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) de la souche (**E2S2**) vis-à-vis des souches testées.

		E2S2	
		Culot	Surnageant
<i>P. aeruginosae</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	<b>(S) 10</b>	(R)
		<b>(S) 10</b>	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	
<i>S. aureus</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	<b>(S) 10</b>	(R)
		<b>(S) 6</b>	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	<b>(S) 4</b>	(R)	
	(R)	(R)	

**Tableau 03** : Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) de la souche (**E2S8**) vis-à-vis des souches testées.

		E2S8	
		Culot	Surnageant
<i>P. aeruginosae</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	
<i>S. aureus</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(S) 10	(R)
		(S) 9	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	

**Tableau 04** : Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) de la souche (**E3S5**) vis-à-vis des souches testées.

		E3S5	
		Culot	Surnageant
<i>P. aeruginosae</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	
<i>S. aureus</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(S) 10	(R)
		(S) 10	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	

**Tableau 05 :** Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) de la souche (**E4S1**) vis-à-vis des souches testées.

		E4S1	
		Culot	Surnageant
<i>P. aeruginosae</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	
<i>S. aureus</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	

**Tableau 06 :** Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) de la souche (**E4S4**) vis-à-vis des souches testées.

		E4S4	
		Culot	Surnageant
<i>P. aeruginosae</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	<b>(S) 12</b>	(R)
		<b>(S) 10</b>	(R)
	MSG	(R)	<b>(S) 10</b>
		(R)	<b>(S) 10</b>
WM	<b>(S) 14</b>	<b>(S) 16</b>	
	<b>(S) 9</b>	<b>(S) 9</b>	
<i>S. aureus</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSG	<b>(S) 5</b>	<b>(S) 7</b>
		<b>(S) 3</b>	<b>(S) 7</b>
WM	<b>(S) 6</b>	(R)	
	<b>(S) 5</b>	(R)	

**Tableau 07** : Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) de la souche (E4S7) vis-à-vis des souches testées.

		E4S7	
		Culot	Surnageant
<i>P. aeruginosae</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSG	<b>(S) 10</b>	<b>(S) 12</b>
		<b>(S) 8</b>	<b>(S) 8</b>
WM	<b>(S) 15</b>	<b>(S) 20</b>	
	<b>(S) 12</b>	<b>(S) 12</b>	
<i>S. aureus</i>	MSA	(R)	<b>(S) 7</b>
		(R)	(R)
	MSAE	<b>(S) 8</b>	(R)
		<b>(S) 8</b>	(R)
	MSG	<b>(S) 4</b>	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	

**Tableau 08** : Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) de la souche (E4S10) vis-à-vis des souches testées.

		E4S10	
		Culot	Surnageant
<i>P. aeruginosae</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	
<i>S. aureus</i>	MSA	(R)	(R)
		(R)	(R)
	MSAE	<b>(S) 13</b>	(R)
		<b>10</b>	(R)
	MSG	(R)	(R)
		(R)	(R)
WM	(R)	(R)	
	(R)	(R)	

# Résumé

## Résumé

L'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques justifie l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. L'objectif de ce travail est la recherche et le criblage des actinomycètes capables de synthétiser des substances antimicrobiennes. 4 échantillons de sols sahariens du sud-est algérien (Biskra et Oued Souf) ont été explorés. Huit (08) souches d'actinomycètes ont été isolées à partir des quatre échantillons et testées pour leurs activités antibactériennes vis-à-vis deux bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). Le sol de la région de Biskra a donné tous les actinomycètes qu'on a isolé soit 08 contre aucune dans le sol d'Oued Souf. D'après cette étude, le test de l'activité antibactérienne montre que la plupart des isolats sont actifs sur au moins une bactérie, le milieu MSAE est le plus favorable pour l'activité des actinomycètes, il offre à lui seul 6 souches à activité sur le total des actinomycètes isolés. Deux souches E4S4 et E4S7 présentent une activité très importante contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* : culot (14, 15mm) et surnageant (16, 20mm), respectivement. Enfin, les souches isolées peuvent constituer une source potentiel de molécules à activité antibactérienne.

**Mots-clés :** Actinomycète, activité antibactérienne, sol du Sahara

## Abstract

Bacterial resistance to antibiotics and the emergence of new infectious diseases justify the urgency of having new antimicrobial molecules. The objective of this work is the research and screening of actinomycetes capable of synthesizing antimicrobial substances. Four Saharan soils in southeastern Algeria (Biskra and Oued Souf) were explored. For this, eight (08) strains of actinomycetes were isolated and tested for their antibacterial activities against two pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). The soil of the Biskra region gave all the actinomycetes that we isolated, i.e. 08 against none in the soil of Oued Souf. According to this study, the test of antibacterial activity shows that most isolates are active on at least one bacterium, the MSAE medium is the most favorable for the activity of actinomycetes, it alone offers 6 strains which have an activity on the total of isolated actinomycetes. Two strains E4S4 and E4S7 present a very significant activity against the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* either pellet (14, 15mm) and supernatant (16, 20mm) respectively. Molecular identification of these two strains is necessary for further studies.

**Keywords:** Actinomycete, antibacterial activity, Saharan soils

## ملخص

تبرر المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية وظهور أمراض معدية جديدة الحاجة الملحة لوجود جزيئات جديدة من مضادات الميكروبات. الهدف من هذا العمل هو البحث وفحص الفطريات الشعاعية القادرة على تصنيع المواد المضادة للميكروبات. تم استكشاف تربة صحراوية في جنوب شرق الجزائر (بسكرة ووادي سوف). لهذا الغرض، تم عزل ثمانية (08) سلالات من الفطريات الشعاعية واختبار نشاطها المضاد للبكتيريا ضد نوعين من البكتيريا المسببة أعطت تربة منطقة بسكرة جميع (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) للأمراض الفطريات الشعاعية التي عزلناها، أي 08 مقابل لا شيء في تربة واد سوف. وفقاً لهذه الدراسة، أظهر اختبار النشاط هو الأكثر ملاءمة لنشاط MSAE المضاد للبكتيريا أن معظم العزلات نشطة على بكتيريا واحدة على الأقل، ووسط الفطريات الشعاعية، فهو يوفر بمفرده 6 سلالات لها نشاط على إجمالي الفطريات الشعاعية المعزولة. تقدم سلالتان إما الحبيبات (14، 15 مم) وأطاف *Pseudomonas aeruginosa* نشاطاً مهماً للغاية ضد بكتيريا E4S4 و E4S7 (16، 20 مم) على التوالي. التعرف الجزيئي لهاتين السلالتين ضروري لمزيد من الدراسات

**الكلمات المفتاحية:** الفطريات الشعاعية، النشاط المضاد للبكتيريا، تربة الصحراء