

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Microbiologie Appliquée*

### THEME

---

**Etude de l'activité antibactérienne des souches d'actinomycètes isolées à partir du sol de Laghouat**

---

**Présenté par :**

BOUZIANI Souad Fatima Zahra

ABDELHAFIDI Meriem Iman

**Devant le jury composé de:**

ZERROUKI Hocine

**MAB**

**Président**

MADOURI Radouane

**MAB**

**Examineur**

MESSAOUDI Omar

**MAA**

**Encadreur**

**Soutenu publiquement le : 23/06/2019.**



## *Remerciements*

*Avant tout nous remercions Allah tout puissant, qui nous a donné le courage, la volonté, la force, la santé et la patience pour réaliser ce travail.*

*Nous tenant à remercier sincèrement Mr Messaoudi Omar pour nous avoir encadrés, orientation et sa compréhension.*

*Nous remercions très sincèrement Mr MADOURI Radouane. et Mr ZERROUKI Hocine Maîtres Assistants à l'université Amar Thelidji Laghouat d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Nos remerciements très sincèrement mes enseignants pendant les cinq ans d'étude.*

*a nos familles et nos amis qui par leurs prières et leur encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles.*

## *Dédicaces*

Je dédie ce mémoire

*A mes chers parents pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A mes chères sœur Khadidja, Hiba et Alaa et mon frère Zakaria pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral.*

*A toute ma famille pour son soutien de tous les instants.*

*A tous mes collègues et mes amies.*

**Meriem iman**

## *Dédicaces*

Je dédie ce mémoire

*A mes chers parents, pour leur encouragement, leur soutien, leur amour et leur grands sacrifices pour m'aider à avancer dans la vie.*

*A mes sœurs Messouda , widad et Khadidja.*

*A mes frères Ahmed Ammar et Ridha.*

*A toute ma famille pour son soutien de tous les instants.*

*A tous mes collègues et mes amies en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

**Souad Fatima Zahra**

## Table des matières

Introduction	
I. Revue bibliographique	
1. Généralité des actinomycètes	2
2. Classification	4
3. Écologie et la distribution des actinomycètes	5
4. Métabolisme secondaire des actinomycètes	5
II. Matériels et méthode	
1. Echantillonnage	7
2. Isolement des actinomycètes à partir du sol	7
2.1 Séchage	7
2.2 Les milieux des cultures utilisées	7
2.3 Préparation de la suspension de dilution et ensemencement	7
3. observations microscopiques	8
4. purifications des isolats	8
5. Conservation des d'actinomycètes	8
6. mise en évidence l'activité antibactérienne	8
6.1 Préparation d'inoculum	9
6.2 Technique de cylindre agar	9
7. Extractions des molécules bioactives	9
8. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	10
III. Résultats et discussions	
1. résultats de l'isolement des actinomycètes	11
2. l'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des souches testées	12
3. étude morphologique des souches actives	16
4. Résultats de l'extraction des molécules bioactives	18
5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices de la souche R5	21
conclusion	22
Références bibliographiques	24

## Liste des figures

Figure 1	: Colonie d'actinomycètes en croissance sur gélose.	3
Figure 2	: La classification du phylum des actinobactéria	4
Figure 3	: La structure chimique de certaines molécules bioactif produit par les actinomycètes.	6
Figure 4	: Carte géographique indiquant les sites de prélèvement des échantillons dans la Wilaya de Laghouat.	7
Figure 5	: Technique de préparation des dilutions décimales.	8
Figure 6	: Détermination de la Concentration minimale inhibitrice par la méthode de microdilution	10
Figure 7	: Nombres des souches isolés à partir de chaque échantillon du sol prélevé de cinq régions de la wilaya de Laghouat.	11
Figure 8	: Activité antibactérienne des isolats actives contre les souches testées.	13
Figure 9	: Nombres des souches d'actinomycètes actives contre les bactéries testées Gram+ et Gram-.	14
Figure 10	: Teste d'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes.	15
Figure 11	: Observation macroscopique et microscopique du mycélium aérien des isolats R5 (10×100).	16
Figure 12	: Observation macroscopique et microscopique du mycélium aérien des isolats R9 (10×100).	16
Figure 13	: Observation macroscopique et microscopique du mycélium aérien des isolats T3 (10×100).	17
Figure 14	: Observation macroscopique et microscopique du mycélium aérien des isolats H3 (10×100).	17
Figure 15	: la différence de l'activité antibactérienne de la souche R5 par la technique de cylindre d'agar et par l'extrait des molécules bioactives	19
Figure 16	: Activité antibactérienne des molécules extrait de l'isolat R5 après 7 jours	20
Figure 17	: Activité antibactérienne des molécules extrait de l'isolat R5 après 14 jours	20

### **Liste des tableaux**

Tableau 1	: Nombre des colonies d'actinomycètes isolées à partir de chaque échantillon du sol.	11
Tableau 2	: résultats de l'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des Souches testée.	12
Tableau 3	: activité antibactérienne de l'extrait brute de l'isolat R5 par la méthode de disque Papier contre différentes bactéries teste.	18

## Liste des abréviations

CAA	: Milieu caséine amidon agar.
C+G	: Coefficient de Chargaff
NRPS	: non ribosomal peptide synthetas
Pks	: polyketide synthetas
ATCC	: American type collection culture.
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice.
ARN	: L'acide ribonucléique.
Caco3	: carbonate de calcium.
MH	: Muller Hinton
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: phosphate dipotassique.
Mg so <sub>4</sub>	: sulfate de magnésium
Nacl	: Chlorure de Sodium.
OMS	: Organisation mondiale de la Santé.
LPS	: Lipopolysaccharidique.

# *Introduction*

## Introduction

---

### Introduction :

Selon le rapport de l'organisation mondiale de la santé (OMS ), publié en 2018, révèlent l'existence de niveaux élevés de résistance aux antibiotiques dans le monde, en revanche, les bactéries résistantes les plus souvent signalées sont *Echerichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pneumoniae* suivies de *Salmonella spp.* Cette résistance est due principalement à l'utilisation abusive des antibiotiques, ce qui a limité l'utilisation de certains antibiotiques d'une part, et d'autre part a favorisé l'apparition de certaines souches bactériennes multi résistantes ou résistant à tous les antibiotiques existant dans le marché (Elbendary et al., 2018., Aouiche et al., 2014., Tilmann,W., and Hyun.K.,2016).

Devant cette situation grave, la découverte de nouveaux antibiotiques est devenue une urgence mondiale, les microorganismes du sol, dont les actinomycètes, bactéries à Gram positives avec G+C élevé, peut apporter la solution ( Pathalme et al .,2016 ; bensultana et al ., 2010), en effet, ces bactéries sont la source de plusieurs molécules utiles comme les antibiotiques, les antifongiques, les anticancéreux, les antiparasitaires ainsi que les herbicides et les pesticides(Pathalme et al.,2017). Parmi les actinomycètes, le genre *Streptomyces*, qui lui seul fournit 70 % des antibiotiques utilisés pour le traitement de différentes maladies infectieuses (Nguyen et kim. ,2015).

Parmi les stratégies suivies pour l'obtention de nouvelles souches d'actinomycètes qui produisent de nouveaux antibiotiques, est l'exploitation des nouveaux habitats (Meklat et al., 2011), dont le sol aride du Sahara algérien, comme la région de Laghouat, en effet, une nouvelle souche doit contenir des nouveaux gènes qui produisent de nouvelles molécules bioactives dont les antibiotiques.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail, qui vise à isoler des souches d'actinomycètes, à partir du sol de Laghouat, et évaluation de leurs activités antimicrobiennes.

La démarche suivie de notre travail est :

- ❖ L'isolement des actinomycètes à partir des échantillons du sol prélevés de différents sites de la wilaya de Laghouat.
- ❖ Etude de l'activité antibactérienne des souches isolées vis-à-vis des souches testées.
- ❖ L'extraction, à partir de milieu liquide, des molécules bioactives de l'isolat sélectionné et à détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI).

# *Revue bibliographique*

### 1. Généralité des actinomycètes :

Les actinomycètes sont des bactéries Gram positif à haute teneur en G+C de 63% à 78%, elles se distinguent par la formation d'hyphes filamenteux qui se différencient pour produire des spores (**Madigan et Martinko., 2007 ;Nguyen et kim ., 2015**) .

Les actinomycètes ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactéries et champignons (**Ryandini et al.,2018**). et leur structure sont des procaryotes typiques (**Anandan et al.,2016., Ryandini et al.,2018,**). La paroi cellulaire ne renferme ni chitine ni cellulose mais de peptidoglycane (**Taibi et al., 2012**) .

Les actinomycètes classiques ont un mycélium radial bien développé et plus fin, qui peut être divisé en mycélium de substrat et mycélium aérien lorsqu'il se développe sur une surface solide (Figure 1) (**Qinyuan et al.,2016**).

Leur morphologie, cependant, varie entre les différents genres, de forme cocci (*Micrococcus*), bâtonnet (*Mycobacterium*), des hyphes ramifiées porteur de spores telle que (*Micromonospora*), polymorphes (*Nocardia*) et actinobactéries qui sont produites à partir des hyphes aériennes ramifiées de 0.5-2 µm de diamètre comme *Streptomyces* (**Hamedi et Poorinmohammad.,2017**).

Elles sont principalement, aérobies mais certains genre peuvent être des anaérobies facultatifs, voir même des anaérobies stricts (*Actinomyces*), hétérotrophes, saprophytes (**Tortota et al.,2003., Bouali et al.,2017**),ne sont pas mobile, chez quelques genres dotés de mobilité, celle-ci est limitée aux spores flagellées. la plupart des spores d'actinomycètes ne sont cependant pas particulièrement résistantes à la chaleur, mais elles supportent bien la dessiccation (**Prescotte et al., 2010**).

Les actinomycètes sont généralement mésophiles (température optimale de croissance et entre de 25°C à 30°C, d'autres sont thermophiles qui peuvent croître à des températures de 55°C à 65°C (**Anandan et al.,2016**).

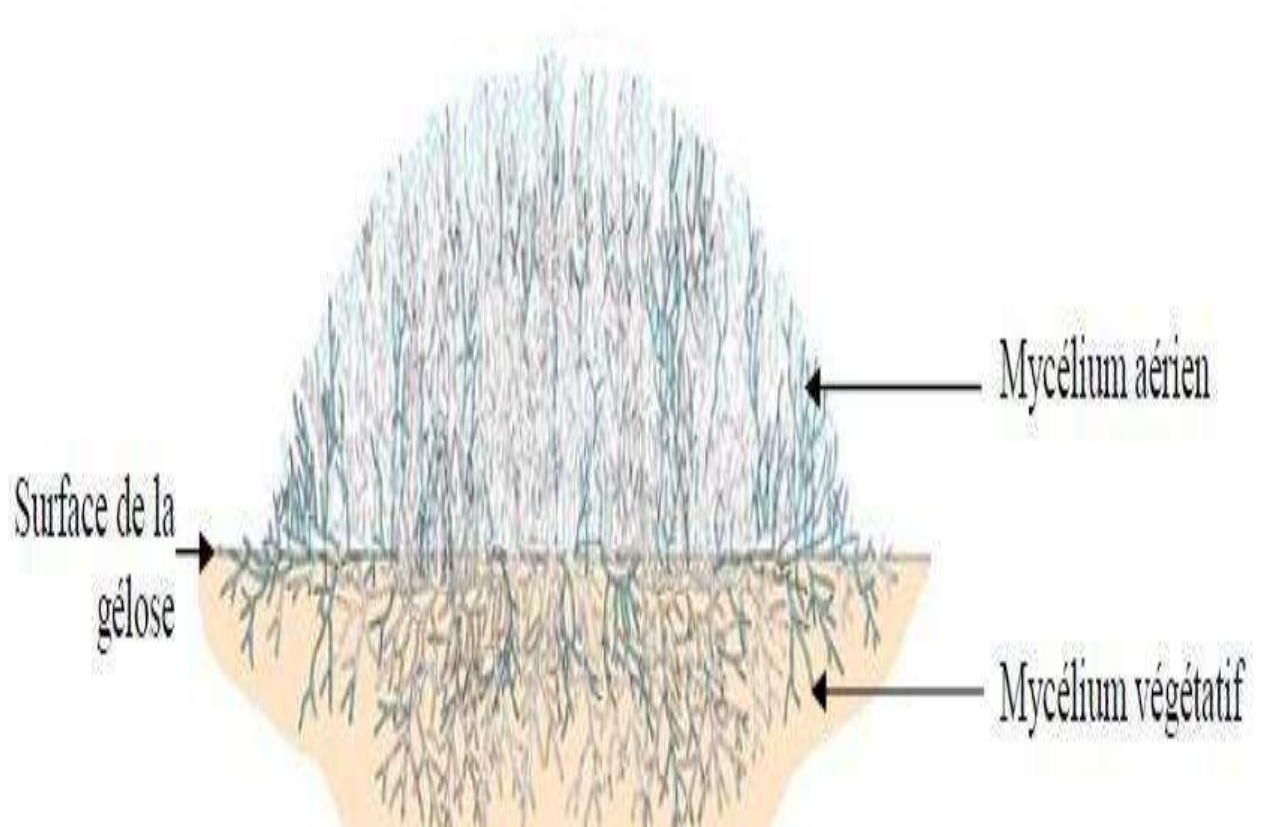
Concernant le pH, la plupart des actinomycètes sont neutrophiles mais il existe également d'autres qui sont acidophiles (**Wang et al., 2006**).

Parmi les actinomycètes, il y a également des espèces halophiles et halotolérantes (**Arasu et al.,2016**), qui possède la capacité de croissance dans des milieux contenant différentes concentrations de sel (**Qinyuan et al.,2016**). La présence d'actinomycètes dans des

## Revue bibliographique

---

environnements fortement salins et la tolérance de ces organismes à des concentrations élevées de sels ont été décrites par nombreuses chercheuses en Algérie (**Boudjelal et al.,2010., Meklat et al.,2013** ).



**Figure 1 : colonie d'actinomycètes en croissance sur gélose (prescott et al., 2010).**

2. Classification :

Le bergey classe les actinomycètes selon les données de l'ARNr 16s dans le domaine Bactéria et phylum des actinobacteria qui comprend 6 classes, 6 ordres, 14 sous-ordres et 56 familles (figure2) (Mohammadipanah et Dehghani., 2017).

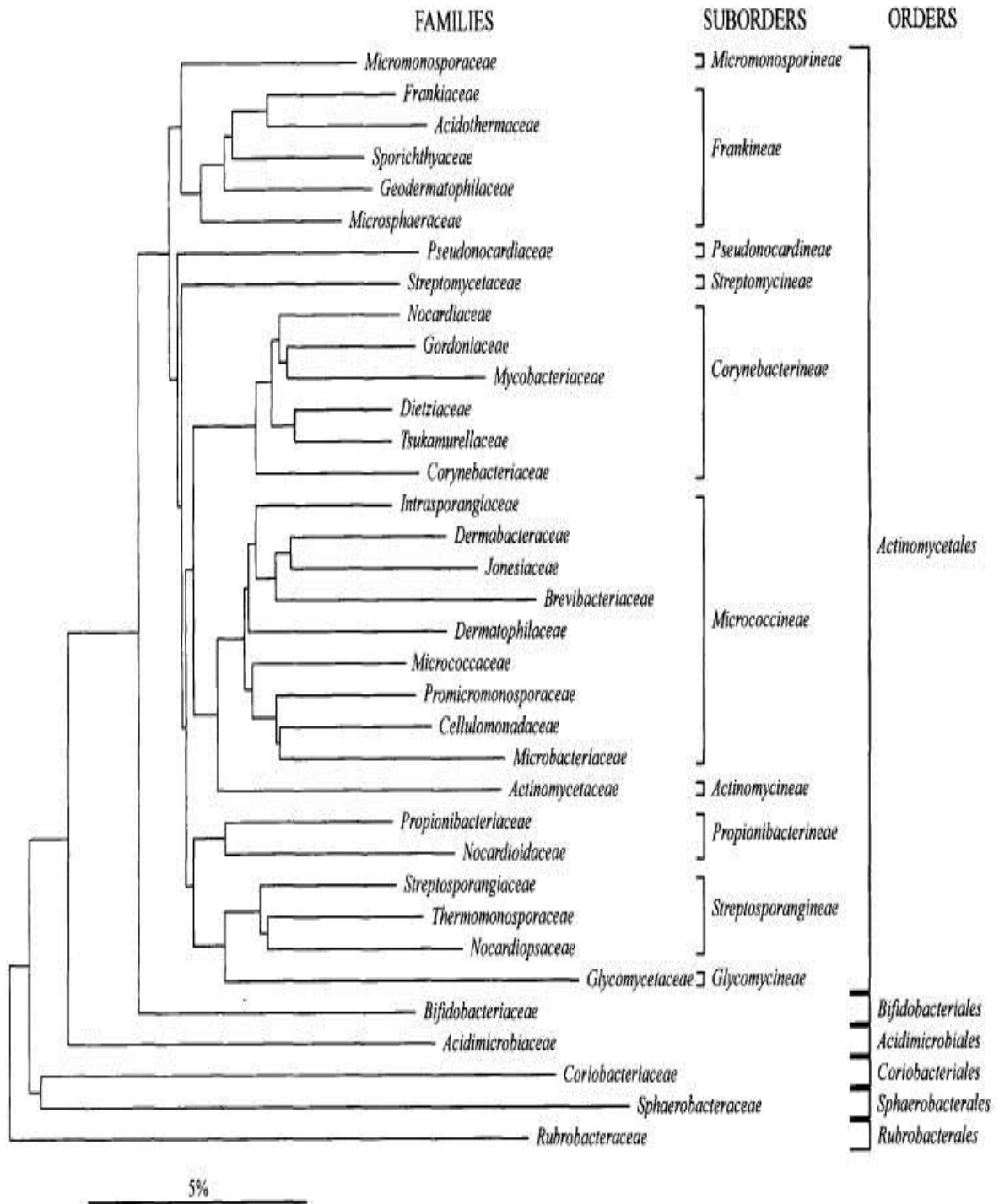


Figure 2 : la classification du phylum des actinobactéria (prescott et al., 2010).

### 3. Écologie et la distribution des actinomycètes:

Les actinomycètes font partie du groupe de microorganismes les plus largement distribués dans la nature. On les trouve en abondance dans tous les sols (**Erraki et al., 2007**) les sols sableux, les sols alcalins, les sols de forêt et les sols sahariens (**Rachniyom et al., 2018**). Ils vivent aussi dans les eaux douces, les mers et les océans, à la surface des plantes et des animaux, et dans leurs cellules ou leurs cavités (**Rahman et al., 2011**). Certaines actinobactéries peuvent vivre dans des environnements extrêmes, tels que les déserts chauds, les sites polaires, les sols acides ou alcalins et les nappes phréatiques profondes maritimes et de nombreux autres habitats inhabituels (**Hamedi et Wink, 2017**), ces environnements ont fourni une source utile de nouveaux composés biologiquement actifs (**Shrivastava et al., 2017**).

Au niveau de la rhizosphère, les actinomycètes du type *Frankia* forment des associations symbiotiques avec des plantes actinorhiziennes, cette association permet de fixer l'azote atmosphérique (**Rehan et al., 2016**).

### 4. Métabolisme secondaire des actinomycètes :

Le groupe des actinomycètes est la meilleure source de composés naturels bioactifs qui ont la capacité de synthétiser différents métabolites secondaires utilisés en médecine tels que les antibiotiques, antitumoraux, herbicides, pesticides et les enzymes (**Noori et al., 2017 ; Nguen et al., 2015**).

Qui est responsable de la production d'environ 75% du total des composés bioactifs, y compris des antibiotiques. Dont plus de 70% sont produits par le membre du genre *Streptomyces* (**Zothanpuia et al., 2017 ; Khater et al., 2016**).

Actuellement, environ 160 antibiotiques ont été utilisés en thérapeutique humaine et en agriculture, et 100 à 120 de ces composés, dont la streptomycine, l'érythromycine, la gentamicine et d'autres antibiotiques sont produits par les actinomycètes (**Jiang et al., 2016**).

La majorité de ces métabolites secondaires sont produits par les voies métaboliques des polyketide synthase (PKS) et des non ribosomales peptides synthétase (NRPS) (**Undabarrena et al., 2016**).

Les polyketides sont un groupe important de métabolite secondaire possède une variété remarquable dans leur structure et aussi dans leur fonction. Ces métabolites présentent des activités biologiques variées :

- Antibiotique par exemple la tétracycline, érythromycine.
- Antifongique : l'amphotéricine B et nystatine.
- Antiparasitaire : avermectine.

## Revue bibliographique

- Anticancéreux : doxorubicine.
- Immunosupresseurs : rapamycine (figure3) (Risidian., 2018 ;Sehen.,2003).

De nombreux métabolites secondaires sont également produits par des NRPS tels que les antibiotiques : vancomycine et daptomycine.

On peut également citer des molécules ayant d'activités, comme la cyclosporine (immunosupresseur) ou encore la bléomycine (antitumeur).

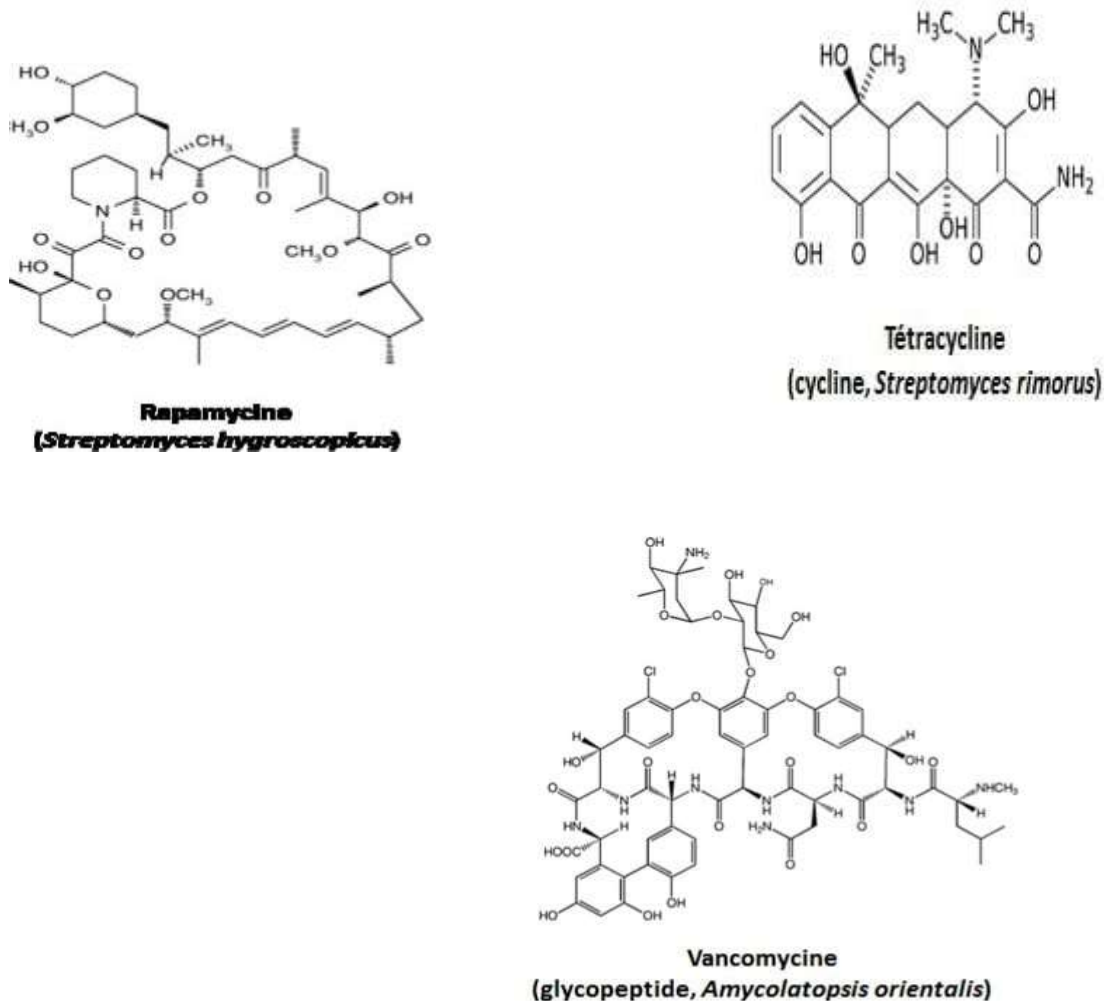


Figure 3 : la structure chimique de certaines molécules bioactif produit par les Actinomycètes (Risidian., 2018).

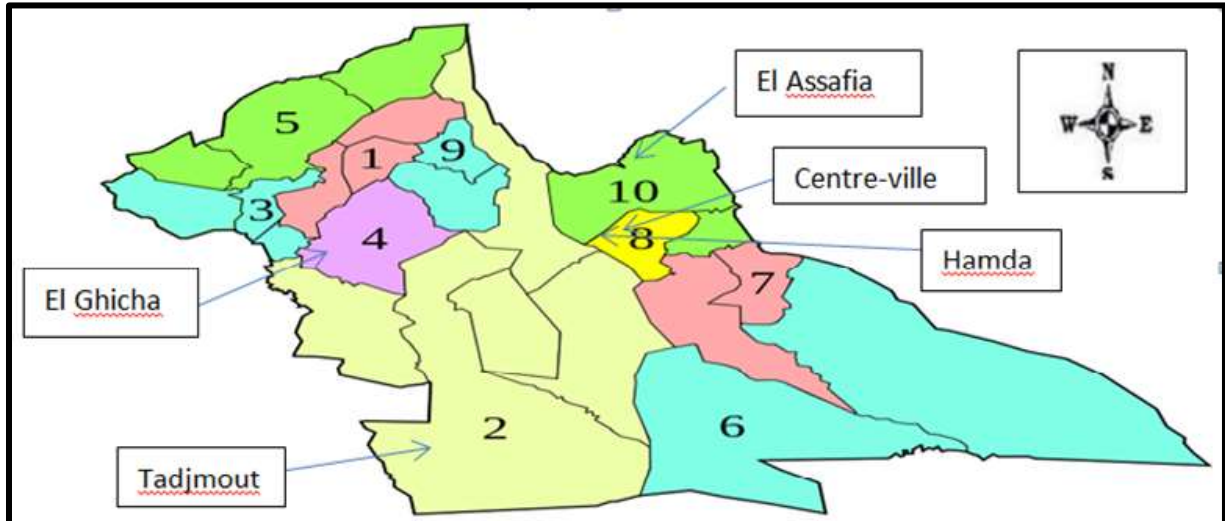
# Matériels et méthodes

## Matériels et Méthodes

### 1. Echantillonnage :

Cinq échantillons du sol agricole ont été prélevés à partir de différents sites de wilaya de Laghouat (**figure 4**), durant le mois de janvier 2019.

À l'aide d'une grande spatule stérile, les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés, et une quantité de 50 grammes du sol sont prélevés par une petite spatule, qui est placée sur une feuille d'aluminium (**Kitouni et al.,2005**).



**Figure 4:** carte géographique indiquant les sites de prélèvement des échantillons dans la wilaya de Laghouat.

### 2. Isolement des actinomycètes à partir du sol :

#### 2.1 Séchage

Les échantillons des sols ont été séchés à la température ambiante pendant 5 jours pour réduire la croissance des bactéries indésirables (**Thawai.,2018**).

#### 2.2 Les milieu des cultures utilisé :

L'isolement des souches d'actinomycètes a été réalisé sur le milieu caséine amidon agar : 10g/l amidon, 0.3g/l caséine, 2g/l KNO<sub>3</sub>, 2g/l NaCl, 2g/l K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.05g/l MgSO<sub>4</sub>, 0.02g/l CaCO<sub>3</sub>, 0.01g/l FeSO<sub>4</sub>, 18g/l Agar.

#### 2.3 Préparation de la suspension de dilution et ensemencement :

L'isolement a été réalisé par la méthode de suspension de dilution, en effet, la suspension mère est préparée par l'addition de 10g de sol dans 90 ml d'eau physiologique stérile, ce qui constitue la dilution 10<sup>-1</sup>, une série de dilution de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-5</sup>, et ensuite préparé après homogénéisation de la solution mère à l'aide d'un vortex(**figure 5**).

Un volume de 1 ml des deux dernières dilutions (10<sup>-4</sup>,10<sup>-5</sup>) est ensemencé par inondation à la surface de milieu de culture CAA, avec deux répétitions pour chaque dilution.

## Matériels et Méthodes

Les boîtes ensemencées sont incubées à 30°C pendant 2 à 4 semaines et examinées régulièrement (Ganesan *et al.*, 2017 ;Zhang *et al.*, 2016).

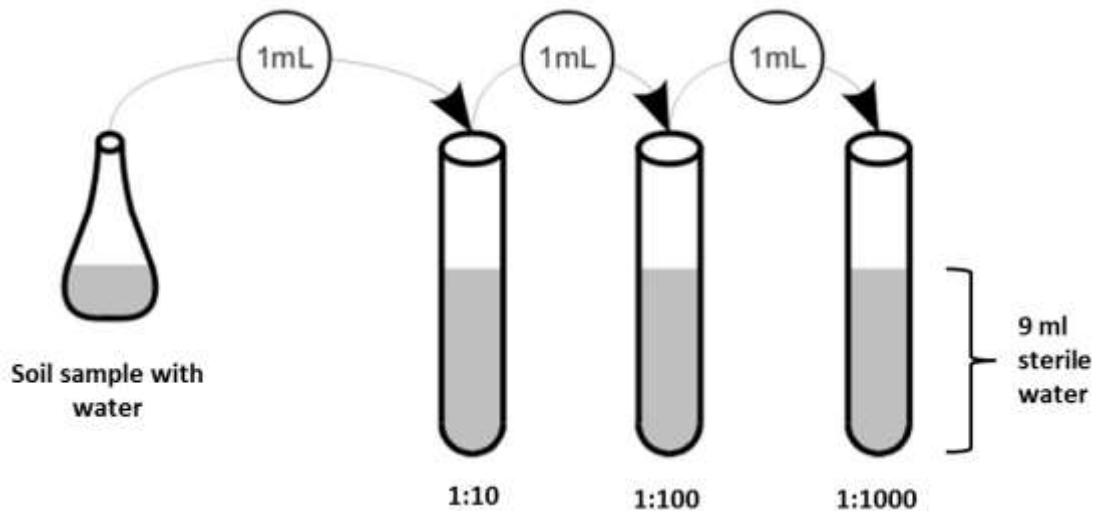


Figure 5: technique de préparation des dilutions décimales.

### 3. Observations microscopiques :

Toutes les colonies qui se rapprochant par leur aspect macroscopique aux actinomycètes, colonies durs et incrustés dans la gélose, sont observées au microscope optique (Grossissement  $\times 100$ ), en utilisant la coloration simple par le bleu de méthylène (Boughachiche *et al.*, 2005 ;Bouznada *et al.*,2016).

### 4. purifications des isolats :

Les colonies présentant les critères des actinomycètes ( leur aspect macroscopique) sont repiquées et purifié sur le même milieu caséine amidon agar par la méthode de strier. cette opération est répétée jusqu'à l'obtention de souche pure (Nguyen *et al.*,2015).

### 5. Conservation des d'actinomycètes :

Après l'isolement et purification, les isolats ont été conservé à la fois sur des pentes de gélose inclinée à 4°C et sous forme de suspensions de glycérol à 20% puis conservé à la température de -20°C (Meklat *et al.*, 2014 ; Hamedi *et al.*, 2011).

### 6. Mise en évidence l'activité antibactérienne :

Les isolats d'actinomycètes sont d'abord ensemencé à la surface du milieu de production par striées très serrées afin d'obtenir un tapis microbien (Aouiche *et al.*,2012). Ensuite, les boîtes sont incubées à 30°C pendant 14 jours.

## Matériels et Méthodes

---

### 6.1 Préparation d'inoculum :

Six souche bactériennes sont utilisé pour ce test, dont trois bactéries à Gram positif : *Bacillus cereus*(ATCC 25921), et *Bacillus subtilis*(ATCC 6623), *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538), et trois bactéries à Gram négatif *Escherichia coli*(ATCC 8739), et *Klebsiella pneumoniae* ,et *pseudomona aeruginosa*(ATCC27853).

Ces bactéries tests sont d'abordensemencées dans le bouillon Muller Hinton (MH), puis incubées à la température de 37°C pendant 18 heures.

À partir de cette culture jeune, une suspension bactérienne a été préparée, par mesurer de la densité optique à la longueur d'onde de 620nm de manière à obtenir une absorbance entre 0.08 à 0.1 (0.5 *McFarland*), en effet cette suspension correspond à une charge microbienne de  $10^7$  à  $10^8$  cellules /ml. Cette suspension est ensuiteensemencée sur le milieu MH à l'aide d'un écouvillon stérile (**Kitoni et al., 2005**).

### 6.2 Technique de cylindre agar :

La technique de cylindre d'agar consiste à prélever des cylindres de 6 mm de diamètre, de culture d'actinomycètes de 14 jours, qui seront déposés sur le milieu Muller Hinton gélosé, préalablementensemencé en surface avec une bactérie testée. Les boites sont ensuite placées à 4°C pendant 1 heure pour permettre une diffusion des substances antimicrobienne. Les zones d'inhibition sont mesurées après 24 heures à 37°C (**selama et al., 2014**).

## 7. Extractions des molécules bioactives :

La meilleure souche qui montre l'activité antibactérienne la plus intéressante estensemencée dans un Erlenmeyer de 250ml contenant 100 ml du milieu de production liquide 5294 : 10g/l amidon, 2g/l extrait levure, 10g/l glucose, 10g/l glycérol, 2.5g/l Corn Steep Liquior, 2g/l peptone, 1g /l Nacl, 3g/l Caco3.

L'Erlenmeyer est incubé sous agitation à (250 rpm) à la température de 30°C, après 7 et 14 jours d'incubation, la culture est mélangée avec le même volume de solvant organique, l'acétate d'éthyle, le tout est maintenu sous agitation pendant 30 min à la température de 30°C. Le mélange est ensuite centrifugé pendant 10 min à la vitesse de 3000g. Le surnageant, est transférée dans un ballon.

L'extrait organique obtenu est évaporé sous vide à 40°C dans un évaporateur rotatif puis repris dans 1ml de méthanol (**Joachim., 2017**).

L'extrait brut méthanolique ainsi préparé, est testé pour leur activité antibactérienne par la méthode des disques de papier (6 mm de diamètre) imprégnés par 20µl d'extrait (**Ryandini., 2018**).

## Matériels et Méthodes

Après séchage, les disques sont déposés à la surface du milieu Muller Hinton qui est ensemencé par les souches tests.

Les boîtes sont placées à 4°C pour permettre une diffusion des substances puis sont incubées à 37°C, les zones d'inhibition sont mesurées après 24h d'incubation (Erraki et al., 2007).

### 8. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait brut de la meilleur isolat qui montre l'activité antibactérienne la plus importante, a été réalisée dans des plaques à 96 puits.

20 µl de l'extrait brut méthanolique concentré à 110mg/ml, a été ajouté dans le premier puits, ensuite, 150µl de la suspension de la souche testée (DO : 0.08 à 0.1) sont ajoutés dans chaque puits de la première colonne, puis 130µl supplémentaires ont été ajoutés dans le premier puits.

Après mélange du premier puits, 150µl du mélange sont transférés dans le puits suivant, ce qui représente la dilution ½, l'opération est répétée jusqu'au le dernier puits et 150µl rejeté pour avoir le même volume des autres puits. Le méthanol a été utilisé comme contrôle négatif (figure 6).

Après ces dilutions à ½, la plaque est incubée à 37°C pendant 24 à 48 heures (Joachim., 2017).

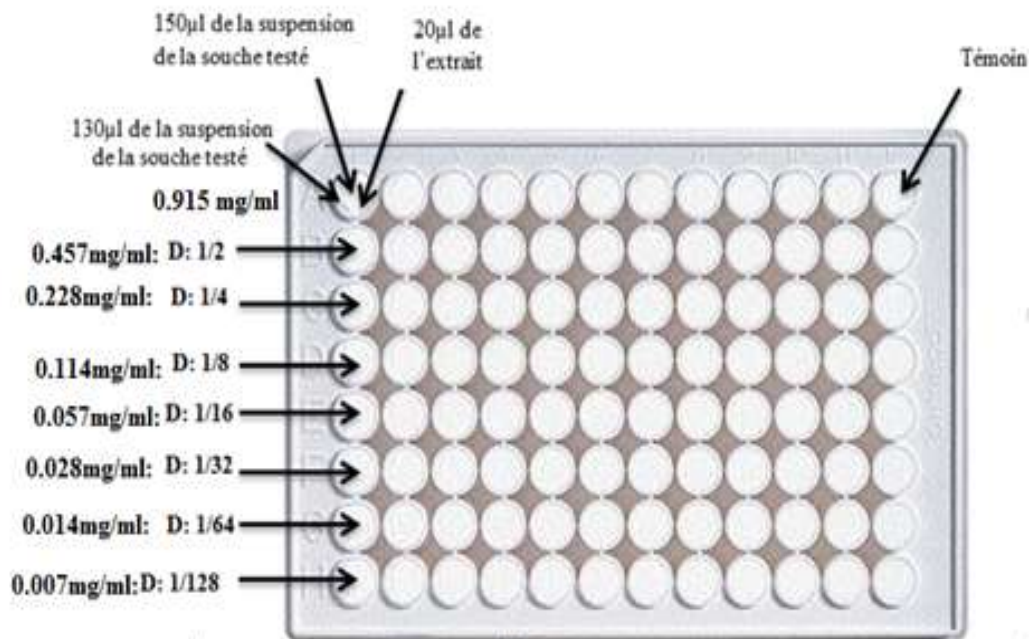


Figure 6 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice par la méthode de microdilution.

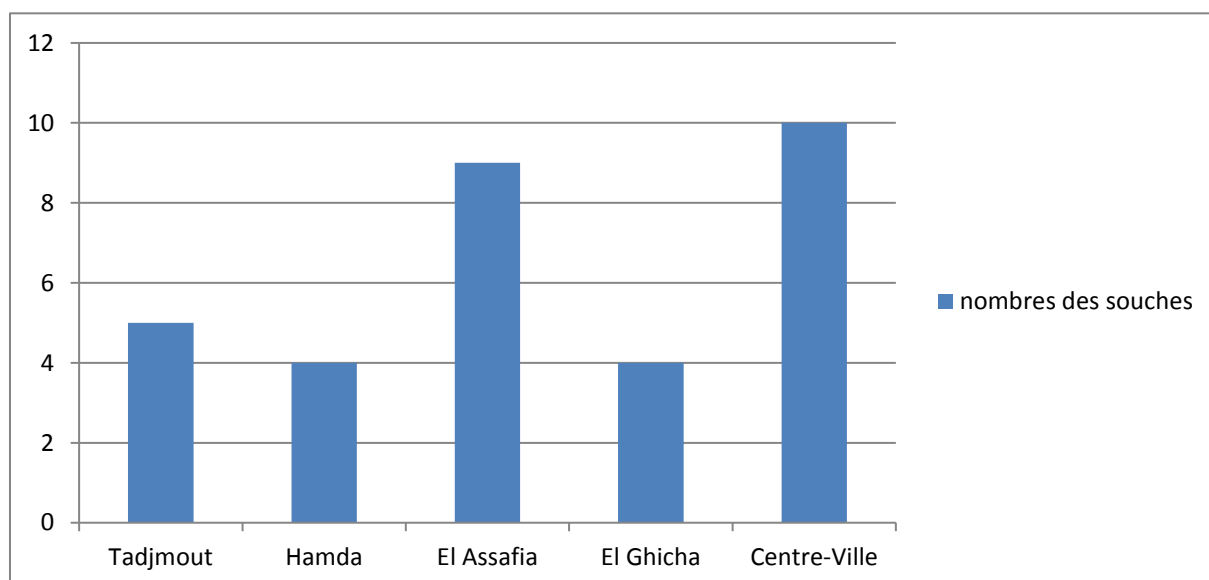
# *Résultats et discussions*

### 1. Résultats de l'isolement des actinomycètes :

Les colonies d'actinomycètes apparaissent, après 21 jours d'incubation, sur le milieu CAA, elles sont reconnues par leur aspect macroscopique, colonies dures incrustées dans la gélose, et microscopique, aspect filamenteux et ramifié. Les résultats obtenus sont présents dans le tableau 1.

**Tableau 1 : Nombre des souches d'actinomycètes isolé à partir de chaque échantillon du sol.**

	Tadjmout	Hamda	El Assafia	El Ghicha	Centre-ville
Nombres des souches	5	4	9	4	10



**Figure 7 : Nombres des souches isolés à partir de chaque échantillon du sol prélevé de cinq régions de la wilaya de Laghouat.**

Au total, 32 isolats d'actinomycètes ont été isolés à partir de cinq régions différentes de Laghouat.

Ce nombre faible d'isolat obtenu peut être expliqué par la période d'échantillonnage effectuée pendant l'hiver (le mois de Janvier). Selon, **Loqman et al., 2009**, la densité d'actinomycètes dans le sol ce varie en fonction de la saison de prélèvement, en effet, elle est égale à 20% en printemps, alors que en hiver, la densité d'actinomycètes chute à 13 %, ce qui corresponde au nombre le plus faible d'actinomycètes par rapport aux autres saison, alors que

## Résultats et discussions

en automne, la densité d'actinomycètes dépassent 30% de la flore microbienne totale, ce qui représente le nombre le plus élevé.

Selon les résultats représentés dans le tableau 1, le sol du centre-ville et El Assafia semble être riche en actinomycètes, en effet, 10 isolats ont été obtenus à partir de la première région, alors que la deuxième région à donner 9 isolats d'actinomycètes. Alors que les trois régions restent, Hamda, Tadjmout et El-Ghicha, donnant un nombre plus faible d'actinomycètes, par rapport aux deux premières régions, qui ne dépasse pas 4 à 5 isolats respectivement (**figure7**).

Plusieurs facteurs environnementaux influent sur la distribution des microorganismes dans le sol, en particulier, l'humidité, le pH, la température, la teneur en matière organique et la nature de végétation (**Mareckova et al., 2015**). Cela peut expliquer la différence en nombre d'actinomycètes obtenus à partir de chaque échantillon du sol.

### 2. l'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des souches testées :

Les résultats de l'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes contre les microorganismes testés sont représentés dans le tableau 2.

**Tableau 2 : résultats de l'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des souches testées (mm).**

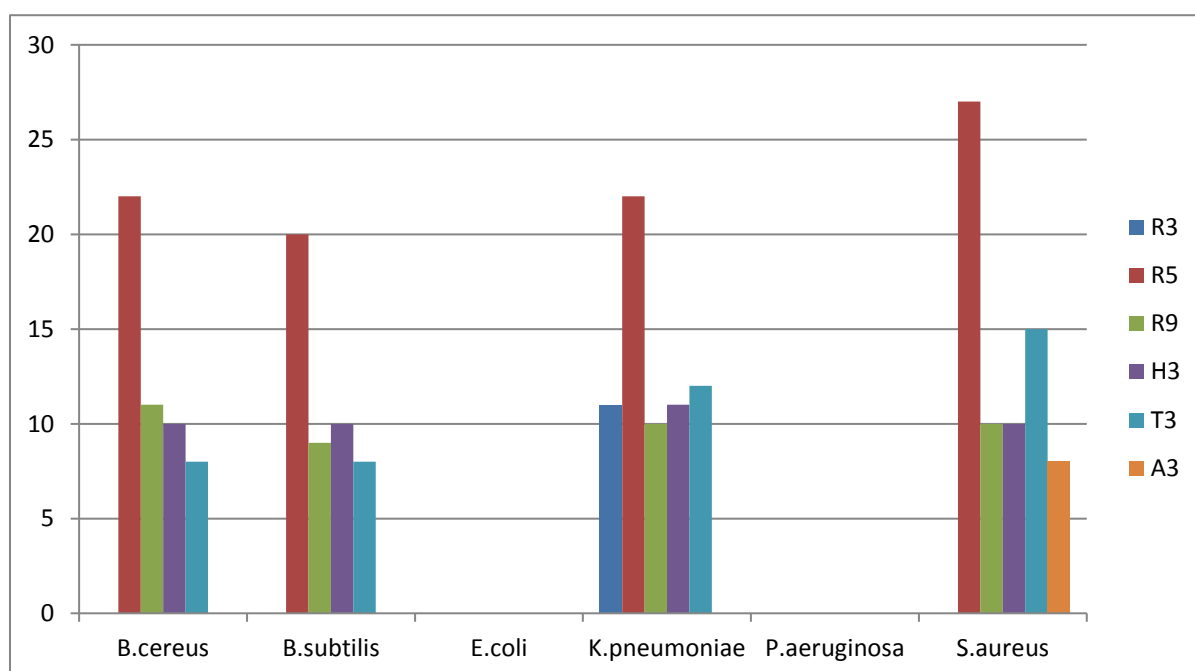
Les isolats	<i>B. Cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>p. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
R2	-	-	-	-	-	-
R3	-	-	-	11	-	-
R4	-	-	-	-	-	-
R5	22	20	-	22	-	27
R7	-	-	-	-	-	-
R9	11	9	-	10	-	10
T1	-	-	-	-	-	-
T4	-	-	-	-	-	-
G1	-	-	-	-	-	-
A2	-	-	-	-	-	-
H3	10	10	-	11	-	10
A8	-	-	-	-	-	-
T3	8	8	-	12	-	15
H4	-	-	-	-	-	-
T2	-	-	-	-	-	-
A3	-	-	-	-	-	8
Total	4	4	0	5	0	5

## Résultats et discussions

Les résultats obtenus montrent que parmi les 16 souches testées, 6 isolats présentent une activité antibactérienne, alors que les 10 isolats restants ne présentent aucune activité (**Figure 10**).

La formation des zones d'inhibition autour des cylindres est due à la production des molécules bioactives par les isolats d'actinomycètes.

L'absence d'activité antibactérienne chez certains isolats d'actinobactéries vis-à-vis des germes testés pourrait être rendue soit à la résistance des souches testées vis-à-vis des molécules antimicrobiennes secrétées par ces isolats d'actinomycètes, ou bien ces derniers ne sécrètent pas de métabolites à activité antimicrobiennes.



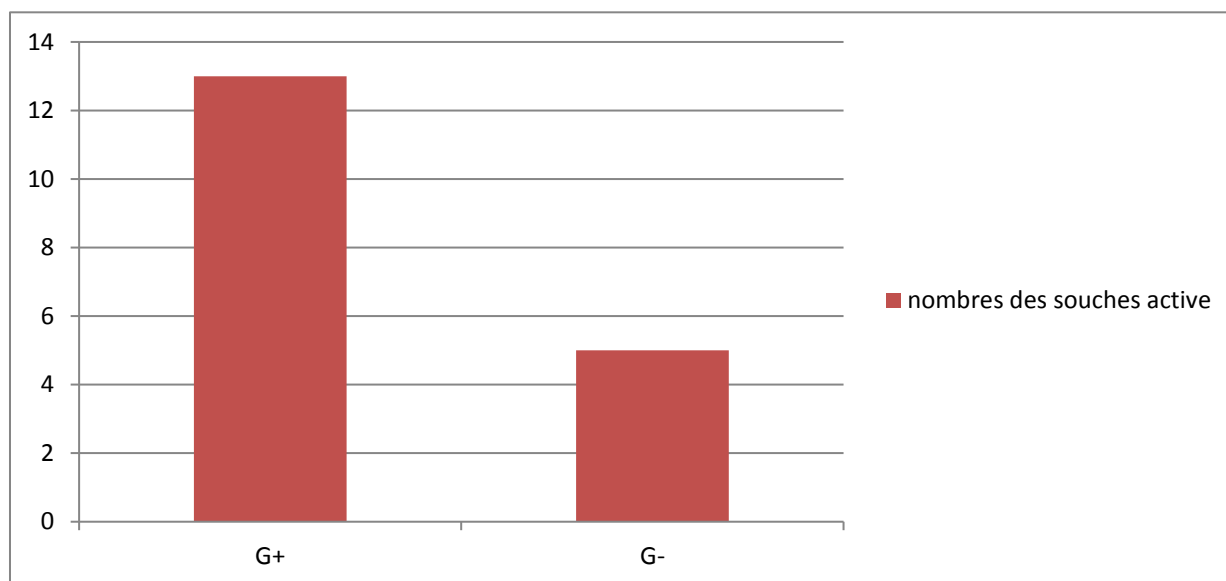
**Figure 8 : activité antibactérienne des isolats actifs contre les souches testées.**

Selon la figure 8, l'isolat R3 a été actif uniquement contre la bactérie à Gram négative *K. pneumoniae*. Alors que l'isolat A3 a été actif uniquement contre la bactérie à Gram positif (*S. aureus*), alors que les quatre isolats (R5, R9, H3, T3) sont actifs contre la bactérie à Gram négatif *K. pneumoniae* et la bactérie à Gram positif *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*.

Les plus grandes zones d'inhibition ont été obtenues avec la souche R5 contre *S.aureus* (27 mm), *K. pneumoniae* (22 mm) et *B. subtilis* (20 mm).

## Résultats et discussions

Aucun isolat d'actinomycètes n'a montré une activité antibactérienne contre les deux souches testées *E. coli* et *P. aeruginosa* .



**Figure 9 : nombres des souches d'actinomycètes actives contre les bactéries testées Gram+ et Gram-.**

Les bactéries à Gram positif ont été plus sensibles aux molécules bioactives secrètes par les 6 isolats actifs (13 activités observées) par rapport aux bactéries à Gram négatives (5 activités observées) (**figure 9**), cela peut être expliqué par l'existence d'une structure membranaire externe composé de lipopolysaccharide chez les bactéries à Gram négatives, qui rend la paroi imperméable aux passages des molécules lipophiles, tandis que la paroi des bactéries à Gram positif est composée uniquement de peptidoglycane épais qui ne constitue pas une barrière de perméabilité efficace (**Satech et al ., 2011**).

Les résultats obtenus confirment que les actinomycètes du sol constituaient une source puissante de nouveaux antibiotiques et qu'ils présentaient un potentiel antagoniste vis-à-vis des organismes de test capable de contrôler divers organismes pathogènes (**Rakshhanya et al., 2011**).

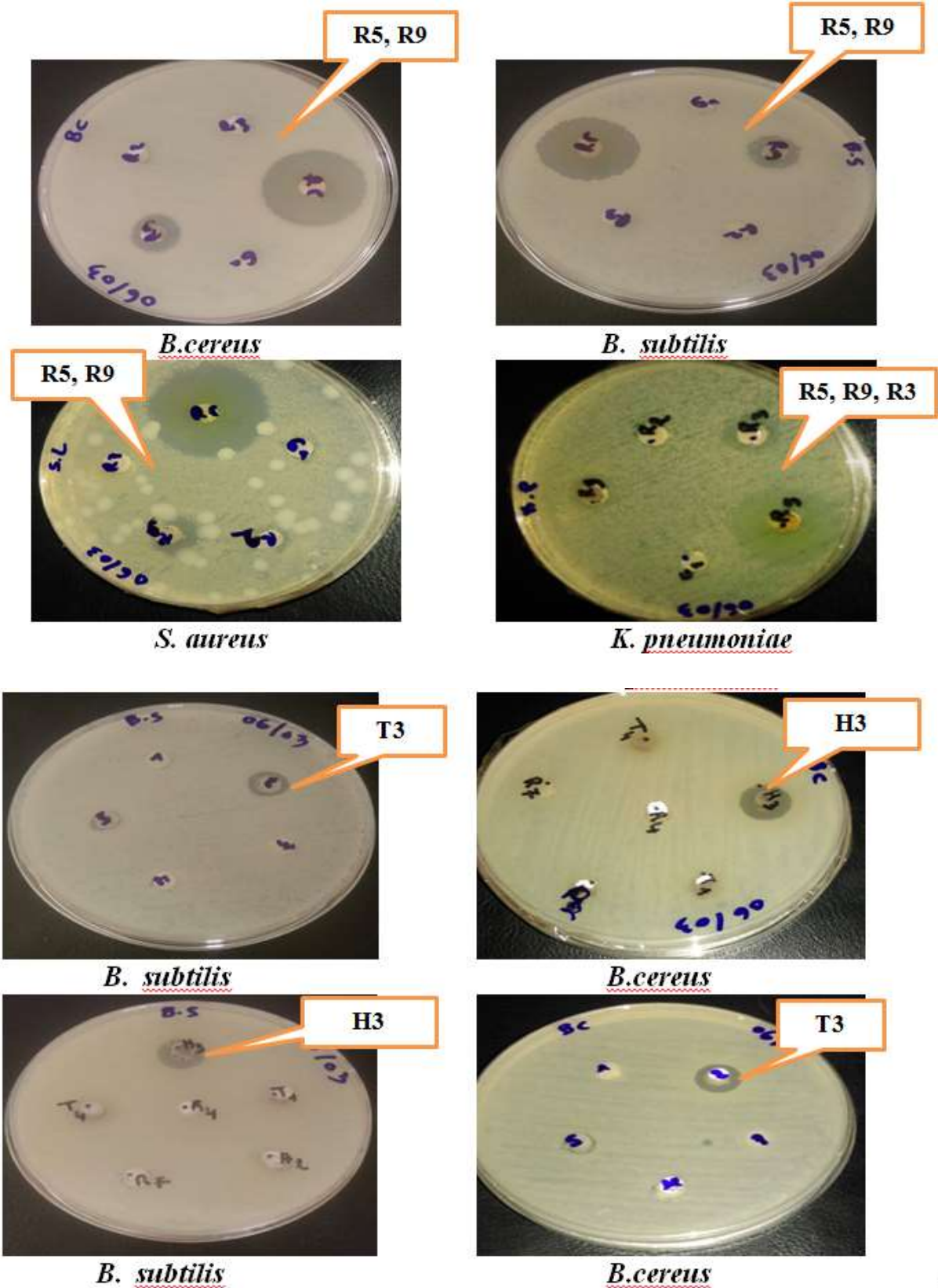


Figure 10 : Test d'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes.

### 3. étude morphologique des souches actives :

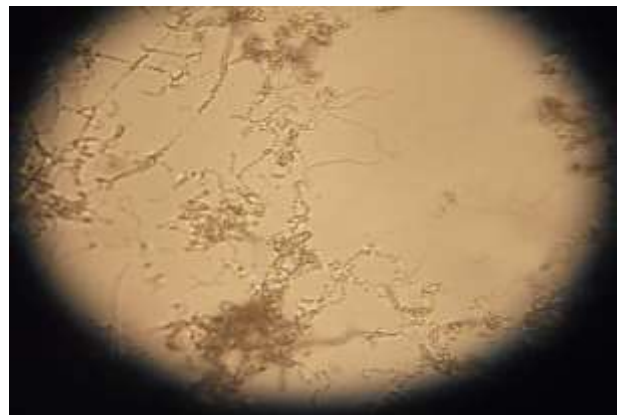
Les isolats obtenus formant des colonies sèche, rugueuse, avec un mycélium aérien surmonté d'un mycélium de substrat, ils sont différentes tailles, différents aspects (poudreuses, régulière ou non,) de forme variable (bombé, aplatie...etc) et de différentes couleurs (Jaune, Blanc, Orange, Marron, Gris).

La plupart des isolats formant un mycélium de substrat stable ou fragmenté. Les chaînes de spores formées sont soit droites, ramifier ou spiralé.

a



b

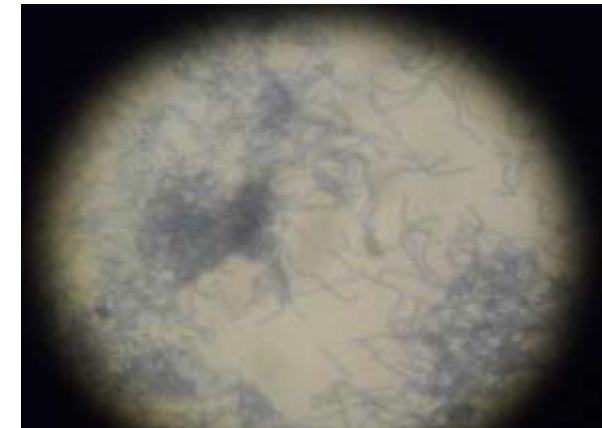


**Figure 11 : observation macroscopique (a) et microscopique (b) du mycélium aérien de l'isolat R5 (10 ×100).**

a

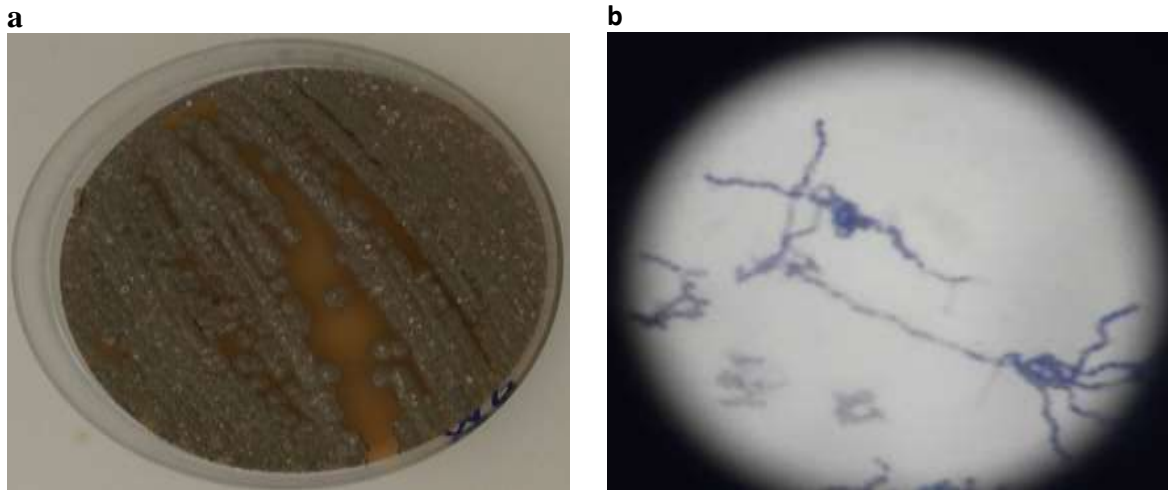


b



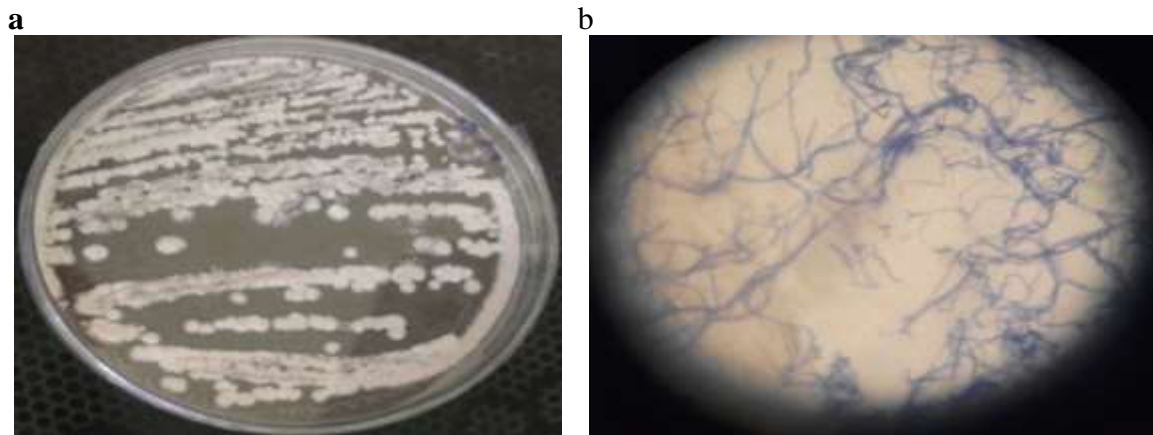
**Figure 12: observation macroscopique (a) et microscopique (b) de mycélium aérien de l'isolat R9 (10×100).**

L'isolat R5 et R9 formant une longue chaîne des spores ramifiées (**figure 11 et 12**).



**Figure 13: observation macroscopique (a) et microscopique (b) de mycélium aérien de l'isolat T3 (10×100).**

L'isolat T3 forme une court chaine de spores ramifiées (figure 13).



**Figure14 : observation macroscopique (a) et microscopique (b) du mycélium aérien des Isolats H3 (10×100).**

L'isolat H3 forme un mycélium aérien porte à l'extrémité des courtes chaines des spores ramifiées (**figure 14**).

Selon la description des genres d'actinomycètes dans le 5eme volume de Bergey's Manual of Systematic Bacteriology(**Genilloud,O.,2012**).le genre d'actinomycète qui se rapproche par leur morphologie microscopique aux isolats caractérisés, mycélium aérien qui porte des chaines de spores longues ou court, ramifié ou droit, est le genre *Streptomyces*.

### 4. Résultats de l'extraction des molécules bioactives à partir de la souche R5 :

L'isolat R5, qui présente une bonne activité antimicrobienne contre les agents pathogènes, a été sélectionné pour l'extraction de ces métabolites secondaires.

Après 7 et 14 jours d'incubation de la souche R5, l'extraction a été réalisée, à partir de milieu liquide, par l'utilisation du solvant acétate d'éthyle, l'extrait brut préparé a été testé, par la méthode de disque, contre différents microorganismes testés et les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 3**.

**Tableau 3 : Activité antibactérienne de l'extrait brute de l'isolat R5 par la méthode de disque de papier contre différentes bactéries teste (mm).**

Souches testés	L'isolat R5	
	Incubation pendant 7 jours	Incubation pendant 14 jours
<i>B. cereus</i>	18	22.6
<i>B. subtilis</i>	15.5	20
<i>S. aureus</i>	11.6	12.7
<i>P. aeruginosa</i>	21	-
<i>E. coli</i>	6.5	11
<i>K. pneumoniae</i>	-	-

Après 7 jours d'incubation, l'extrait brut de la souche R5 montre une activité antibactérienne contre toutes les souches testées à l'exception de *K. pneumoniae* (**figure 16**).

La meilleure activité inhibitrice a été remarquée contre la bactérie *P. aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 21 mm.

Après 14 jours d'incubation de l'extrait, on remarque une augmentation des zones d'inhibition par rapport à 7 jours. L'activité la plus importante a été remarquée contre *B. cereus* (22.6 mm) et *B. subtilis* (20 mm), alors qu'une activité moyenne a été observé contre *E. coli* (11 mm) et *S. aureus* (12.7 mm) (**figure 17**).

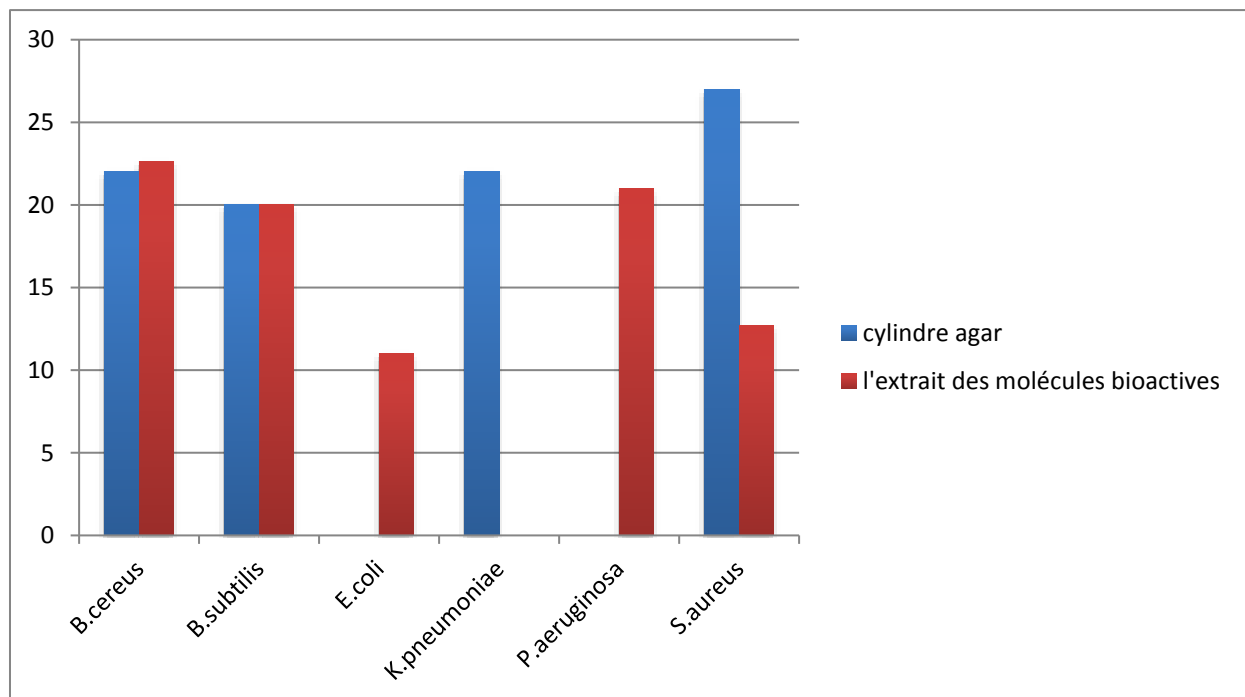
La différence dans l'activité remarqué entre 7 et 14 jours d'incubation, est lié à la période d'incubation de la souche, en effet, la production des molécules bioactives après 14 jours d'incubation est supérieure par rapport à 7 jours, en revanche, les métabolites secondaires

## Résultats et discussions

antimicrobiens sont synthétisés durant la phase stationnaire de croissance, qui est généralement atteinte après 14 jours d'incubation (Ryandini et al., 2018).

L'absence de l'activité antibactérienne pour *P.aeruginosa*, après 14 jours d'incubation, peut-être rendue à la résistance de cette souche vis-à-vis des molécules antimicrobiennes sécrétées par l'isolat R5.

L'isolat R5 ne montrait pas une activité dans le criblage secondaire contre *K.pneumoniae*, quoi que cette souche a été active dans le criblage primaire par la technique de cylindre d'agar, alors que *P.aeruginosa* et *E.coli* ne présentés pas une activité dans le criblage primaires (cylindre agar) mais elles sont présenté une activité par le criblage secondaires (extrait des molécules de la souche R5)(figure 15), cette différence peut être expliqué par l'effet de l'état de milieu de culture, solide ou liquide, sur la production des métabolites secondaires, en effet plusieurs chercheurs ont signalé la perte de l'activité rlos du passage du milieu solide vers le milieu liquide ou contraire. (Pandey et al., 2011).



**Figure 15 : la différence de l'activité antibactérienne de la souche R5 par la technique de cylindre d'agar et par l'extrait des molécules bioactives.**

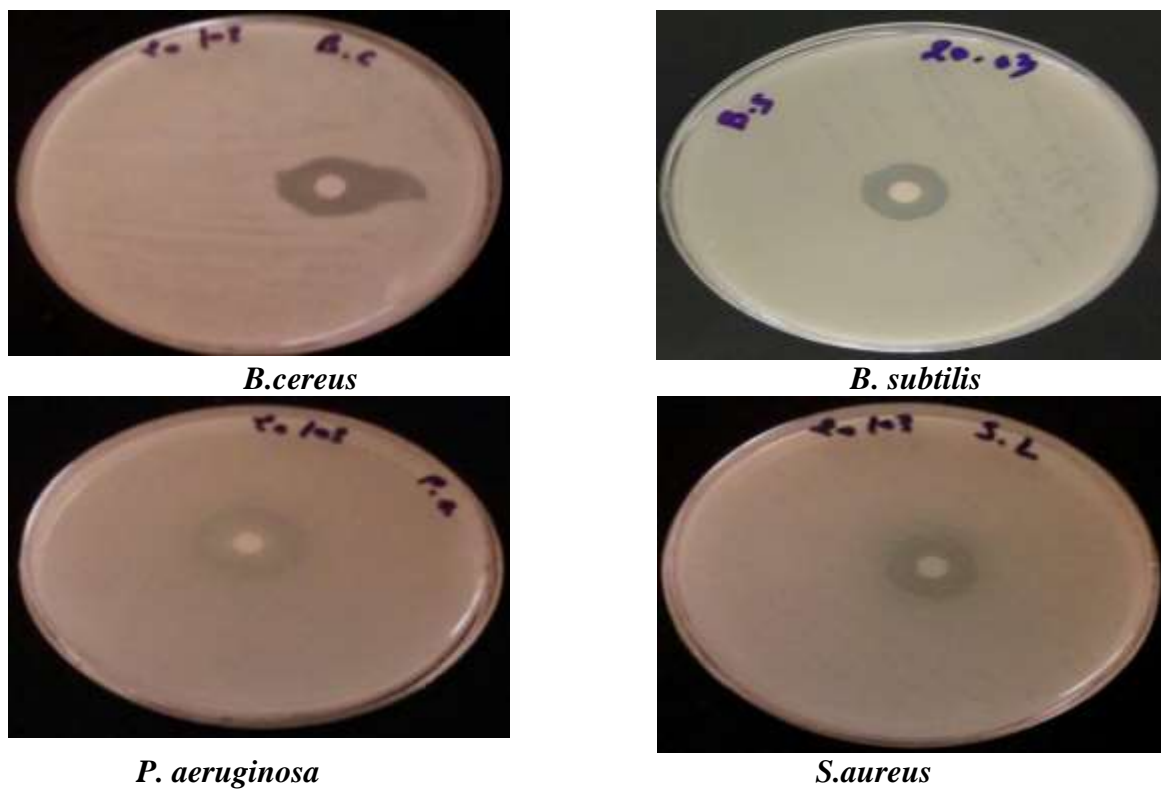


Figure 16 : activité antibactérienne des molécules extrait de l'isolat R5 après 7 Jours.

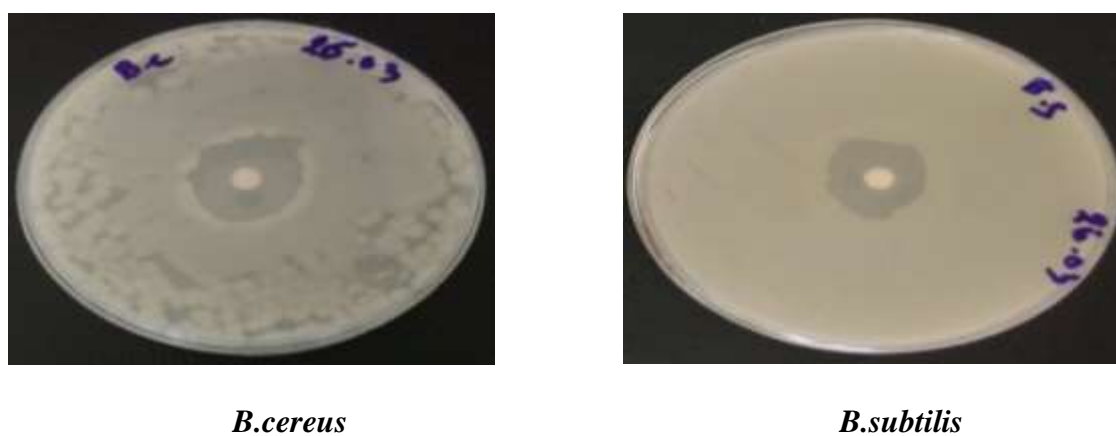


Figure 17 : activité antibactérienne des molécules extrait de l'isolat R5 après 14 jours

### 5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices de la souche R5

La CMI correspond à la première concentration inhibitrice, de l'extrait brut, à l'œil nu, après 48h d'incubation, donc le premier puits qui ne présente pas une croissance visible à l'œil nu de la souche *S. aureus* correspond au puits E, qui lui-même correspond à la valeur de CMI égale à 114 $\mu$ g/ml.

*Conclusion*

## conclusion

---

### **Conclusion :**

L'émergence des souches bactériennes multirésistantes vis-à-vis de nombreux antibiotiques à usage clinique, pose un problème de santé publique mondiale, et la recherche de nouvelles molécules à activité antimicrobiennes est devenue une urgence mondiale.

L'exploitation des métabolites secondaires produits par les microorganismes peut apporter la solution. Parmi ces microorganismes, les actinomycètes, bactéries à Gram positif avec un G+C élevés, sont intéressants en raison de leur capacité à produire divers métabolites secondaires douer de différentes activités biologiques, en effet, des antibiotiques, des antifongiques, des anticancéreuses, herbicides, antiparasitaires, pesticides.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail, qui vise à obtenir des souches d'actinomycètes de différents sites de Laghouat, qui produites des molécules à activité antibactériennes.

Trente-deux (32) isolats d'actinomycètes ont été obtenus à partir de cinq échantillons de sols prélevés de différents sites de la wilaya de Laghouat (Hamda, El Assafia, Tadjmout, Centre-ville, El Ghicha), en utilisant le milieu Caséine Amidon Agar (CAA). Les résultats obtenus montrent que le sol de centre-ville et El Assafia semblent être plus riche en actinobactéries (10 isolats obtenus), tandis que le nombre des souches isolées à partir des autres sols était plus ou moins faible (4 à 5 souches obtenues).

L'activité antibactérienne est mise en évidence par la technique de cylindre d'agar contre 6 souches de références. Parmi les 16 isolats testés, 6 souches ont montré une activité contre au moins une des bactéries teste utilisées.

Un isolat (R5), qui présente une bonne activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes testées, a été sélectionné pour l'extraction de ces molécules bioactives en utilisant le solvant d'acétate d'éthyle, l'extrait brut a été testé contre les souches pathogènes après 7 et 14 jours d'incubation par la méthode de disque au papier. Les résultats indiquent une activité contre toutes les souches testées à l'exception de *K. pneumoniae*.

L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice par la méthode de dilution sur des microplaques de titration, indique que la plus petite concentration de l'extrait brut de l'isolat R5 qui ne donne pas une croissance visible à l'œil nu contre la bactéries *Staphylococcus aureus* est la concentration de 114 µg/ml.

## conclusion

---

Les résultats obtenus indiquent que le sol de Laghouat est une bonne source pour l'isolement des actinomycètes ayant un potentiel antagoniste vis-à-vis des souches pathogènes, et qui peut être une source de nouveaux antibiotiques.

## *Références bibliographiques*

### Référence :

1. **Anandan,R.,Dharumadurai,D., Manogaran ,G.(2016).** An Introduction to Actinobacteria In Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications, ed. p 3- 37.
2. **Aouiche,A., Sabaou,N., Meklat,A, Zitouni,A., Mathieu,F., and Lebrihi,A.(2012).**Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp.PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. *Journal de Mycologie Médicale*.22. p 42-51.
3. **Aouiche,A.,Bijani,C.,Zitouni,A.,Mathieu,F.,Sabaou ,N.(2014).** Antimicrobial activity of saquayamycins produced by *Streptomyces* spp. PAL114 isolated from a Saharan soil. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology* .24 (2). 17-23.
4. **Arasu, M.V., Galal,A.E and Naif,A.A.(2016).**Hypersaline Actinomycetes and Their Biological Applications. In Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications, ed. p 229-245.
5. **Bensultana,A.,Ouhdouch,Y.,Hassani,L.,Mezrioui,N.,Rafouk,L.(2010).**isolation and characterization of wastewater actinomycetes.world j microbial biotechnol.26.481-487.
6. **Bouali,A., Hamza,K., Bouras,N., Aouiche,A., Meklat,A., Moukrane,S., Hamza,K., et Sabaou,N.(2017).** Effet de milieu de culture sur la croissance et la production de chloramphenicol chez deux souches de *Saccharothrix* sp.Pal 42 isolées d'un sol de la palmeraie de Ghardaia.*Algerian Journal of arid environment*.7. p 71-83.
7. **Boubetra,D., Zitouni,A., Bouras,N., Schumann,P., Sproer,C., Klenk,H.P., and Sabaou,N.(2015).** *Saccharothrix tamanrassetensis* sp. Nov., an actinomycete isolated from saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.65. p 1316-1320.
8. **Boudjelal,F., Zitouni,A., Mathieu,F., Lebrihi,A., Sabaou,A.(2011).** Taxonomy and antimicrobial activities of two novel halophilic *Saccharomonospora* strains isolated in Algerian Sahara soils. *Ann microbiol*.61. p 299-305.
9. **Boughachiche, F., Reghioua, S., Oulmi, L., Zerizer, H., Kitouni, M., Boudemagh, A., Boulahrouf,A.(2005).** Isolement d'actinomycétales productrices de substances antimicrobiennes a partir de la sebka de Ain Milila. *Science & Technologie*. 23. P 5-10.
10. **Bouznada,K., Bouras,N., Mokrane,S., Chaouch,C.F., Zitouni,A., Potter,G., Sproer,C., Klenk,H.P., and Sabaou,N.(2016).***Saccharothrix isguenensis* sp. Nov. An., an actinobacterium isolated from desert soil.*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.66. p 4785-4790.
11. **Chaouch,F.C., Bouras,N., Mokrane,S., Zitouni,A., Schumann,P., sproer,C., Sabaou, N., and Klenk,H.P.(2016).** *Streptosporangium saharensense* sp.nov., an actinobacterium isolated from saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66.p 1371-1376.
12. **Elbendary,A.,Hessain,A.,ElHariri,M.,Seida,A.,Moussa,I.,Mubark ,A.,Kabli,S.,Hemeg ,H.,El Jakee,J. (2018).** Isolation of antimicrobial producing actinobacteria from soil samples.saudi journal of biological sciences.25.44-46.
13. **Errakhi, R., Bouteau, F., and Lebrihi, A.(2007).** Evidences of biological control capacities of *Strptomyces spp.*against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet ( *Beta vulgaris* L.).*World J Microbiol Biotechnol*.23.p 1503-1509.

14. **Ganesan,P., Reegan,A.D., David,R.H.A., Gandhi,M.R., Paulraj,M.G., Al Dhab,N.A., and Ignacimuthu,S.(2017).**Antimicrobial activity of some actinomycetes from western Ghats Tamil Nadu, India.Alexandria Journal of Medicine. 53.p 101-110
15. **Genilloud,O.(2012).**Bergy's manuel of systematic. 2ed. spring, New York.5.1039.
16. **Hamedi,J., and poorinmohammad,N.(2017).** The cellular structure of Actinobacteria. In *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*. Cham: Springer International Publishing. P 5-28.
17. **Hamedi,J., and Wink,J.(2017).** Introduction. In *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*. Cham: Springer International Publishing. P 1-3.
18. **Hamedi,J., Mohammdipanah,F., Potter,G., Sproer,C., Schumann,P., Goker,M., and Klenk,H.P.(2011).** Nocardiosis arvandica sp. Nov., isolated from sandy soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.65.p 1189-1194.
19. **jiang, Y., Li, Q., Chen, X., and Jiang, C. (2016).** "Isolation and cultivation methods of Actinobacteria" .in *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*, ed. D. Dhanasekaran (Rijeka: InTech), 39–57.
20. **Jiang,, Y. , Qinyuan L. , Xiu Chen ., Chenglin ,J.(2016).** Isolation and Cultivation Methods of Actinobacteria. In *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*, ed. p 39-57.
21. **Joachim,W.(2017).** Taxonomic evaluation and microbial drug screening. Helmholtz Centre for Infection Research.
22. **Khater,S., Anand,S., and Mohanty,D.(2016).** In silico methods for linking genes and secondary metabolites : The way forward. *Synthetic and Systems Biotechnology*.1. p 80-88.
23. **Kitoni, M., Boudemagh,A., Oulmi, L., Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Hamdiken, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., and Boiron, p.(2005).** Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north-east of Algeria. *Journal de Mycologie Médicale* .15.p 45-51.
24. **Loqman,S. (2009).** La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne: Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. Thèse doc : Université De Reims Champagne-Ardenne Ecole Doctorale Sciences Exactes et Biologie. P 253.
25. **Madigan,M., and Martinko.(2007).** Biologie des microorganismes.Onzième édition.Pearson Education France.395-400.
26. **Mareckova,M.S., Cermak,L., Omelka,M., Kyselkova,M., and Kopecky,J.(2015).**Bacterial diversity and abundance of a creek valley sites reflected soil pH and season. *Open life Sci*.10. p 61-70.
27. **Meklat ,A., Bouras, N ., Zitouni,A ., Sabaou ,N ., Mathieu,F., Schumann,P., Sproer ,C., and Klenk,H. (2014).** Saccharopolyspora ghardaiensis sp. nov., an extremely halophilic actinomycete isolated from Algerian Saharan soil.*The Journal of Antibiotics*. 67. P 299-303.
28. **Meklat,A., Sabaou,N., Zitouni,A., Mathieu,F.,and Lebrihi,A.(2011).**Isolation, Taxonomy, and antagonistic properties of halophilic actinomycetes in saharan soils of Algeria. *Applied And Environmental Microbiology*.77.p 6710-6714.

29. **Meklate,A., Bouras,N., Zitouni,A., Mathieu,F.,Lebrihi,A.,Schumann,P., Sproer,C.,Klen,H.P., and Sabaou,N.(2013).**Actinopolyspora righensis sp. Nov. A novel halophilic actinomycete isilated from Sahran soil in Algeria.Open Archive Toulouse Archive Ouverte.104. p 301-307.
30. **Mohammadipannah,F., Dehghani,M. (2017).** “Classification and taxonomy of *Actinobacteria*,” in *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*. Cham: Springer International Publishing. P 51–77.
31. **Nguyen,T. M and Kim, J.(2015).** Antifungal and antibacterial activities of streptomyces polymachus Sp.nov. isolated from soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology .65.p 2385-2390.
32. **Nguyen,T.M.,and Kim,J.(2015).** Description of streptomyces fabae sp. Nov., a producer of antibiotics against microbial pathogens, isolated from soybean (*Glycine max*) rhizosphere soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.65. P 4151-4156.
33. **Nguyen,T.M.,and Kim,J.(2015).** Streptomyces gilvifuscus sp. Nov., an actinomycete that produces antibacterial compounds isolated from soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.65.p 3493-3500.
34. **Noori,A.Y., Othman,K.I., Othman,M.M.,and Mustafa,E.T.(2017).**The efficiency of Soran M Medium in Selective Isolation of Antibiotic Producing Actinomycetes. Tikrit Journal of Pharmaceutical Sciences.12. p 77-85.
35. **Pandey,A., Ali,I., Butola,K.S., Chatterji,T., and Singh,V.(2011).** Isolation and characterization of Actinomycetes from soil and evaluation of antibacterial activites of Actinomycetes against. International Journal of Applied Biology and Pharmageutical Technology.2. p 384-391.
36. **Pathalam,G.,Appadurai,D.,Rajendran,H.,Munusamy,R.,Michael,G.,Naif,A.,Savarimuthu,I.(2016).** Antimicrobial activity of some actinomycetes from western ghats of tamil nadu , india.alexandria journal of medicin.53.101-110.
37. **Pathalam,G.,Rajendran,H.,Appadurai,D.,Munusamy,R.,Michael,G.,Savarimuthu,I., Naif,A.(2017).**isolation and molecular characterization of actinomycetes with antimicrobial and mosquito larvicidal properties.journal of basic and applied sciences.6.209-217.
38. **Prescott.,Harley.,Klein.,Wiley.,Sherwood.,Woolverton.(2010).**microbiologie.De Boeck:Bruxelles. 7éme édition. p589-59.
39. **Qinyuan,L.X., Chen,Y., J and Chenglin, J. (2016).** Morphological identification of Actinobacteria. In *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*, ed. p 59-86.
40. **Qinyuan,L.X., Chen,Y.J., and Chenglin, J.(2016).** Cultural, Physiological, and Biochemical Identification of Actinobacteria. In *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*, ed. p 87-111.
41. **Rachniyom, H., Matsumoto, A., Inahashi, Y., Take, A., Takahashi, Y., and Thamchaipenet, A.(2018).**Actinomadura barringtonia sp. Nov., an endophytic actinomycete isolated from the roots of *Barringtonia acutangula* (L.) Gaertn. International Journal Of Systematic And evolutuinary Microbiology.68.p 1584-1590.

42. **Rahman,A., Islam,M.Z., and Ul islam, A.(2011).** Antibacterial Activities of Actinomycete Isolates Collected from Soils of Rajshahi, Bangladesh. *Biotechnology Research International*. P 6.
43. **Rakshanya,U., Shenpagam,H., and Devi,K.(2011).** Antaginistic activity of actinomycetes isolates against human pathogen. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*.1. p 74-79.
44. **Rehan,M., Swanson,E., and Tisa L.S.(2016).** “Frankia as a Biodegrading Agent”. In *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*, ed. p 271-290.
45. **Risdian,C.(2018).** Biosynthesis of polyketides in *Streptomyces*. *Helmholtz Centre for Infection Research*. P 1-14.
46. **Ryandini, D., Radjasa, O., and Oedjijono.(2018).** Isolate Actinomycetes SA32 Origin of Segara Anakan Mangrove Rhizosphere and its Capability in Inhibiting Multi-Drugs Resistant Bacteria Growth. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*.10. p 1-5.
47. **Ryandini,D.,Pramono,H., Sukanto.(2018).** Antibacterial Activity of Streptomyces SAE4034 Isolated from Segara Anakan Mangrove Rhizosphere against Antibiotic Resistant Bacteria. *Journal of Biology & Biology Education*.10. p 117-124.
48. **Sateesh,V.N., and Rathod,J.L.(2011).** Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. *Journal of Ecobiotechnology*.3. p 48-53.
49. **Selama,O., Amos, G.C.A., Djenane, Z., Borsetto, C., Laid, R.F., Porter, D., Nateche,F., Wellington,E.M.H.,and Hacène,H.(2014).**Screening for genes coding for putative compounds, Antimicrobial and EnzymaticActivites from Haloakalitolerant and bacteria strains of Algerian sahara. P 1-11.
50. **Shen,B. (2003).** Polyketide biosynthesis beyond the type I, II and III polyketide synthase paradigms. *Curr Opin Chem Biol* .7. p 285–295.
51. **Shrivastava,P., Kumar,R., and Yandigeri,M.S.(2017).**In vitro biocontrol activity of halotolerant *Streptomyces aureofaciens* K20 : A potent antagoniste against *Macrophomina phaseolina* ( Tassi) Goid. *Saudi Journal of Biological Science*. 24. P 192-199.
52. **Taibi,Z., Saoudi, B., Boudella,M., Trigui, H., Belghith, H., Gargouri,A.(2012).**Purification and biochemical characterization of a highly thermostable xylanase from *Actinomadura* sp. Strain Cpt20 isolated from poultry compost. *Appl Biochem Biotechnol*.9.p 166.
53. **Thawai , c.(2018).**Amycolatopsis rhizosphaerae sp . nov. Isolated from rice rhizoshere soil. *International Journal of systematic and Evolutionary Microbiology*. 68. p 1546-1551
54. **Tilmann,W.,Hyun,U.(2016).** The secondary metabolite bioinformatics portal: Computational tools to facilitate synthetic biology of secondary metabolite production. *Synthetic and Systems Biotechnology*. 1. p 69-79.
55. **Tortora,G.J., Funke,B.R. and Case,C.L.(2003).** La chimiothérapie antimicrobienne .In : *Introduction à la microbiologie*. Québec : Renouveau pédagogique. 602-218.
56. **Undabarrena,A., Beltrametti,F., Claverias,F.P., Gozalez.M., Moore,E.R.B., Seeger,M., and Camara,B.(2016).**ExploringtheDiversityandAntimicrobialPotentialofMarineActinobacteri afromtheComauFjordinNorthernPatagonia,Chile. *Fronters in Microbiology*.7.1135.

## Référence

---

57. **Wang,L., Huang,Y., Goodfellow,M., and Rodriguez,C.(2006).** *Sreptacidiphililus oryae* sp. nov.an actinomycetes isolated from rice-field soil in Thailand *In. J.Sys.Ev.Microbiol.*56. p 1257-1261.
58. **Zhang,Y.G., Liu,Q., Wang,H.F., Park,D.j., Guo,J.W., Kim,C.J., Zhang,Y.M., and Li,W.J.(2016).** *Nocardioopsis ansamitocini* sp. Nov., a new producer of ansamitocin P-3 of the genus *Nocardioopsis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.*66.p 230-235.

## الملخص

بالنظر إلى المقاومة المتزايدة للمضادات الحيوية من طرف البكتيريا المسببة للأمراض، تكثفت البحوث للكشف عن جزيئات جديدة مضادة للميكروبات. لهذا الغرض، تم جمع 32 عزلة من الأكتينوبكتيريا من خمس عينات من التربة و من مناطق مختلفة من ولاية الأغواط. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة اسطوانة أجار ضد ثلاثة من البكتيريا إيجابية الجرام وثلاثة سلبية الجرام. من بين 32 سلالة من الأكتينوبكتيريا التي تحصلنا عليها، تم دراسة النشاط المضاد للميكروبات ل16 عزلة من هذه البكتيريا. تشير النتائج إلى أن 6 سلالات أظهرت نشاطاً ضد واحدة على الأقل من البكتيريا المختبرة المستخدمة. تم اختيار العزلة R5 لخاصيتها المميزة المضادة للميكروبات من أجل استخراج هذه الجزيئات المضادة للميكروبات من وسط سائل باستخدام محلول أسيتات الإيثيل. أظهر المستخلص الخام نشاطاً مضاداً للميكروبات ضد السلالات الممرضة الستة التي تم اختبارها باستثناء *K.pneumoniae*. يشير تقييم الحد الأدنى للتركيز المثبط بطريقة التخفيف على صفائح المعايرة إلى أن 114 ميكروغرام / مل من المستخلص الخام كانت قادرة على تثبيط نمو بكتيريا *Staphylococcus aureus*.

الكلمات المفتاحية: عزل، الأغواط، الأكتينومييسيت، مضادات الميكروبات، الاستخلاص، تركيز الحد الأدنى المثبط.

## Résumé :

Compte tenu de la résistante croissante des agents pathogènes aux antibiotiques, les recherches se sont intensifiées afin de découvrir de nouvelles molécules antimicrobiennes. Pour cela, trente-deux (32) isolats d'actinobactéries ont été collectés à partir de cinq échantillons de sol, provenant de différentes régions de la wilaya de Laghouat. L'activité antibactérienne a été testée à l'aide de la méthode de cylindre d'agar contre trois bactéries à Gram positif et trois bactéries à Gram négatif. L'activité antimicrobienne a été évaluée pour 16 isolats d'actinomycètes, parmi les 32 souches obtenues. Les résultats indiquent que, 6 souches ont montré une activité contre au moins une des bactéries testée utilisée. L'isolat R5 a été sélectionné pour son pouvoir antimicrobien intéressant, pour l'extraction de ces molécules antimicrobiennes à partir de milieu liquide en utilisant le solvant acétate d'éthyle. L'extrait brut a montré une activité antimicrobienne contre les six souches pathogènes testées à l'exception de *K. pneumoniae*. L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice par la méthode de dilution sur des microplaques de titration, indique que 114 µg/ml d'extrait brut de l'isolat R5 a été capable d'inhiber la croissance de la bactérie *Staphylococcus aureus*.

Mots clés : Isolement, Laghouat, Actinomycetes, Antimicrobienne, Extraction, Concentration Minimale Inhibitrice.

## Abstract :

Given the increasing resistance of antibiotic pathogens, research has intensified to uncover new antimicrobial molecules. For this, thirty-two (32) isolates of actinobacteria were collected from five soil samples from different regions of the wilaya of Laghouat. Antibacterial activity was tested using the agar cylinder method against three gram-positive and three gram-negative bacteria. The antimicrobial activity was evaluated for 16 isolates of actinomycetes, among the 32 strains obtained. The results indicate that 6 strains showed activity against at least one of the tested bacteria used. The R5 isolate was selected for its antimicrobial usefulness, for the extraction of these antimicrobial molecules from liquid medium using the solvent ethyl acetate. The crude extract showed antimicrobial activity against the six pathogenic strains tested except *K. pneumoniae*. The evaluation of the minimum inhibitory concentration by the dilution method on titration microplates indicates that 114 µg / ml of crude extract was able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria.

Key words: Isolation, Laghouat, Actinomycetes, Antimicrobial, Extraction, Minimal Inhibitory Concentration