



*République algérienne démocratique et populaire*



*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche Scientifique*

**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR- KHENCHELA**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DEPARTEMENT : DE SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**FILIERE : Science Biologique**

**OPTION : MICROBIOLOGIE**

**Thème**

**Isolement et caractérisation de quelques actinomycètes à activité  
antibactérienne**

**Présenté par :**

*Allouche Chaima*

*Bouzahzah Kamilia*

*Khelifi Chahinez*

**Encadré par :**

**BOUSSAA . A**

**Soutenu le : 19/06/2023**

**Devant le Jury**

**Président : M. Zeraib Azzedine**

**(MCA)Univ.Abbès Laghrou -Khenchela**

**Encadreur : M. BOUSSAA A.**

**(MAA)Univ.Abbès Laghrou -Khenchela**

**Examineur : M Lakhdar Mazour**

**(MAA)Univ.Abbès Laghrou -Khenchela**

**Année Universitaire : 2022-2023**

# Dédicace

*Je Dédie ce mémoire A Mes chers parents qui ont été toujours a mes côtés et m'on toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études. A mon cher mari, pour la patience et le soutien dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitudes.*

*A ma chère sœur Nihed et son mari Moncef sans oublier son fils louay à mon cher frère Isslem, à mes filles adorés saja & Doha. A ma 2<sup>ème</sup> famille (ma mère Sakina et Haj Aissa), aussi tous mes frères les cousins (Yazid, Youcef, housseem, khaled, Mourad , mokdad, Bilel, M).*

*A toute la famille Bouzahzah Mk.*

*A ma grand mère Aïcha Z et toute la famille Hadiden. A mes copines Chaima et Chahinez.*

**Kamilia**

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à : Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous ses sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*Mon père, qui peut être fier, qu'il trouve ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*Merci pour l'affection et l'amour qui m'ont donnés la force et le courage dans les moments les plus difficiles. Mes frères Ahmed et Hymen et sœur Basouma qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

*Ma binôme dans ce travail toutes mes chères amies Hana, Rania, Chahinez, Fifi, Salma et tout les autres copines et tous les enseignants du département de biologies.*

Chaima

## **Liste des abréviations**

**ATCC:** American type collection culture.

**CAA :** Milieu caséine amidon agar.

**ISP2 :** Milieu International Streptomyces Project.

**MA :** Mycélium Aérien.

**MS :** Mycélium du substrat.

**Wye :** wast yest

**SS2 :** sol souche 2

**SS4 :** sol souche 4

**SS3 :** sol souche 3

**RS2 :** repiquage souche 2

### Liste des tableaux

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
01	Distribution des actinomycètes dans la nature	07
02	Classification des actinomycètes selon le manuel de Bergey	07
03	Quelques exemples de molécules bioactives produites par les actinomycètes	11
04	Exemples des principales classes structurales d'antibiotiques produits par des actinomycètes	12
05	Les enzymes produites par les actinomycètes	16
06	L'origine de sol	19
07	Résultats du test d'activité antibactérienne.	31

## Liste des figures

<b>Figure N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Comparaison des bactéries du sol, des actinomycètes et des champignons vus au microscope optique.	<b>02</b>
<b>02</b>	Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète.	<b>04</b>
<b>03</b>	Cycle de développement des Streptomyces sur milieu solide	<b>08</b>
<b>04</b>	Différentes chaînes de spores chez les actinobactéries	<b>09</b>
<b>05</b>	Localisation de Hammem El salhin commun Elhama khenchela	<b>19</b>
<b>06</b>	Localisation de laboratoire pédagogique El hamma	<b>20</b>
<b>07</b>	Localisation de Sebka ouled Amara Commun EL Mahmel - Khenchela	<b>20</b>
<b>08</b>	Préparation d'inoculum	<b>22</b>
<b>09</b>	Schéma présentant la culture sur lamelle	<b>23</b>
<b>10</b>	Résultats d'isolement des actinomycetes	<b>29</b>
<b>11</b>	Purification des isolats d'actinomycètes	<b>29</b>
<b>12</b>	Observation microscopique des souches isolées4 x10	<b>31</b>
<b>13</b>	Spectre d'activité antibactérienne des souches actinomycètes	<b>31</b>
<b>14</b>	Résultats de test amylase	<b>34</b>
<b>15</b>	Résultats de test Gélatinase	<b>34</b>
<b>16</b>	Résultats de test caséinase	<b>35</b>
<b>17</b>	Résultats de test lipase	<b>36</b>

## Introduction

La découverte des antibiotiques au début du XXe siècle a constitué une véritable révolution pour le traitement des maladies infectieuses d'origine bactérienne, Les antibiotiques sont définis comme toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi synthétique (**Lavigne, 2007**), capable d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (**Perronne, 1999**).

Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux antibiotique ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE). De nombreuses études relatent la progression continue à l'échelle mondiale de ce type de résistance (**Coque et al., 2008**).

Les chercheurs à travers le monde faire des efforts pour la découverte des nouvelles substances antibiotiques, les actinomycètes font la source non redoutables des antibiotiques.

De là, s'inscrit l'objectif de notre travail qui est de isoler des souches d'actinomycetes à partir des différente régions dans la Wilaya de Khenchela.

Nous Notre manuscrit est divisé en 2 parties :

- Une 1ère Partie, est consacrée à une synthèse bibliographique sur les actinomycetes
- La 2ème partie, décrit le matériel et méthodes pour l'analyse détaillée de nos souches isolées des différents sols la wilaya de KHENCHELA.

### I. Taxonomie

Les Actinomycètes ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactérie et champignons. Actuellement, ils sont reconnus comme des organismes procaryotes (**Andriambololona, 2010**).

Les actinomycètes constituent l'ordre des Actinomycetales. Ce sont des bactéries formant des filaments minces et ramifiés, septées, bacilles à Gram positif possédant un coefficient de Chargaff (GC%) élevé compris entre 60-70% (**Karuppiah et Mustaffa, 2013**).

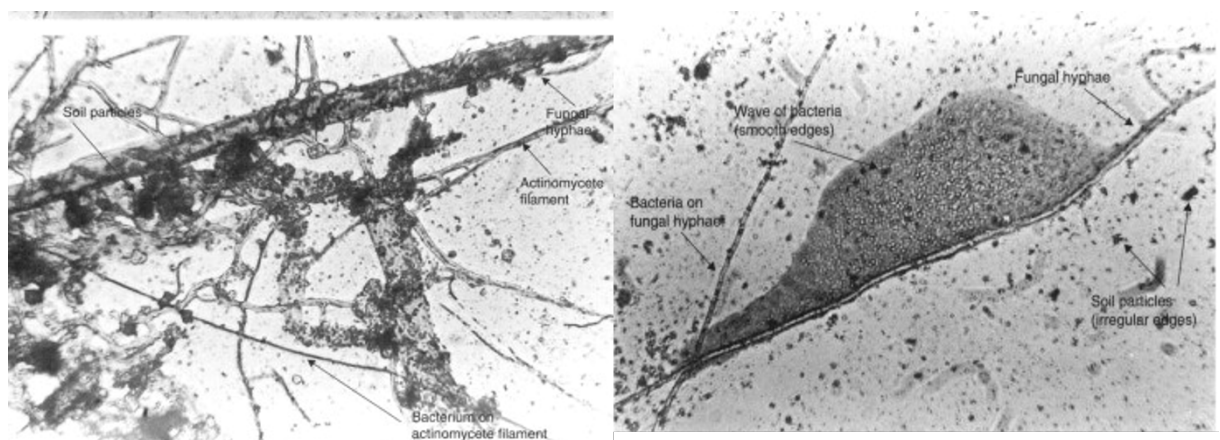
La plupart des espèces sont immobiles, hétérotrophes mais certaines sont chimioautotrophes aérobies, mésophiles et croissent de façon optimale dans la gamme de pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité (**Paulsen et Sue, 2021**).

Les actinomycètes forment des colonies circulaires constituées d'hyphes (filaments) qui irradient par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Bouaziz, 2018 ; Harir, 2018**).

### II. Caractéristiques

#### II.1. Caractéristiques morphologiques

Morphologiquement, les actinomycètes ressemblent aux champignons en raison de leurs cellules allongées qui se ramifient en filaments ou hyphes (**Figure 1**). Ces hyphes peuvent être distingués des hyphes fongiques sur la base de leur taille, les hyphes d'actinomycètes étant beaucoup plus petits que les hyphes fongiques. (**Pepper et al., 2015**).



**Figure 1.** Comparaison des bactéries du sol, des actinomycètes et des champignons vus au microscope optique. (**Pepper et al., 2006**)

## Chapitre I : Généralité sur les actinomycètes

Selon la morphologie, les actinomycètes sont classés en deux groupes :

Le premier : se compose d'organismes qui forment une masse de filaments ramifiés (mycélium).

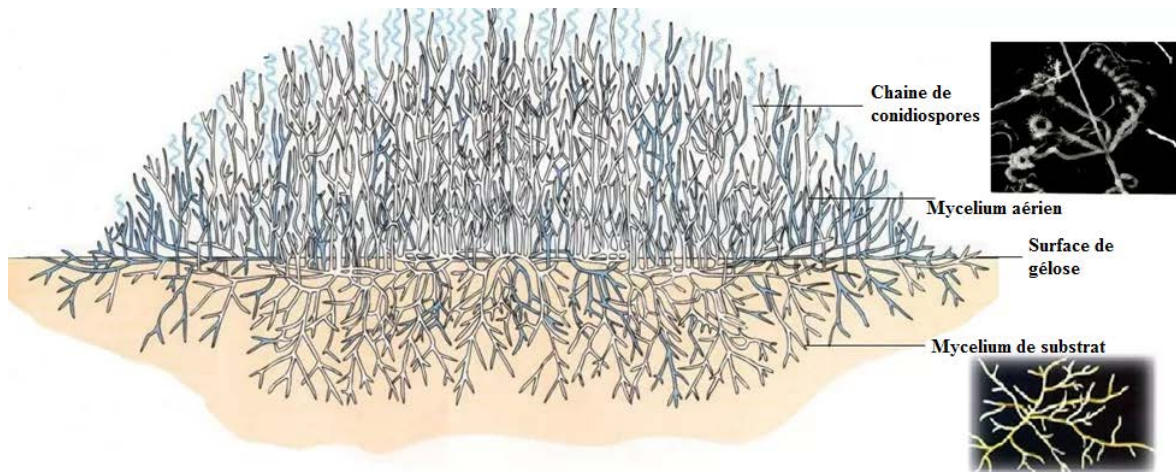
Le second : comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (**Silini, 2012**), on peut rencontrer, en plus des filaments ramifiés, des bacilles et aussi des coccobacilles comme *Rhodococcus* et *Mycobactérium* (**prescott, 2003**).

Les colonies formées sur les milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
- des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
- des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons (**Silini, 2012**).

Certains actinomycètes forment des structures particulières qui sont des sclérotés (*Chainia*), des synnèmes (*Actinosynnema*), des vésicules contenant des spores (**Frankia**) ou des vésicules qui en dépourvues (*Intrasporangium*) (**Barka et al., 2016**).

Sur milieu solide, les actinomycètes forment des colonies très particulières résultant de l'accumulation des hyphes ramifiés (**figure 1**) et non pas de cellules comme c'est le cas des bactéries non filamenteuses. Le diamètre des colonies est variable de 1 à 10 mm. L'aspect des colonies peut être compact, sec, lisse, rugueux à contours lisse ou échancrés. Les colonies sont souvent pigmentées (jaune, violet, blanc, crème, rose, gris, etc) (**Perry et al., 2004**).



**Figure 2.** Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec des hyphes vivants (bleusverts) et morts (blancs). Le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes conidiospores sont représentés (**Prescott *et al.*, 2018**).

### II.2 Caractéristiques Physiologie

Au niveau du sol, les actinomycètes représentent l'une des principales communautés microbiennes. Leur présence est significativement influencée par les conditions environnantes l'humidité, Rapports avec l'oxygène, la température, le pH, la salinité, le type de sol, la profondeur dans le sol, les faibles taux d'humidité, la nature et l'abondance de la matière organique et la végétation du sol (**Zerizer, 2014**).

#### II.2.1 Le taux d'humidité

En général, les actinomycètes ont été isolés dans des sols contenant des taux faibles jusqu'à modérés d'humidité, ce qui suggère qu'ils ne sont pas beaucoup influencés par les conditions semi-arides (**Prescott *et al.*, 2007**).

#### II.2.2 La température

Les actinomycètes sont des microorganismes mésophiles. Cependant, il existe des espèces thermophiles, principalement dans le genre *Thermoactinomyces* dont la température optimale est entre 50 et 60°C. Ces organismes avaient été distingués de leurs homologues thermophiles appartenant au genre *Thermomonospora* grâce à leurs spores qui résistent à une température de 90°C pendant 30 minutes et par la résistance à la novobiocine (25 µg/ml). De plus, l'activité cellulolytique est absente pour le genre *Thermoactinomyces* et commune pour *Thermomonospora* (**Belyagoubi, 2014**).

Le genre *Streptomyces* comporte aussi des espèces thermophiles comme ***Streptomyces thermocrophilus*** (Kim *et al.*, 2000) et même psychrophiles (Djaballah, 2010).

### II.2.3. Le pH

La plupart des actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7-8, mais on peut observer une croissance à des valeurs de pH inférieurs à 4 (McKinney, 2004).

Généralement, les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin. Toutefois, différents actinomycètes ont été isolés à partir d'écosystèmes présentant des conditions de pH hostiles (lacs extrêmement alcalins) (Belyagoubi, 2014).

### II.2.4. Oxygène

On peut classer les actinobactéries selon leurs types respiratoires en deux groupes :

- Les formes fermentatives, anaérobies strictes ou facultatives, illustrées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligés des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs et ils ne sont jamais retrouvés dans le sol (Aouar, 2012).
- Les formes oxydatives, aérobies, tels que les *Streptomyces* où le sol est leur réservoir principal et à partir duquel elles sont disséminées, en particulier dans l'air (Aouar, 2012).

### II.2.5. Matière organique

En 1986, Henis a montré que le nombre des actinomycètes est corrélé positivement avec le taux de matière organique et que de larges populations d'actinomycètes coïncidaient avec des taux relativement élevés de matière organique, quel que soit le taux

### II.2.6. Tolérance en NaCl

Le Na Cl est nécessaire pour la croissance des actinomycètes comme tous les microorganismes. Selon leurs exigences en Na Cl, ils sont divisés en deux groupes (Messaoudi, 2012) :

- **Les halophiles** : ont besoin de sel (Na cl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (P/V) pour les faiblement halophiles, jusque 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes.

**Les halotolérants** : acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leurs croissances.

On distingue, les légèrement tolérants (tolère de 6 à 8 % de Na Cl (P/V)) ; les modérément tolérants (tolère de 18 à 20 % de Na cl (P/V)) ; et les extrêmement tolérants (se développe de 0 % jusqu'à saturation en Nacl).

La stratégie « salt in cytoplasm » est un mécanisme spécifique aux Halobactéries (**Gunde et al., 2018**) grâce auquel l'équilibre osmotique est obtenu en maintenant dans le cytoplasme une concentration en sel identique à celle du milieu extérieur.

Chez certaines espèces du genre Halobacterium, la concentration en KCl dans le cytoplasme peut atteindre 7 M (**Ramijan et al., 2018**).

Cependant, l'accumulation de fortes concentrations en ions dans le cytoplasme est susceptible de perturber la physiologie cellulaire en provoquant l'agrégation des macromolécules (interactions hydrophobes) et en réduisant la disponibilité de l'eau. Aussi, les Halobactéries ont développé des mécanismes d'adaptation qui leur permet de disposer d'une machinerie cellulaire capable de supporter de fortes concentrations intracellulaires en ions (**Hill et al., 2002**).

### III. Distribution des actinomycètes et fonction écologique

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux écologiques (**Hamdali et al., 2008**). Ce sont des bactéries ubiquitaires: on les trouvent dans le sol (**Loqman, 2009**) même le sol glaciaire de l'arctique , le sol des déserts chauds et secs de divers continents, le sols des régions industrielles polluées par du pétrole ou des métaux lourds (**Bawazir et al., 2018**), l'eau (**Andriambololona, 2010**), l'air (**Bawazir et al., 2018**), les nodules ((**Bawazir et al., 2018**), les compostes (**Bawazir et al., 2018**).

La fonction écologique principale des actinomycètes au sein des écosystèmes est la décomposition des substances organiques (**Prescott, 2010**), grâce à leurs capacités de produire une large gamme d'enzyme hydrolytique, comme les protéases, les nucléases, les lipases etc. (**Prakash, 2012**).

**Tableau 1.** Distribution des actinomycètes dans la nature (Goodfellow, 1983)

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

#### IV. Classification

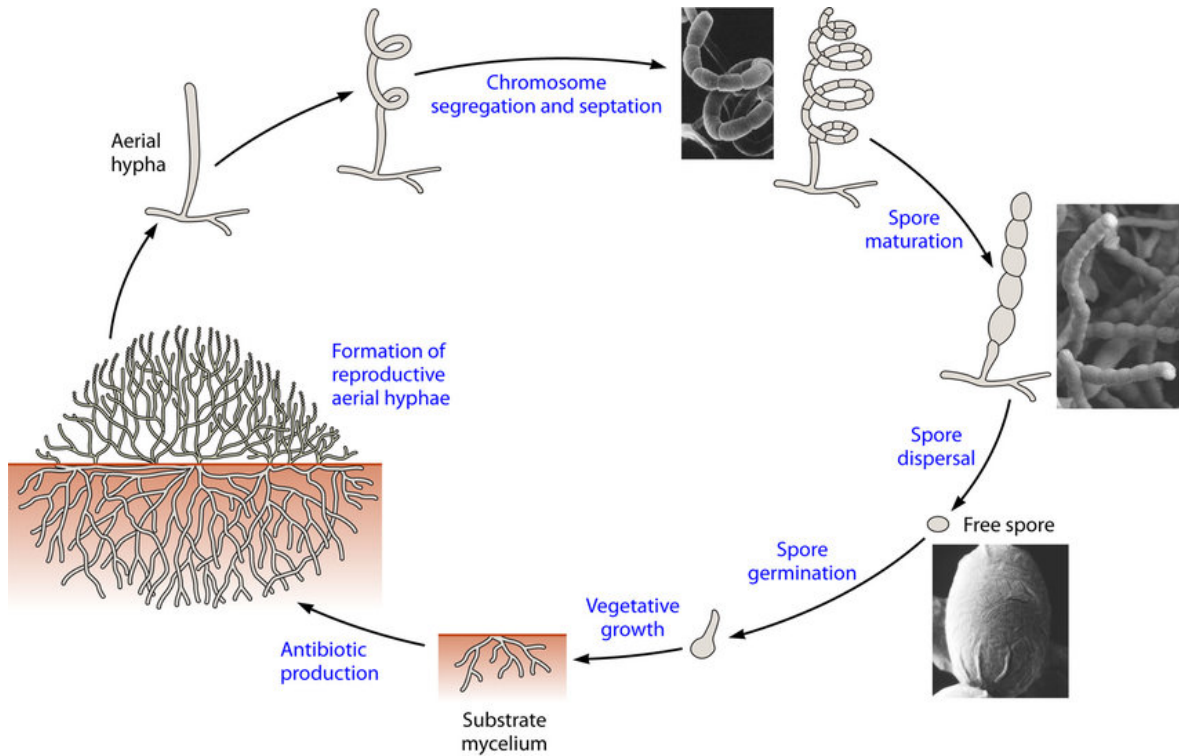
Les actinomycètes sont classés dans le Règne des Procaryotes, le Domaine des Bacteria ou Eubacteria, le Phylum des Actinobacteria, la Classe des Actinobacteria, la Sous-classe des Actinobacteridae et l'Ordre des Actinomycetales (Euzéby, 2011). Selon (Goodfellow *et al.*, 2012), le phylum Actinobacteria est divisé actuellement en cinq classes qui sont-elles même subdivisées en plus de 15 ordres. Les plus importants sont ceux des Actinomycetales et Streptomycetales.

**Tableau 2.** Classification des actinomycètes selon le manuel de Bergey, (2012)

<b>Domaine</b>	<i>Bactéria</i>					
<b>Phylum</b>	<i>Actinobacteria</i>					
<b>Classe</b>	<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Actinobacteriae</i>	<i>Rubrobacteriae</i>	<i>Coriobacteriae</i>	<i>Thermoleophilia</i>
<b>Ordre</b>	- <i>Actinomycetales</i> - <i>Streptomycetales</i> plus les 13 Ordres.					
<b>Famille</b>	<i>Actinomycetaceae</i>			<i>Streptomycetaceae</i>		
<b>Genre</b>	<i>Actinomyces</i> plus les 6 autres genres			<i>Streptomyces</i> plus les 2 autres genres.		

## V. Cycle de développement

Les actinomycètes ont un cycle de développement complexe (Figure 3), il débute par la germination d'une spore, qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes qui se ramifie. Le développement du mycélium du substrat vers la partie superficielle donne le mycélium "secondaire" ou aérien, les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores, qui sont des agents de dissémination (**Boudjelal, 2012**).



**Figure 3.** Cycle de développement des Streptomyces sur milieu solide (**Jakimowicz, 2007**)

## VI. Formation du mycélium

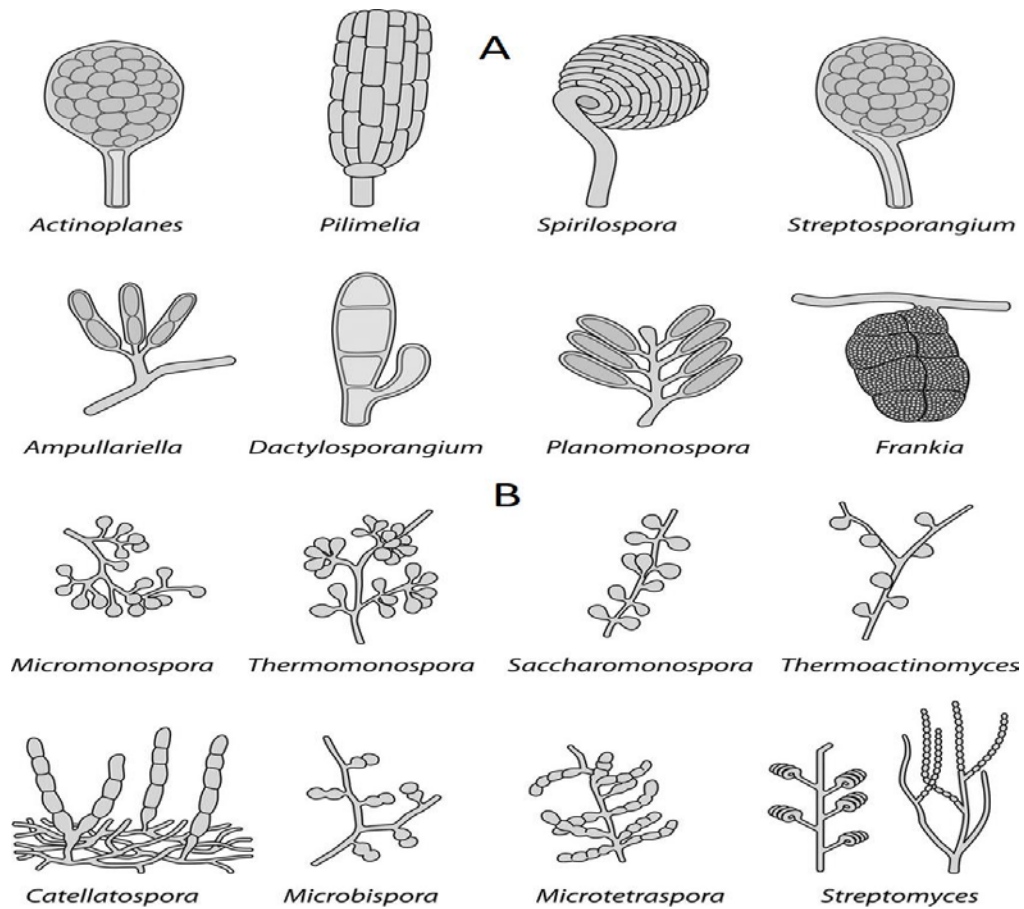
Le mycélium du substrat des actinomycètes varie en taille, forme et épaisseur, sa couleur varie du blanc ou pratiquement incolore au jaune, marron, rouge, rose, orange, vert ou noir. En général, le mycélium aérien est plus épais que le mycélium du substrat. (**Dhanasekaran et Jiang, 2016**).

### VI.1. Formation des spores

#### VI.1.1. Les exospores

Les actinobactéries forment généralement des exospores (Une forme très variable, Figure 4). Ils sont formés par des septa aux extrémités des filaments. Il répond

généralement à des carences nutritionnelles. La plupart ne sont pas Il est particulièrement résistant à la chaleur, mais pour bien supporter le séchage, En effet, une valeur adaptative importante. (Prescott *et al.*, 2007).



**Figure 4.** Différentes chaînes de spores chez les actinobactéries ; spores endogènes (A) et Spores exogènes (B) (Djemai, 2019).

### VI.1.2 Les endospores

Les endospores sont produits par les Actinomycètes thermophiles et sont semblables, morphologiquement et chimiquement, à celles des Bacillaceae (Figure 4). Elles contiennent une paroi externe épaisse et résistante, qui enveloppe le cortex, la membran cytoplasmique, le cytoplasme, les ribosomes, et le nucléotide. Elles contiennent aussi de l'acide dipicolinique (Djemai, 2019).

### I. Généralité

Les actinomycètes sont largement répandus dans les habitats naturels des écosystèmes comme le sol (**Loqman, 2009**), le sol de la rhizosphère, les plantes actinomycorrhiziennes, le sol hypersalin (**Mohan *et al.*, 2018**), le calcaire, l'eau douce, la mer, les éponges, les grottes volcaniques point chaud, désert, air, intestin des insectes, fonte des vers de terre, excréments de chèvres, et actinomycètes endophytiques (**Bawazir *et al.*, 2018**).

Les caractéristiques les plus importantes des composés bioactifs microbiens sont qu'ils ont des producteurs microbiens spécifiques : leurs diverses bioactivités et leurs structures chimiques uniques. Les actinomycètes représentent une source de métabolites secondaires biologiquement actifs comme les antibiotiques, les biopesticides, les hormones de croissance des plantes, les composés antitumoraux, les antiviraux, les composés pharmacologiques, les pigments, les enzymes, les inhibiteurs d'enzymes, les composés anti-inflammatoires, alimentation protéique monocellulaire et biosurfactant (**Selim *et al.*, 2021**).

### II. Métabolisme des actinomycètes

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses qui ont un métabolisme varié et complexe. Ils sont capables de métaboliser une grande variété de substrats organiques et inorganiques, et peuvent donc être trouvés dans des environnements très différents, tels que le sol, l'eau, les plantes, les animaux et même les humains (**Drago, 2015**).

Les actinomycètes sont considérés comme la source la plus puissante pour la production de métabolites secondaires, d'antibiotiques et d'autres composés bioactifs (**Janardhan *et al.*, 2014**).

Le métabolisme des actinomycètes est souvent caractérisé par leur capacité à produire une grande variété de métabolites secondaires, tels que des antibiotiques, des enzymes, des pigments, des antitumoraux, des immunomodulateurs, etc. Ces métabolites sont souvent produits dans des conditions de stress environnemental, telles que la limitation de nutriments, la présence de prédateurs ou de compétiteurs, ou des changements de température ou de pH (**Medema *et al.*, 2011**).

## Chapitre II: Métabolites des actinomycètes

Les actinobactéries occupent la première place comme fournisseurs de substances bioactives dont 45% de ces molécules sont d'origine microbienne, soit environ 10-100 composés (**tableau 3**) (Solecka *et al.*, 2012).

**Tableau 3.** Quelques exemples de molécules bioactives produites par les actinomycètes

Molécules bioactives	actinomycètes producteurs	Références
<b>Les antibiotiques</b> Clostomycine Candicidine Streptolydigine Rétamycine Marinomycine Abyssomycine	<i>Micromonospora</i> sp. <i>Streptomyces griseus</i> <i>Streptomyces lydicus</i> <i>Streptomyce lindensis</i> <i>Marinispora</i> sp <i>Verrucosispora</i> sp.	(Hifnawy <i>et al.</i> , 2020) (Westhoff <i>et al.</i> , 2020) (Pacios <i>et al.</i> , 2020) (Barka <i>et al.</i> , 2015) (Wang <i>et al.</i> , 2020) (Wang <i>et al.</i> , 2020)
<b>Les antifongiques</b> Blastidrine Phenylacétate Transvalencine Amphotéricine B	<i>Streptomyces griseochromogenes</i> <i>Streptomyces humidus</i> <i>Nocardia transvalensis</i> <i>Streptomyces nodosus</i>	(Davison <i>et al.</i> ,2017) (Rammali <i>et al.</i> , 2022) (Maharjan <i>et al.</i> , 2012) (Zhang <i>et al.</i> ,2020)
<b>Les antitumorale</b> Asterobactine Salinosporamide A Mechercharmycine Marinomycine Borrelidine IB-00208	<i>Nocardia asteroides</i> <i>Salinispora tropica</i> <i>Thermoactinomyces</i> sp <i>Marinospora</i> sp <i>Streptomyces</i> sp <i>Actinomadura</i> sp	(Gohain <i>et al.</i> , 2020) (Niewerth <i>et al.</i> , 2014) Kurtböke . 2017) ( Hoz-Romo <i>et al.</i> , 2022) (Liu <i>et al.</i> ,(2013) (Engels, 2010)
<b>Les immunostimulateurs</b> Rubratin Bestatine FR-900494	<i>Nocardia rubra</i> <i>Streptomyces olivoreticuli</i> <i>Kitasatosporia kifunense</i>	(Luo <i>et al.</i> , 2014) (Jain, 2016). (Gothalwal & Gupta, 2013)
<b>Les immunosuppréresseurs</b> Pentalenolactone Brasilicardine A.	<i>Streptomyces filipinensis</i> <i>Nocardia brasiliensis</i>	(Andriambeloson, 2016) (Botas <i>et al.</i> , 2021)

### III. Actinomycètes en biotechnologie

Les actinomycètes sont un groupe des bactéries bien connues comme producteurs d'antibiotiques. (Vu *et al.*, 2019) Avec l'avènement de la biologie moléculaire, ils sont devenus importants pour les biotechnologistes dans la recherche de nouveaux antibiotiques, vitamines, inhibiteurs d'enzymes, etc. (Ossai *et al.*, 2022) Ils jouent également un rôle important dans la biodégradation des déchets, (Dilip *et al.*, 2013) et leur large distribution (naturelle) dans le sol, composts, eau et ailleurs dans l'environnement les rendent importants pour les industries agricoles et de déchets. Selim M *et al.*,(2021).

#### III. 1. Les antibiotiques

Les antibiotique produise par les actinomycètes sont plus importante sur les applications industrielles, ainsi que sont important dans les activités biologiques principalement antibactérienne, antifongique, anticancéreuse, antivirale, ou antiparasitaire. La production naturel des antibiotique sont à faibles concentrations ainsi (Ravi, 2015).

En 1940 les premières années qui a découverts un antibiotique produit par les actinomycètes (l'actinomycine par *Streptomyces antibioticus*) et en 1942 et la streptomycine de *Streptomyces griseus* en 1944, qui ont tous été découverts par Waksman et ses collègues (Ait Barka *et al.*, 2016).

##### III.1.1. Principal classes d'antibiotiques produits par des actinomycètes

Les antibiotiques sont des molécules issues du métabolisme secondaire qui ont été particulièrement étudiées du fait de leur importance en thérapie humaine et vétérinaire. Les antibiotiques produits par les actinomycètes sont de différentes classes, y compris les aminosides, les anthracyclines, glycopeptides,  $\beta$ -lactams, macrolides nucléosides, peptides, polyènes, polyéthers, terpènes et tétracyclines, qui possèdent une large gamme des activités (Ravi, 2015).

**Tableau 4.** Exemples des Principal classes structurales d'antibiotiques produits par des actinomycètes (Boughachich, 2012)

Principalclasses structurales d'antibiotiques	Exemples d'antibiotiques	Actinobactéries
Aminocyclitols	Gentamicine Paromomycin Streptomycine	<i>Micromonospora purpurea</i> <i>Streptomyces rimosus</i> <i>Streptomyces griseus</i>

## Chapitre II: Métabolites des actinomycètes

Ansamycines	Rifamycine	<i>Nocardia mediterranei</i>
Anthracyclines	Daunorubicine	<i>Streptomyces peucetius</i>
B-lactamines	Céphamycine Thiénamycine	<i>Streptomyces clavuligerus</i> <i>Streptomyces cattleya</i>
Macrolides	Avermectine Spiramycine Tylosine	<i>Streptomyces avremitilis</i> <i>Streptomyces ambofaciens</i> <i>Streptomyces fradiae</i>
Nucléosides	Polyoxine	<i>Streptomyces cacaoi</i>
Peptides	Nosiheptide Pristinamycine Thiostrepton	<i>Streptomyces actuosus</i> <i>Streptomyces pristinaespiralis</i> <i>Streptomyces azureus</i>
Polyènes	Amphotérine Nystatine	<i>Streptomyces nodosus</i> <i>Streptomyces noursei</i>
Polyéthers	Lasaloside Monosine	<i>Streptomyces lasaliensis</i> <i>Streptomyces cinnamomensis</i>
Tétracycline	Chlortétracycline Oxytétracycline	<i>Streptomyces aureofaciens</i> <i>Streptomyces aureofaciens</i>

### III.2. Agents immunosuppresseurs

Les agents immunosuppresseurs sont couramment utilisés dans la pratique du néphrologue dans le traitement des maladies auto-immunes et à médiation immunitaire et la transplantation, et ils sont expérimentaux dans le traitement de l'IRA et de l'ESRD. Le développement des médicaments a été rapide au cours des dernières décennies, car les mécanismes de la réponse immunitaire ont été mieux définis par le hasard (**Wiseman, 2016**).

Les actinomycètes sont capables de produire plusieurs des molécules bioactive notamment les antibiotiques, les biopesticides, les hormones les composés antitumoraux, les antiviraux et les agents immunosuppresseurs comme Brasilicardine A. secrété par *Nocardia brasiliensis* Il présente une puissante activité immunosuppressive, mais son mode d'action diffère du médicament standard qui est actuellement utilisés (**Botas et al., 2021**).

### III.3. Les antitumoraux

La chimiothérapie est l'un des principaux traitements utilisés pour lutter contre le cancer (**Cluzeau, 2021**). Un grand nombre de composés antitumoraux sont des produits naturels ou leurs dérivés, principalement produits par des micro-organismes. En particulier,

les actinomycètes sont les producteurs d'un grand nombre de produits naturels avec différentes activités biologiques, y compris les propriétés antitumorales (**Ossai *et al.*, 2022**) Ces composés antitumoraux appartiennent à plusieurs classes structurales telles que les anthracyclines, enediynes, indolocarbazoles, isoprénoides, macrolides (**tableau 1**) peptides non ribosomiaux et autres.

### III.3.1. Utilisation de Les antitumoraux

Ces composés antitumoraux ils exercent une activité antitumorale en induisant l'apoptose par clivage de l'ADN médié par l'inhibition de la topoisomérase I ou II, la perméabilité des mitochondries, l'inhibition des enzymes clés impliquées dans la transduction du signal comme les protéases, ou le métabolisme cellulaire et, dans certains cas, en inhibant l'angiogenèse induite par une tumeur. Les organismes marins ont attiré une attention particulière ces dernières années pour leur capacité à produire des composés de plomb pharmacologiques intéressants (**Olano *et al.*, 2009**)

### III.4. Production des enzymes

Les actinomycètes sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle variée telles que des protéases, des chitinases, des amylases, des cellulases, des xylanases et des lipases (**Anne *et al.*, 2017**).

#### III.4.1. Protéase

Une protéase est une enzyme peptidase qui catalyse la dégradation des protéines et d'autres chaînes d'acides aminés. Elle est importante sur le plan industriel applications en pharmaceutiques, cuir, blanchisserie, alimentaire et les industries de traitement des déchet (**Razzaq *et al.*, 2019**). *Thermoactinomyces sp.* Capables de survivre à des températures élevées, pouvant aller jusqu'à 70°C, et elles sont donc considérées comme des thermophiles. Elles produisent également des enzymes thermorésistantes telles que les amylases, les protéases et les lipases, qui ont une grande importance commerciale dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Verma *et al.*, 2016**).

#### III.4.2. Amylase

L'amylase est également largement utilisée dans l'industrie alimentaire pour la production de sucre inverti, de sirop de maïs, de maltodextrine et d'autres produits à base d'amidon. Elle est également utilisée dans l'industrie papetière pour la dégradation de

l'amidon dans la production de papier et dans l'industrie pharmaceutique pour la production de comprimés et de capsules à libération prolongée (**Azzopardi et al., 2016**).

Les amylases produites par *Streptomyces erumpens* et *Thermobifida fusca* sont utilisées dans l'industrie alimentaire comme conservateur dans la production des gâteaux, les jus des fruits et les sirops à base d'amidon et dans l'élimination des polluants environnementaux (la bioremediation) (**Mobini-Dehkorde et Javan, 2012**).

### III.4.3. La chitinase

La chitinase est également utilisée dans diverses applications industrielles, notamment la production de produits pharmaceutiques, d'aliments pour animaux, de cosmétiques et de textiles. Elle peut également être utilisée pour contrôler les populations d'insectes ravageurs et pour la bioconversion de la chitine en chitosane, un polymère dérivé de la chitine avec de nombreuses applications commerciales (**Stoykov et al., 2015**).

Exemple de *Streptomyces thermodiastaticus* est un microorganisme thermophile qui possède une grande capacité à produire plusieurs des enzymes thermostables et d'eux la chitinase utilisées dans la protection contre les champignons phytopathogènes et dans le traitement des déchets des crustacés (**Take, 2018**).

### III.4.4. Lipase

Les lipases sont également largement utilisées dans l'industrie alimentaire pour la production d'acides gras essentiels, d'arômes, de colorants et d'autres produits alimentaires. Elles sont également utilisées dans l'industrie cosmétique pour la production de crèmes et de lotions, ainsi que dans l'industrie du nettoyage pour la dégradation des graisses dans les détergents (**Choudhury et Bhunia, 2015**).

*Streptomyces exfoliates* et *Nocardiopsis alba* ce sont des microorganismes qui possède la capacité à produire plusieurs l'enzyme de lipase ont couramment utilisées en boulangerie, en biscuiterie, en chocolaterie et dans le traitement des sols contaminés par des hydrocarbures (**Mukhtar et al., 2017**).

### III.4.5. xylanase

Les xylanases ont des applications industrielles importantes dans les domaines de la production de biocarburants, de la fabrication de papier et de l'alimentation animale. Les xylanases sont utilisées pour dégrader la xylane des matières premières lignocellulosiques,

telles que la paille, le son, les copeaux de bois et d'autres déchets agricoles, pour produire des sucres simples tels que la xylose, qui peuvent ensuite être fermentés en éthanol pour la production de biocarburants. (Uday *et al.*, 2016). *Streptomyces sp.* et *Actinomadura sp* sont les microorganismes les plus courants pour la production de xylanase (Fatokun *et al.*, 2016).

### III.4.6. Cellulases

Les cellulases ont un large éventail d'applications industrielles, y compris la production de biocarburants, la transformation des textiles et la fabrication de papier et de pâte à papier. Ils sont également utilisés dans l'industrie alimentaire, l'alimentation animale et la gestion des déchets (Bhardwaj *et al.*, 2021) Les cellulases sont synthétisées par *Streptomyces ruber* (Yassien, 2014).

**Tableau 5.** Les enzymes produites par les actinomycètes (Prakash *et al.*, 2013)

Enzyme	Souche productrice	Stabilité du pH	La stabilité thermique	Spécificité du Substrat
Cellulase	<i>Recombinant Streptomyces sp.</i>	5.0–12.0	40–50°C	CMC
	<i>Thermobifida halotolerans</i>	6.0–8.0	40-50°C	CMC
	<i>Recombinant Streptomyces sp.</i>	10.0	40°C	CMC
	<i>Thermomonospora sp</i>	7.0–10.0	50°C	CMC
	<i>Streptomyces ruber</i>	5.5–7.0	35–40°C	CMC
Xylanase	<i>Actinomadura sp.</i>	4.0	70°C	Xylan
	<i>Recombinant strain</i>	5.0–7.0	70–80°C	Xylan
	<i>Recombinant strain</i>	5.0–7.0	60-70°C	Xylan
	<i>Streptomyces spp.</i>	8.0–11.0	45–60°C	Xylan
Amylase	<i>Streptomyces sp.</i>	5.0–7.0	45–50°C	Amidon
	<i>Streptomyces erumpens</i>	9.0-10.0	40–50°C	Amidon
	<i>Amylase Nocardiosis sp.</i>	8.6	70–80°C	Amidon
	<i>Thermobifida fusca</i>	5.0–7.0	60°C	Amidon
	<i>Nocardiosis sp</i>	5.0–10.0	35–45°C	Amidon
Pectinase	<i>Streptomyces lydicus</i>	4.0–7.0	45°C	Acide polygalacturonique
	<i>Thermoactinomyces sp.</i>	4.0	50°C	NA
	<i>Nocardiosis sp.</i>	10.0	40–50°C	Caséine

Protease	<i>Protease Streptomyces pactum</i>	7.5	40°C	Caséine
	<i>Streptomyces thermoviolaceus</i>	6.5	65°C	Kératin
	<i>Streptomyces sp.</i>	4.0–11.0	30–60°C	Kératin

### III.5. Agents bioherbicides et bioinsecticides

La mildiomyicine, un métabolite antifongique isolé des cultures de *Streptoverticillium rimofaciens Niida*, est fortement active contre plusieurs oïdium sur diverses cultures (et inhibe la biosynthèse des protéines fongiques). Les principaux sites d'action de ces antibiotiques sont aux endroits où la synthèse de chitine se produit dans la paroi cellulaire, (**Chen et al., 2016**) il y a une fuite de cations de mitochondries, inositol biosynthèse est en cours, ou des sites de synthèse de protéines et d'ADN (**Chen et al., 2016**).

Par exemple, la resistomycine, un antibiotique lié à la quinone, a une structure unique et présente une activité bactéricide et vasoconstrictive basée sur l'inhibition de l'ARN et la synthèse des protéines (**Barka et al., 2016**).

Les macrotétrolidés sont actifs contre les acariens, les insectes, les coccidies et les helminthes et ils ont également des effets immunosuppresseurs. Ils sont produits par diverses espèces de *streptomyces* (**Matarrita-Carranza et al., 2021**). Toutefois, en ce qui concerne la composition du complexe macrotétrolide, seul *S. aureus* S-3466 (**Ando, 1983**). Qui produit un mélange de tétranactine (le membre le plus actif du groupe composé) avec la dinactine et la trinactine, a été utilisé à des fins commerciales (**Ando, 1983**).

Le tétranactine, un antibiotique cyclique produit par *Streptomyces aureus* avec une structure moléculaire liée à la cyclosporine, est utilisé comme émulsion contre les acariens carmin des fruits et du thé. L'ivermectine. Dérivé de l'avermectine produite par *Streptomyces avermitilis*, est une véritable réussite en matière d'anthelminthique. Après son apparition à la fin des années 1970, l'ivermectine était le premier endectocide au monde, qui à l'époque était une classe complètement nouvelle d'agents antiparasitaires, avec une forte activité à large spectre contre les nématodes et les arthropodes internes et externes. Récemment, le prix Nobel de physiologie ou de médecine 2015 a été décerné à Satoshi Omura et William C. Campbell pour leur découverte de l'avermectine, conjointement avec Youyou Tu pour la découverte de l'artémisinine, un médicament antipaludique (**Omura et Crump, 2014**).

### IV. Rôle écologique des actinomycètes

Les actinomycètes sont un groupe important de microorganismes qui jouent un rôle clé dans la nature et dans de nombreuses applications biotechnologiques (**Dholakiya et al., 2017**).

Voici quelques exemples de leur importance :

Dégradation de la matière organique : Les actinomycètes sont des décomposeurs importants de la matière organique dans le sol. Ils sont capables de dégrader une grande variété de substrats organiques, y compris les polymères complexes comme la cellulose et la lignine (**Zhao et al., 2017**).

Production d'antibiotiques : Les actinomycètes sont les principaux producteurs d'antibiotiques, qui sont utilisés pour lutter contre les infections bactériennes. Des antibiotiques tels que la streptomycine, la tétracycline et l'érythromycine sont produits par des espèces d'actinomycètes (**Waksman et al., 2010**).

Fixation d'azote : Certains actinomycètes ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique, ce qui en fait des contributeurs importants à la fertilité des sols (**Soe et al., 2012**).

Bioremédiation : Les actinomycètes sont utilisés pour dégrader les polluants organiques dans les sols, les eaux souterraines et les déchets industriels (**Nazari et al., 2022**).

Production d'enzymes : Les actinomycètes sont des producteurs d'enzymes clés pour les industries de la biotechnologie et de la production alimentaire (**Mukhtar et al., 2017**).

Source de nouveaux médicaments : Les actinomycètes sont une source importante de nouveaux médicaments, y compris des agents antifongiques, antiviraux et anticancéreux (**Selim et al., 2021**).

En résumé, les actinomycètes sont un groupe important de microorganismes qui ont un impact significatif sur la nature et la société. Leur capacité à dégrader la matière organique, à produire des antibiotiques, à fixer l'azote, à dégrader les polluants et à produire des enzymes et des médicaments en font des organismes clés pour de nombreuses applications biotechnologiques (**Dholakiya et al., 2017**).

## Matériels et méthodes

L'objectif de ce travail est l'isolement des actinobactéries possédant un potentiel de production des molécules bioactives et doté des activités hydrolytiques, à partir du sol de Hammam Salhine, du sol rhizosphérique, de Khenchela et le sol de Sebkha (El-Mahmal) de la wilaya de Khenchela.

**Tableau 06 : L'origine de sol**

Échantillon	Origine
1	Région de hamame salhine
2	gulta de hmame salhine
3	sol de jardine de laboratoire
4	sebkha mahmel



**Figure 5.** Localisation de Hammem El salhin commun Elhama kenchela

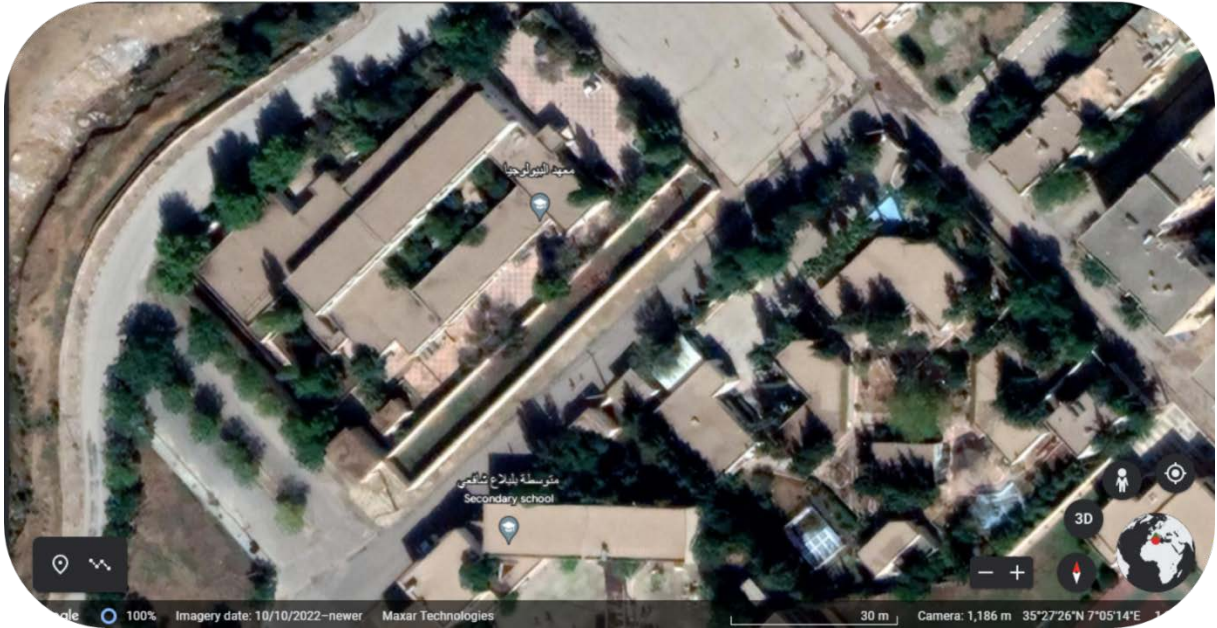


Figure 6. Localisation de laboratoire pédagogique El hamma

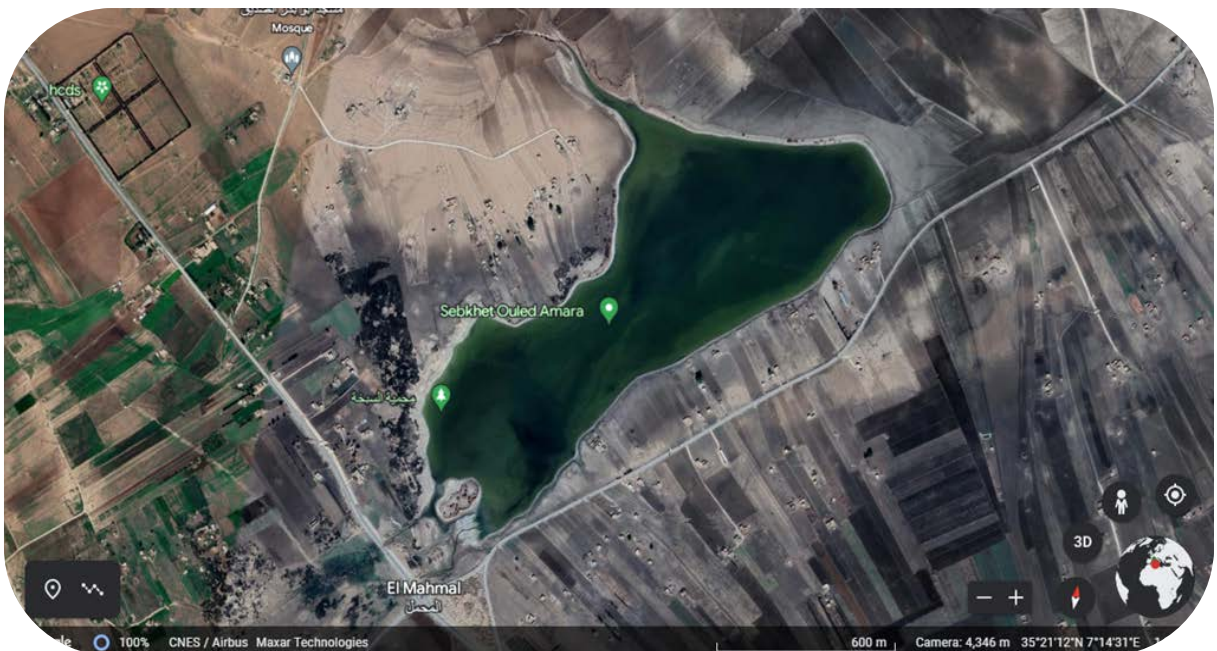


Figure 7. Localisation de Sebkheta ouled Amara Commun EL Mahmel -Khenchela

## II. Prélèvement des échantillons

Les prélèvements ont été effectués à partir de quatre types d'environnement, (région de galta et la région de hamamme salahin et sebkheta et laboratoire) selon la méthode décrite par (Pochon et Tardieux, 1962).

### III. L'isolement

Des souches actinomycéta les 6 souches d'actinomycètes isolées à partir du sol de hamamme salhine, le sol de galta, sol de sebkha de Imahmel et le sol de jardine de laboratoire ont été sélectionnées pour le test de l'activité antibactérienne vis-à-vis de 5 souches. L'utilisation des milieux de culture sélective, auquel on ajoute des antibiotiques.

#### III.1. Préparation des milieux de culture (CAA, WYE, ISP2, MH)

#### III.2. Préparation d'eau physiologie

Dans 1L d'eau distillé 4.5 gramme on était ajouté puis mélangez bien sous agitateur en suite on le mettra dans des tube et directement à l'autoclave pour la stérilisation

#### III.3. Préparation des dilutions

1g d'échantillons sont diluée dans 9ml d'eau phtsiologie stérile pour chaque échantillon de sol. Puis un volume de 1 ml de chaque dilution estensemencé à la surface de deux milieux de cultures différents (CAA, WYE) Pour chaque échantillon, des dilutions décimales de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-6}$  sont préparées à partir des solutions mères. Les boîtes sont incubées à la température de 30 °C

### IV. Purification

Les colonies d'actinomycètes sont repérées d'après leurs aspects macroscopiques et microscopiques caractéristique. Elles sont alors repiquées etensemencées par la méthode des stries sur des boites de pétri contenant le milieu CAA ET international streptomycète Project pour examen d'antibiotiques, puis incubées à 30°C. Cette dernière opération est répétée jusqu'à l'obtention de cultures pures. La pureté des isolats est contrôlée par des examens microscopiques directs après chaque repiquage (Boussaber *et al.*, 2012).

### V. Caractérisation macro et micro des isolants des actinomycètes

#### V.1 Etude macroscopique

Les caractéristiques morphologiques et culturelles ont été déterminées sur le milieu (ISP2) qui a été versé dans des boîtes de Pétri, puis strié et incubé à 30°C pendant 14 jours. Les études macroscopiques sont essentiellement basées sur la croissance des MA et MS et leur couleur.

### V.2 Etude microscopique

pour déterminer les structures et la sporulation des genres étudiés, ainsi que la fragmentation ou non du mycélium du substrat, les fructifications des différentes souches cultivées sur les différents milieux cités précédemment sont observées au microscope optique aux grossissements (x40) (Williams *et al.*, 1989).

### VI. Préparation des inoculas des bactéries teste

Pour chaque bactérie test, un inoculum est réalisé. A partir d'une culture de 24 heures. Une suspension bactérienne est préparée dans l'eau physiologique stérile une suspension de chaque bactérie test est préparée. La densité cellulaire de chaque suspension est ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre afin d'avoir d'une absorbance comparée au standard (0,5 McFarland) et en fin ensemencée sur une gélose Mueller Hinton par un écouvillon stérile trempé dans la suspension bactérienne recherchée contre les bactéries-tests obtenues auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC).



**Figure 8.** Préparation d'inoculum

Les bactéries à coloration de Gram positive sont : *Staphylococcus aureus* ATCC et *Bacillus subtilis* ATCC. Les bactéries à coloration de Gram négative sont : *Escherichia coli* ATCC et *Klebsiella*.

### VII. Technique de cylindres d'agar

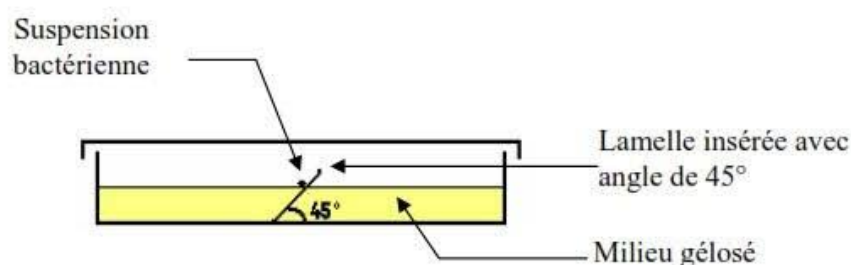
La technique des cylindres d'agar consiste à déposer, sur les boîtes contenant de la gélose Mueller Hinton déjàensemencée par les souches tests, des cylindres de gélose de 6mm de diamètre prélevé à partir des cultures jeunes des souches d'actinomycètes. Les boîtes préparées sont placées par la suite au réfrigérateur à 4°C pendant 4 heures pour permettre une bonne diffusion des substances actives. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 (Boughachiche *et al.*, 2012).

### VIII. Activité antibactérienne

Cette technique consiste à ensemencer les isolats d'actinobactéries en stries serrées sur le milieu de production CAA et WYE. Après incubation des cultures à 27 °C pendant une à deux semaines, 6 cylindres de gélose de chaque culture (6 mm de diamètre) sont prélevés à l'aide d'un emporte-pièce et déposés soit sur le milieu Mueller-Hinton préalablementensemencé par les inoculas de bactérie test production sans culture d'actinomycète est mis dans chaque boîte de Pétri. Les boîtes de Pétri sont ensuite placées à 4 °C pendant quatre heures pour permettre une diffusion des substances actives, puis elles sont incubées à la température de 37 °C pendant 24 h 10.

### IX. Technique de culture sur lamelle

Cette technique consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans le milieu ISP2 de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec la surface de celui-ci. Un fragment de la colonie est ensemencé contre la lamelle en contact du milieu à l'aide d'une l'anse de platine. La boîte est ensuite incubée à 30°C. Après 14 jours d'incubation, la lamelle est retirée avec précaution, déposée sur une lame contenant une goutte d'eau distillée stérile, puis examinée directement au microscope optique (G×40).



**Figure 9.** Schéma présentant la culture sur lamelle (Ouchari, 2019)

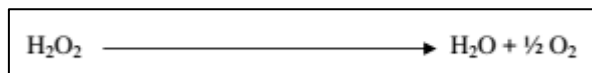
### X. Identification

#### X.1. Coloration du Gram

C'est une coloration différentielle permettant la division des bactéries en deux grands groupes, Gram positif et Gram négatif. La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Elle doit être parfaitement maîtrisée car c'est le point de départ du choix des examens complémentaires à effectuer, des milieux à ensemencer etc... Pour chaque colonie répondant aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques des actinomycètes un frottis est réalisé. Ces derniers sont colorés en premier lieu par une solution de violet de Gentiane qui est un colorant basique, pendant une minute. Ensuite les lames sont rincés par une solution iodo-iodurée (Lugol) qui agit comme mordant en augmentant les interactions entre le colorant et les cellules afin que celle-ci soient contrastées. Sans rincer les lames sont inclinées à 45°, les frottis sont décolorés par lavage d'un mélange d'alcool et d'acétone. Par la suite les lames sont rincées à l'eau distillée afin d'arrêter la décoloration. Enfin les frottis sont recolorés par un colorant basique de couleur rose : Fuschine de Ziehl, pendant une minute puis rincés abondamment à l'eau du robinet. Une fois séchées, les lames sont examinées au microscope optique à l'aide de l'objectif à immersion (Gx100) (**Prescott *et al.*, 2003**).

#### X.2. La recherche de la Catalase

Le peroxyde d'hydrogène est toxique, mais certaines bactéries ont la capacité de le dégrader grâce à l'enzyme catalase (**Guiraud, 1998**). Pour cela, ce critère est utilisé dans la systématique pour l'identification des bactéries.



Pour tester la présence de cette enzyme chez les bactéries, il faut mettre une colonie à une petite tache sur une lame puis ajouter une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur place. UN dégagement de gaz indique l'activité de catalase (**Rene *et al.*, 2003**).

#### X.3. Teste oxydase

Les cytochromes sont des protéines qui appartiennent à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons. La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif.

Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacé.

Cette enzyme est recherchée par la méthode des disques .A partir d'un milieu solide, une colonie est déposée sur un disque oxydase placé sur une lame, à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée. Une réaction positive est révélée par l'apparition d'une tache violette.

### **XI. Criblage de l'activité enzymatique**

#### **XII.1. Activité amylolytique**

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de l'amidon en cultivant les isolats sur un milieu contenant de l'amidon comme source de carbone selon la méthode de (**Aneja ,2003**), la composition du milieu utilisé est en g/L.

##### **XI.1.1. Principe**

- Couler le milieu dans les boites de pétri.
- Laisser solidifier et sécher.
- Ensemencer les boites de pétri de ce milieu par un strie unique avec l'isolat concerner; Incuber à 25 °C Pendant 48 à 72h, a près d'ajouté une solution de lugol.

##### **XII.1.2. La lecture**

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de l'amidon par l'observation d'un halo translucide autour de la colonie après l'ajoute de lugol.

#### **XII.2. Activité gélatinas**

L'activité a été testée en hydrolysant la gélatine selon la méthode de( **Cappuccino et Sherman.2008**) en cultivant les isolats sur un milieu contenant de la gélatine comme source de carbone, la composition du milieu utilisé a été exprimée en g/L.

##### **XII.2.1. Principe**

- Coulé le milieu dans les boites de Pétri
- Laisser solidifier et sécher
- Ensemencer les boites de Pétri de ce milieu par un strie unique avec l'isolat concerner
- Incuber à 25 °C Pendant 48 à 72h, a près l'incubation ajouté une solution de Hg cl2 (1.5%).

##### **XII.2.2. La lecture**

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de gélatine par l'observation d'un halo translucide autour de la colonie près d'ajouté une solution de Hg cl2 (1.5%).

### XII.3. L'activité lipolytique

Les lipides sont des composés de poids moléculaire élevé possédant de grandes quantités d'énergie. Une fois assimilés dans la cellule, ils sont métabolisés par la respiration aérobie pour produire de l'énergie cellulaire, l'adénosine triphosphate (ATP). Les composants peuvent également entrer dans d'autres voies métaboliques pour la synthèse d'autres exigences protoplasmiques cellulaires.

Cependant, avant leur assimilation par les bactéries, elles nécessitent d'être dégradées. La dégradation des lipides tels que les triglycérides est accomplie par des enzymes d'hydrolyse extracellulaires, appelées lipases (estérases), qui clivent les liaisons ester dans cette molécule par l'ajout d'eau pour former les éléments constitutifs du glycérol (un alcool) et des acides gras (**Tille et forbes, 2014**).

#### XII.3.1. Principe

- Ensemencer le milieu de gélose tween 80 avec une seule ligne de stries d'organisme.
- Incuber en anaérobiose dans un bocal à gas pak immédiatement après le striage et transférer dans l'incubateur maintenu à 35-37°C pendant 24-48 heures pour les anaérobies et pour les aérobies, incuber la plaque à 35-37°C pendant 24-48 heures.
- Examinez les cultures sur plaque de gélose interpolée pour la présence ou l'absence d'une zone de précipitation, entourant la croissance de chacun des organismes.

#### XII.3.2. La lecture

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse des lipides par l'observation directe d'un halo translucide autour de la colonie

### XII.4. L'activité protéolytique

La caséine, principale protéine du lait, est une macromolécule composée de sous-unités d'acides aminés liées entre elles par des liaisons peptidiques (CO-NH). Il fabrique environ 85% des protéines présentes dans le lait ainsi que la couleur blanche du lait.

La caséine est bien trop grosse pour pénétrer dans la membrane cellulaire. Avant leur assimilation dans la cellule, les protéines doivent subir une dégradation étape par étape en peptones, polypeptides, dipeptides, et finalement en leurs éléments constitutifs, les acides aminés (**brown, 2009**).

### **XII.4.1. Principe**

- Ensemencer l'organisme sur la plaque soit en ligne droite soit en zig-zag.
- Incuber la plaque à 25°C ou 37°C.
- Examiner les cultures sur plaque de gélose au lait pour la présence ou l'absence d'une zone claire, ou zone de protéolyse, entourant la croissance de chacune des bactéries.

### **XII.4.2. La lecture**

Le test d'activité est basé sur hydrolyse de protéine par l'observation directe d'un halo translucide autour de la colonie.

Détermination du genre L'identification du genre est basée sur des critères morphologiques et chimiques. Les 6 isolats ont fait l'objet de cette étude.

### 1. Caractères culturels :

Après 14 jours d'incubation sur CAA WYE les colonies qui apparaissent sont repiquées sur le milieu ISP2

(Amidon-caséine). Elles sont incrustées dans la gélose et possèdent pour les plupart un mycélium de Substrat surmonté d'un mycélium aérien de couleurs différentes (parfois le mycélium aérien est Absent.)

### 2. Etude de l'aspect macroscopique

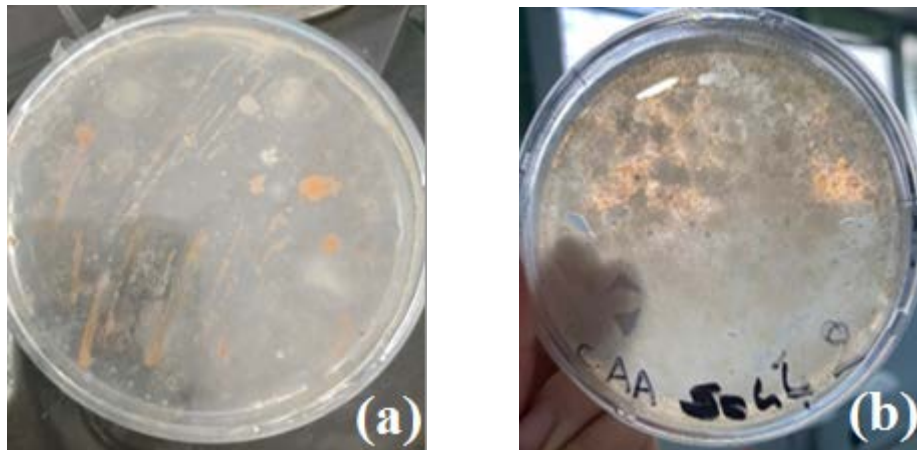
L'apparition des colonies bactériennes a été reconnue. La morphologie des caractéristiques a été transplantée pour Le milieu CAA a été incubé à 28 ° C pendant 7 jours. Communauté La mise en place des bactéries a l'air sèche, rugueuse, colorée, indépendamment de Adhérer a l'agar, avec un mein nutritionnel et aérien, Une partie des bactéries qui ne présentent que le substrat (**Boudemagh, 2007**)

Les colonies sont généralement rondes et opaques. Il y en a une Contour irrégulier. Eux adhérer à la surface de l'agar et présenter l'apparence de la poudre Granules ou lisses à partir de 6 souches isolées et purifiées, nous En fonction de leurs trois souches représentatives Caractère macro (la forme et la texture du colonial, de la couleur, de la couleur

Le substrat et la mobilisation aérienne et sa puissante activité antibactérienne. Le mycélium aérien présente des différentes couleurs orange, blanche, grise Ce ci à était constaté par d'autres chercheurs dans plusieurs travaux comme (**Arasu etAl ,2009**) (**Belabed et Belyagoubi, 2014**)

Observer la frustration de la couleur du fil des bactéries : Plusieurs observations de la même observation de jaune et de beige sont des auteurs tels que **Balasubramaniam, 2011**) et (**Bealed, 2014**).

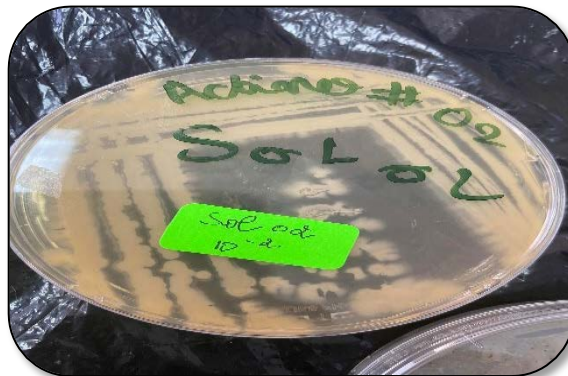
Dans ce but, nous avons choisi une méthode d'isolement des bactéries actinomyçatales à partir de nos quatre échantillons. Les avis concernant l'utilisation *des antibiotiques sont cependant controversés. Selon (JEAN ET 1968)*



**Figure 10.** Résultats d'isolement des actinomycètes. (a) : milieu de culture, sol ; (b) : milieu CAA, sol 2.

### 3. Purification des isolats d'actinomycètes

La purification des actinomycètes a été réalisée après une période d'incubation de 7 jours à 28°C sur le milieu ISP2 par la méthode de stries série



**Figure 11.** Purification des isolats d'actinomycètes

La reconnaissance des souches d'Actinomycètes a été bien confirmée par leur morphologie caractéristique qui les distingue des autres microorganismes, elles donnent souvent des colonies pigmentées et d'aspect sec. La présence du mycélium aérien rend leur surface poudreuse. Les colonies adhèrent fortement au substrat gélosé.

*es genres les plus importants d'actinomycètes présents dans le sol sont Streptomyces, Nocardia, Micromonospora, Thermomonospora, Actinoplanes, Microbispora, Streptosporangium, Actinomadura, Actinosynnema, Dactylosporangium, Rhodococcus, Actinosynnema Kitasatospora, Gordona, Intrasporangium et Streptoalloteichus*

(*Lechevalier et Lechavalier, 1967*). Mais le genre *Streptomyces*, est un des grands groupes bactériens les plus abondants dans le sol (**Nooshin et Janardhana, 2015**).

Tous les actinomycètes isolés dans ce travail ont montré une activité

Effet antimicrobien contre au moins un des micro-organismes testés utilisés. Exister influencé plusieurs œuvres.

Des études ultérieures ont confirmé les extraordinaires capacités antibactériennes de ces médicaments

Bactéries (**McKenzie et al., 2010 ; Mythili et Ayyappa, 2011 ; Ng et Amsaveni, 2012**)

#### **4. Caractères morphologiques :**

L'étude des caractéristiques culturelles (croissance, couleur des mycélia aérien et du substrat, ainsi que celle des pigments diffusibles) micromorphologiques (sporulation, agencement des spores, fragmentation ou non des mycélia) des isolats d'actinobactéries sélectionnés a été effectuée sur les milieux préconisés lors de l'International Streptomyces Project (ou ISP) et qui sont, l'ISP2, et (**Shirling et Gottlieb, 1966**), ainsi que sur les milieux CAA (**Waksman, 1961**)

Toutes les isolats d'Actinomycètes purifiées se présentent sous forme de filaments fins, ramifiés et enchevêtrés, ces filaments se fragmentent pour certaines ou pas pour d'autres en éléments bacillaires ou ovoïdes. Ils sont regroupés quelques fois en masse pour former des thalles denses, La fragmentation est particulièrement abondante chez l'isolat de (*nocardia*)

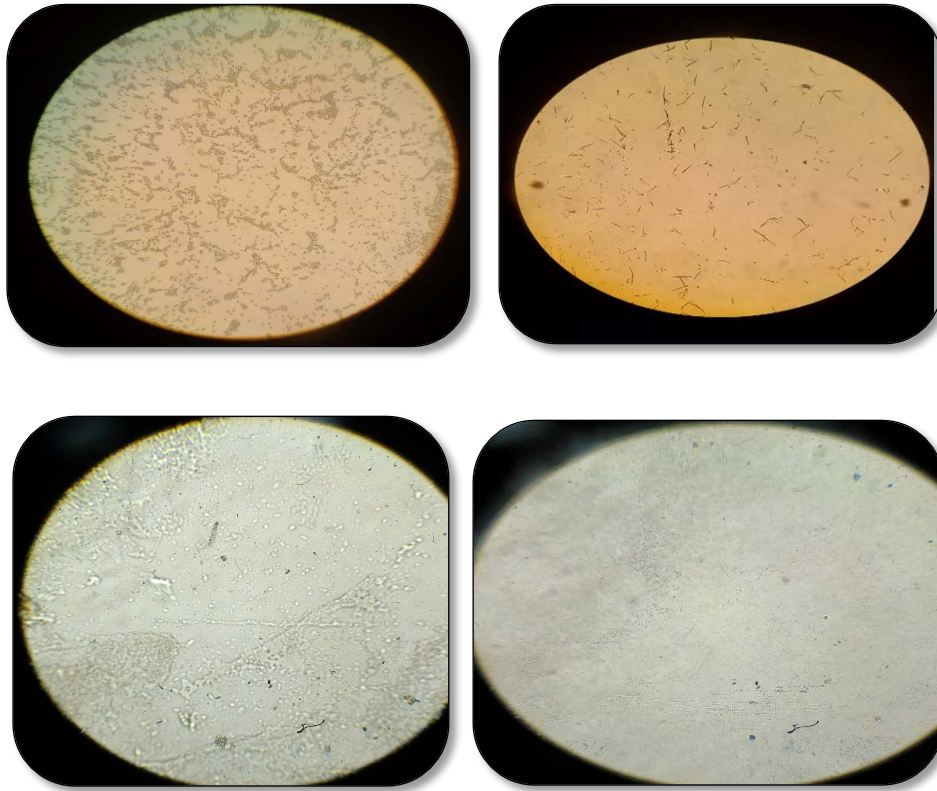


Figure 12. Observation microscopique des souches isolées 4 x10

### 5. L'activité antibactérienne :

La recherche de l'activité antibactérienne des 6 isolats a été réalisée sur le milieu Muller Hinton. Le choix de ce milieu a été dicté par sa formule, son pH, sa composition notamment la concentration en magnésium et en calcium, ainsi son épaisseur standardisée permettant une bonne croissance des bactéries-tests et offrant des résultats clairs grâce à sa limpidité

Tableau 07 : Résultats du test d'activité antibactérienne.

	<i>E.coli</i>		<i>Bacillus</i>		<i>Klebseila</i>		<i>staphylocoque</i>	
	B1	B2	B1	B2	B1	B2	B1	B2
SS1	-	-	-	-	5mm	-	-	-
SS2	-	-	14mm	15mm	16mm	14mm	-	-
SS3	-	-	-	-	14.5mm	18mm	-	-
SS4	11mm	14mm	10mm	14mm	14mm	16mm	15mm	16mm
SSB	-	-	-	-	-	-	-	-
RS2	14mm	-	-	-	-	-	16mm	16mm

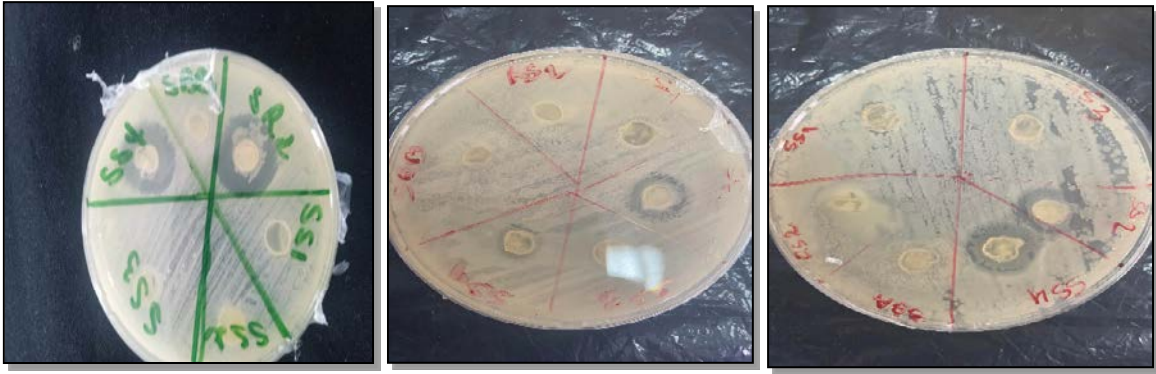
SS : sol souche / SS : repiquage souche B / RS : repiquage souche

## Résultats et discussion

Les résultats du test d'activité a été bien montre dans le tableau et les figures en ce qui concerne les germes tests, les bactéries à Gram positif apparaissent moins sensibles aux molécules bioactives des actinomycètes en comparaison avec les bactéries à Gram négatif. L'or de la manipulation des nouveaux métabolites secondaires, les actinomycètes sont souvent rencontrés et ils montrent une activité antimicrobienne plus active contre les bactéries Gram positives que des bactéries Gram négatif. Cette différence de sensibilité des deux types bactériens peut être expliquée par la différence morphologique, les Gram négatif possèdent une membrane de nature lipopolysaccharidique qui rend la paroi imperméable aux substances hydrosolubles (polaires). Tandis que les Gram positif plus susceptibles disposent d'une couche externe de peptidoglycane qui n'est gère une barrière imperméable efficace contre ce genre de molécules.

On peut dire aussi que l'activité détecter contre les germes à Gram négatifs est aussi importante vis-à-vis : *Pneumoniae Klebseila*, *E.coli*. Les trois souches SS3 SS4 SS2(RS2) et SS4 se révèlent être plus actifs sur les souches testées suivantes : *Klebseila Pneumoniae* , *E.coli* et *Bacillus cereus* et *staphylocoque aureus*.les actinomycètes ont montrés une activité importante vis-à-vis *Klebseila Pneumoniae* Les souche SS2 SS4 enregistre les plus gros diamètres d'inhibition soit 14 ,16, 18 mm respectivement contre *Klebseila Pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* ,SS4 a sensibilité vis-à-vis deux différents bactéries-tests à un même souche active pourrais être expliquer par la production de plusieurs types de molécules antibactériennes d'après( **Boughachiche et al., 2005**)

La souche SS4 possède un large spectre d'activité antibactérienne, elle est active contre toutes les souches bactériennes tests que ce soit à Gram positif ou à Gram négatif



**Figure 13.** Spectre d'activité antibactérienne des souches actinomycètes

Ont été observés que plusieurs chercheurs ont observé la résistance remarquable des bactéries à Gram négatifs par rapport à leurs homologues bactéries Gram positif (Ullahal, 2012).

(Cwala & al., 2011) ont testés l'activité antimicrobienne de quatre espèces appartenant à trois genres d'actinomycètes. Les résultats trouvés indiquent que les résultats des souches sont plus actifs sur des bactéries de coloration de Gram positif que sur des bactéries de coloration de Gram négatif

Selon les résultats présentés dans le tableau, il apparaît clairement que le nombre d'actinomycètes isolées de l'échantillon SS2 SS4 (sol DE SEBKHA ET GULTA) est nettement supérieur à celui obtenu à partir des autres échantillons suivie de l'échantillon SS1 et à moins importance l'échantillon SS3. Les actinomycètes sont considérés comme la source la plus puissante pour la production de métabolites secondaires, d'antibio. Ceci peut s'expliquer par le fait que ces métabolites sont souvent produits dans des conditions de stress environnemental, telles que la limitation de nutriments, la présence de prédateurs ou de compétiteurs, ou des changements de températures et d'autres composés bioactifs (Janardhan et al., 2014)

### 6. Test amylase

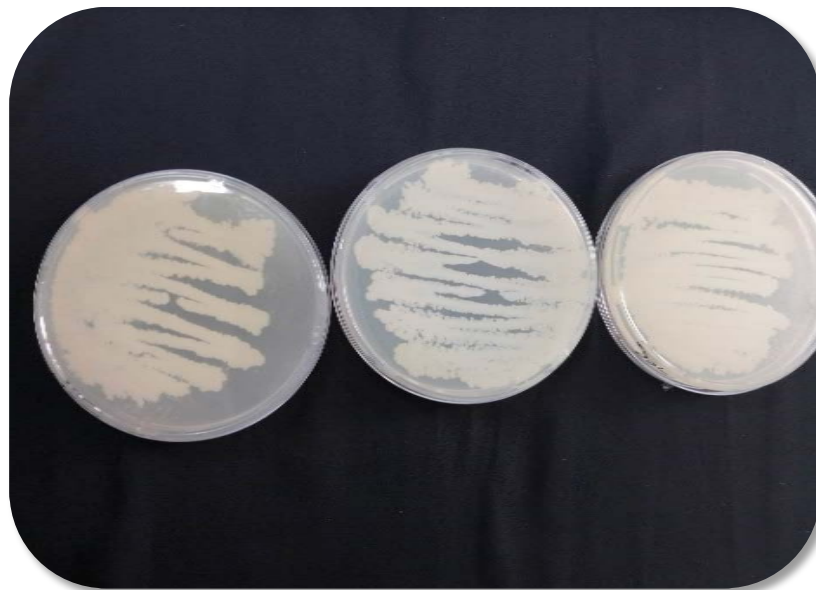
L'activité amylolytique conduit à en revanche, les régions contenant de l'amidon odeur brune la remarqué par (Garaldine et al., 1981) Résultat positif pour les deux souches SS4 SS2. Les amylases produites par *Streptomyces erumpens*



**Figure 14 :** Résultats de test amylase

### 7. Test Gélatinase

L'hydrolyse de la gélatine a montré que une zone claire apparaît alors où la gélatine ne se dégrade pas, d'après notre expérience



**Figure 3.** Résultats de test Gélatinase

Nous avons le plus **SS2 SS4** une partie de produire de la gélatinasse et négative pour les souches **SS3**

La reconnaissance des souches d'Actinomycètes a été bien confirmée par leur morphologie caractéristique qui les distingue des autres microorganismes, elles donnent souvent des colonies pigmentées et d'aspect sec. La présence du mycélium aérien rend leur surface poudreuse. Les colonies adhèrent fortement au substrat gélosé.

*Les genres les plus importants d'actinomycètes présents dans le sol sont Streptomyces, Nocardia, Micromonospora, Thermomonospora, Actinoplanes, Microbispora, Streptosporangium, Actinomadura, Actinosynnema, Dactylosporangium, Rhodococcus, Actinosynnema Kitasatospora, Gordona, Intrasporangium et Streptoalloteichus (Lechevalier et Lechevalier, 1967). Mais le genre Streptomyces, est un des grands groupes bactériens les plus abondants dans le sol .*

### 8. Test caséinase

Les tests de caséinase étaient positifs isolés. Cette activité a donné lieu à une zone propre autour de la colonie ceci est similaire aux travaux de (Stanek et Robert, 1979)

Mais dans notre échantillon les résultats sont négatifs

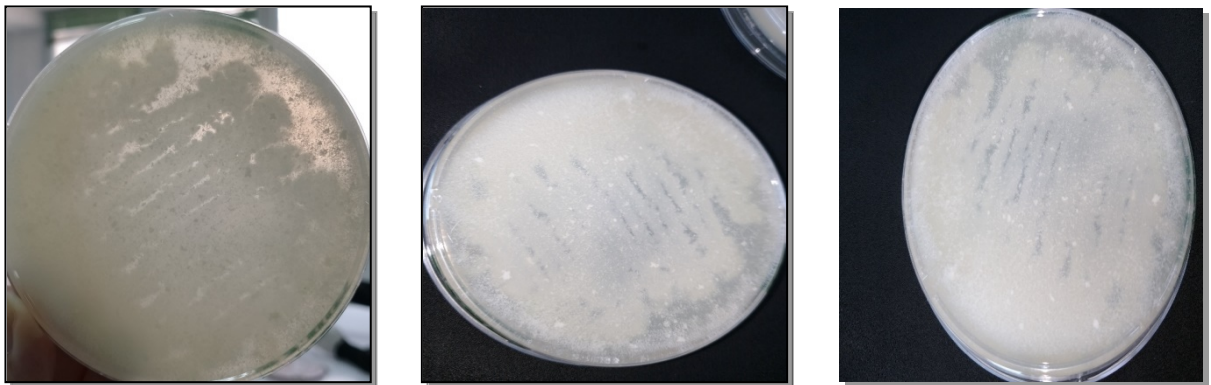
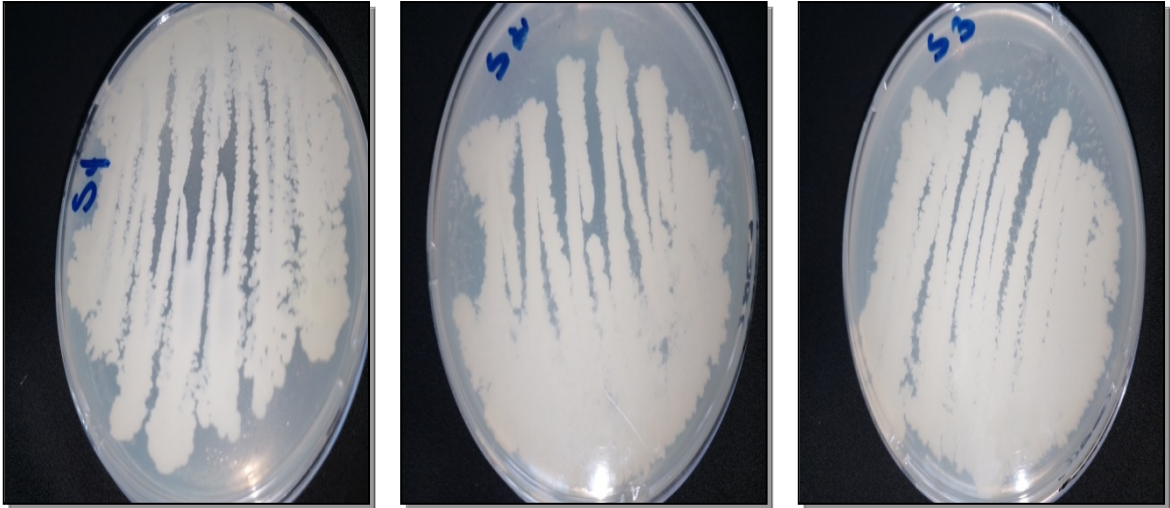


Figure 16. Résultats de test caséinase

### 9. Test lipase

Formation de précipité blanc (lipase +) sur gélose à tween 80. Dans notre échantillon **SS2** et **SS4** sont positives mais **SS3** négative



**Figure 4.** Résultats de test lipase

Tous les actinomycètes isolés dans ce travail ont montré une activité. Effet antimicrobien contre au moins un des micro-organismes testés utilisés. Exister influencé plusieurs œuvres. Des études ultérieures ont confirmé les extraordinaires capacités antibactériennes de ces médicaments bactéries **McKenzie et al., (2010)** ; **Mythili et Ayyappa, (2011)** ; **Ng et Amsaveni, (2012)**.

Référence :résultat et discusion

## A

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.

## B

- Balasubramaniam, V., Ganesh, S., Karunanithi, V., Perumal, P (2011), Impoved Culturing, Screening and Fermentation of soil Actinomycetes for Actinomicrobial Agents, Int. J.Pharm and Ind. Res VI (01) Issue (02): 153-159.

- Belabed, B (2014). Recherche des activités anti-pathogènes chez les espèces du genre Streptomyces isolées de différents biotopes. Mémoire magistère : Biologie moléculaire et génétique des microorganismes. Oran : Université d'Oran, 98.

- Boudemagh A. ,2007. Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. pp.22-24.

Boughachiche. F, Reghioua. S, Oulmi. I, Zerizer. H, Kitouni. M, Boudemagh. A, Boulahrouf. A. 2005. Isolement d"actinomycetales productrices de substances antimicrobiennes a partir de la sebkha de Ain Mlila. Sciences & Technologie. N : 23. Pp : 5-10.

Belyagoubi L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Thèse de Doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P : 14-17

## C

Cwala Z., Igbinosa 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.

## D

Données OMS "Principales causes de mortalité dans le monde en 1996". (1997). (réfr intro)

## E

## F

## J

## H

Higashide E. The macrolides: properties, biosynthesis and fermentation *Drugs pharm. Sci*, 22, (1984), pp. 452-508. (réfr intro)

## I

Iwai Y. & Takahashi Y, "Selection of microbial sources of bioactive compounds" in «The search for bioactive compounds from microorganisms», Springer-Verlag, New York. (Ed.), (1992). pp. 281-302.

## J

Janardhan, A., Kumar, A. P., Viswanath, B., Saigopal, D. V., & Narasimha, G. (2014). Production of bioactive compounds by actinomycetes and their antioxidant properties. *Biotechnology research international*, 2014, 217030.

Jean Rullier et A. Parodi, *Laboratoire et diagnostic en médecine vétérinaire*, Vigot, 1968, 712 p

## K

## L

Lechevalier ., Mary P ., By Hubert ,1967. New Brunswick, New Jersey . Institute of Microbiology . VOL :( 75 71)

## M

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

. 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.

## N

g. 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

P

Q

R

S

Shirling. E. B and Gottlieb. D. 1966. Methods for characterization of streptomyces species. International journal of systematic bacteriology. Vol. 16. N° 3. Pp : 313-340.

T

U

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.

V

W

Waksman. S. A. 1961. The actinomycetes. vol. I: Nature Occurrence and Activity. WAVERLY PRESS, INC : Baltimore. Pp : 327.

X

Y

Z

Références matériel :

## A

Aneja K.R. 2003. Experiments in Microbiology, Plant Pathology and Biotechnology, fourth revised edition, New Age International (P) limited, Ansari road, Daryaganj, New Delhi-110002.

## B

Boussaber, E., Kadmiri, I., Hilali, L., Hilali, A (2012). Comparaison de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes isolées de milieux variés. ScienceLib Editins Mersenne. Vol 4. N ° 121203: 1-21

Boughachiche. F. 2012. Étude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre Streptomyces, isolées de Sebka. Thèse doc : Université MentouriConstantine. Pp : 150.

Brown A.E. 2009. Benson's Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology, 11th ed. McGraw-Hill Companies, New York, NY, USA.

## C

Cappuccino J.G. and Sherman N. 2008. Microbiology: A Laboratory Manual, 8th ed. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA, USA.

## P

Pochon, J et Tardieux, P (1962). Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Éditions : Tourelle: 111.

Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., Willey, J.M., Sherwood, L.M., Woolverton, C.J., 2003. Microbiologie. 2e éd. Bruxelles: De Boeck 1139

Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A. 2010. Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp : 1088.

## T

Tille, P. M., & Forbes, B. A. (2014). Bailey & Scott's diagnostic microbiology (Thirteenth edition.). St. Louis, Missouri: Elsevier.

## G

Gayathri A; Madhanraj P; and Panneerselvam A. 2011. Diversity, Antibacterial Activity And Molecular Characterization of Actinomycetes Isolated From Salt Pan Region of Kodiakarai, Nagapattinam DT. Asian J. Pharm. Tech. Vol: 1. N° 3. Pp: 79-81.

## **Annexe1**

### **Milieu GLM (gélose à l'extrait de levure extrait de malt)**

Extrait de levure.....	03g
Peptone .....	05g
Extrait de malt .....	03g
Glucose .....,.....	10g
Eau distillée .....	1000ml

Le pH est ajusté à 7,2

puis ajouter 20g d' Agar

### **Milieu ISP2 :**

Extrait de levure .....	4 g
Extrait de malt .....	10g
Glucose .....	4g
Eau distillée .....	1000ml

Le Ph est ajusté à 7,2 puis ajouter 20g d' Agar.

### **Gélose nutritive (GN)**

: Peptone .....	10 g
Extrait de viande .....	5 g
Chlorure de sodium .....	5 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

Un milieu de culture microbienne très favorable à la croissance bactérienne, Le pH de la G-N est de 7,2

### Milieu Mueller Hinton

Mueller Hinton poudre = 21 g

Agar = 20 g

Eau distillée = 1000 ml

### WYE

Extrait de levure .....0 ,25g

Agar.....18 g

PH 7,2

### CAA

Casein powder .....1g

Starch .....10 ,00g

Sea water ..... 37 ,00g

Agar ..... 15g

Ph 7,2

## Résumé :

Les actinomycètes sont des bactéries très recherchées pour leurs importances dans plusieurs domaines. Ce sont des microorganismes ubiquitaires qui se rencontre dans presque tous les milieux même ceux où la vie est extrêmement, Cette distribution bactérienne suit positivement pour l'isolement et la purification des actinomycetes donc isolement de souches actinomycétales à partir de sols rhizosphériques de hamame salhine et sol de laboratoire, sebkha et source thermale (gulta)mise en évidence de l'activité antimicrobienne. Un total de 6 isolats se rapprochant par leurs aspects macroscopiques des Actinomycètes a été isolé à partir de 3 échantillons de sols de différentes régions, dont quatre échantillons ont été prélevé à partir de la wilaya de Khenchela, en utilisant la méthode d'isolement suspension-dilution. Parmi ces isolats, 2 Sont été isolés à partir de sol forestier rhizosphérique, 1 été isolées à partir de la Sebkha et 2 été prélevées à partir du sol de source thermale gulta. (RS2 ET SS2) Dans le but de découvrir de nouvelles molécules antibiotiques, l'activité antimicrobienne des 2 isolats De source thermale et les 2 isolats de la Sebkha a été mise en évidence envers quatre bactéries à Gram positif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus*) et quatre bactéries à Gram négatif (*E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*) par la technique des cylindre d'agar. les isolats de sol du source thermale (gulta) et les isolats de la sebkha ont montré une activité antibactérienne au moins vis-à-vis une bactérie test. Ces isolats semblent être plus actifs sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif dont *E. Coli* a été considéré comme la bactérie la plus résistante à tous les isolats. , alors que les souche isolée à partir de la Sebkha et source thermale (gulta) montré un effet antagoniste vis-à-vis les bactéries test. Il apparait donc nécessaire de s'orienter vers la lutte contre les bactéries multi-résistante et à l'aide des bactéries actinomycetales isolées à partir du sol de sebkha et source thermale (gulta)

Sur la base des critères morphologiques et chimio-taxonomiques, isolat SS4 ET SS2 peut être rapproché au genre *nocardia* , *streptomyces* ou *frankia*. Cependant, l'existence de plusieurs différences physiologiques et biochimiques entre notre isolat

**Mots clés :** actinomycètes, activité antibactérienne, souches tests, molécules antibiotique, antagoniste, les bactéries multi-résistante.

## **Abstract**

Actinomycetes are highly sought-after bacteria for their importance in many fields. They are ubiquitous microorganisms that can be found in almost any environment where life is extremely limited. This bacterial distribution follows positive for the isolation and purification of actinomycetes so isolation of actinomycete strains from rhizospheric soil from hamame salhine and laboratory soil, sebkha and thermal spring (gulta), highlighting their antimicrobial activity. A total of 6 isolates with similar macroscopic aspects of Actinomycetes were isolated from 3 different soil samples from different regions, of which four samples from the wilaya of Khenchela, using the suspension-dilution isolation method. Of these isolates, 2 were isolated from rhizospheric forest soil, 1 was isolated from Sebkha and 2 from thermal spring soil. (gulta). (RS2 AND SS2) With the aim of discovering new antibiotic molecules, the antimicrobial activity of the 2 thermal spring isolates and the 2 Sebkha isolates was demonstrated against four Gram-positive bacteria (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus*, ) and four Gram-negative bacteria (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*) using the agar cylinder technique. Soil isolates from the thermal spring source (gulta) and sebkha isolates showed antibacterial activity against at least one test bacterium. These isolates appear to be more active on Gram-positive bacteria than on Gram-negative bacteria, of which *E. coli* has been considered the most resistant to all isolates. The strain isolated from the Sebkha and thermal spring (gulta) showed antagonistic effect on the test bacteria. It therefore appears to focus on the fight against multi-resistant bacteria using actinomycetal bacteria isolated from sebkha soil and thermal spring (gulta.) Based on morphological and chemotaxonomic criteria, isolate SS4 AND SS2 can be related to the genus *Nocardia*, *Streptomyces* or *Frankia*. However, the existence of several physiological and biochemical differences between our isolate.

**Key word :** actinomycetes, antibacterial activity, test strains, antibiotic molecules, antagonist. multi-resistant bacteria.

## ملخص

الأكتينوميسيتات هي بكتيريا عالية البحث لأهميتها في العديد من المجالات. هذه كائنات دقيقة منتشرة في كل مكان توجد في جميع البيئات تقريباً ، حتى تلك التي تكون فيها الحياة عالية للغاية. يتبع هذا التوزيع البكتيري بشكل إيجابي لعزل وتنقية الفطريات الشعاعية ، وبالتالي عزل سلالات الجذور الشعاعية من تربة ريزوسفير في الحمام المالح ومختبر التربة ، السبخة و دليل gulta على نشاط مضادات الميكروبات. تم عزل ما مجموعه 6 عزلات تقترب من جوانبها الميكروسكوبية من الفطريات الشعاعية من 3 عينات تربة من مناطق مختلفة ، بما في ذلك أربع عينات مأخوذة من ولاية خنشلة ، باستخدام طريقة العزل المعلق ، التخفيف. تم عزل 2 من هذه العزلات من تربة غابات جذور الغلاف الجوي ، وعزل 1 منها

تم أخذ سبخة و 2 من تربة الجولتا (RS2) و (SS2) من أجل اكتشاف جزيئات جديدة من المضادات الحيوية ، تم إثبات النشاط المضاد للميكروبات لعزلتين من عزلات الجولتا و 2 من عزلات السبخة ضد أربعة بكتيريا موجبة الجرام (*Bacillus subtilis*) ، *Staphylococcus* ، (وأربعة بكتيريا سالبة الجرام *E.coli*) ، (*Klebsiella pneumoniae*). باستخدام تقنية أسطوانة أجار. أظهرت عزلات تربة جلطة وعزلات السبخة نشاطاً مضاداً للبكتيريا ضد بكتيريا اختبار واحدة على الأقل. يبدو أن هذه العزلات أكثر نشاطاً ضد البكتيريا موجبة الجرام مقارنة بالبكتيريا سالبة الجرام والتي تعتبر E.

أكثر أنواع البكتيريا مقاومة لجميع العزلات. بينما أظهرت السلالات المعزولة من سبخة وجولتا تأثيراً معادياً ضد بكتيريا الاختبار. لذلك يبدو من الضروري التحرك نحو مكافحة البكتيريا المقاومة المتعددة وبمساعدة البكتيريا الشعاعية المعزولة من تربة الجولتا والسبخة.

على أساس المعايير المورفولوجية والتصنيف الكيميائي ، يمكن مقارنة عزل SS2 و SS4 مع جنس *Streptomyces* و *Nocardia* أو *Frankia*. ومع ذلك ، فإن وجود العديد من الاختلافات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية بين عزلتنا

لكلمات ال: الفطريات الشعاعية ، النشاط المضاد للبكتيريا ، سلالات الاختبار ، جزيئات المضادات الحيوية ، المضاد متعدد البكتيريا المقاومة