



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGENIEUR

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE MASTER

Présentées par :

Moudja Aicha

Laklouk Fatima Zohra

DOMAINE : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V)

FILIERE : Biologie

OPTION : Microbiologie environnementale et infectieuse

Thème

**Isolement, à partir des milieux extrêmes,
d'actinomycètes producteurs d'antibiotiques**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Benenaceur Farouk	MCB	Président
Saidi Radhwane	MAB	Examineur
Messaoudi Omar	MAB	Rapporteur

Promotion : Juin 2015



Nous remercions tout d'abord mon Dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage pour terminer ce modeste travail.

*Nous adressons le grand remerciement et notre profonde gratitude à notre encadreur **M. MESSAOUDI OMAR** Maître assistant à l'université Amar Thelidji Laghouat qui a proposé le thème de ce mémoire et accepter de nous encadrer, et pour son aide très précieuse.*

Nous remercions vivement les membres de jury qui nous honore en jugeant notre mémoire de fin d'étude.

L'ensemble de ce travail a été effectué au laboratoire de microbiologie appliqué de l'université Amar Thelidji Laghouat, nous saisissons cette occasion pour dire merci pour tous les membres du laboratoire pour leur extrême gentillesse, leurs conseils et leur accueil

*Nous n'oublierons pas de remercier tous nos enseignants du département de Biologie, pour les efforts qu'ils ont fournis durant notre cursus afin de nous amener jusqu'au bout de la formation surtout **M^r : ZIANEMOH AMMED***

Enfin Nous remercions tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce manuscrit : nos amis pour leurs conseils, notre proche pour leur soutien.

*Et sans oublier de remercier nos familles et toute notre promotion **2014/2015 de master II Microbiologie environnementale et infectieuse.***



A

Mes très chers Parents

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour ce projet.

J'espère avoir répondu aux espoirs vous avez fondé en moi.

Mon très cher mari

Quand je t'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie, mon âme et la lumière de mon chemin. Merci pour ton soutien moral et matériel.

Mes frères et mes sœurs

Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse.

Toute ma belle famille et mes collègues

Merci pour votre amour, votre amitié que Dieu protégé et le procure joie et bonheur et que amitié reste à jamais.

Fatima Zohra



Je dédie ce modeste travail :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans sa vaste paradis, à toi **mon père**.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; **maman que j'adore**.*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour ; A mon cher fiancé **Mohammed** qui m'a soutenu tout au long de ce projet, mes chers frères tout à son nom surtout **Salah**, mes belles sœurs **Amina, Habiba et Khaoula**, qui ont toujours été à mes côtés.*

A mes nièces Fatima Z, Ridtaj et Roudaina, et mes neveux Mounir, Hamada, Zakaria, Anes, Khalil et Abd Elmoum.

*A tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom **MOUDJA, BOUSMAHA et GEUNAYA**.*

A tous mes amis Khadidja, Hanane, Fatima, Iman, Siham.... A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

A tous les membres de ma promotion de Microbiologie environnementale et infectieuse, Master II.

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

TABLE DES MATIERES

Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Liste des abréviations	III
Introduction	01
I. Synthèse bibliographique	
1. Définition et historique	02
2. Les propriétés générales des actinomycètes	02
3. Morphologie	06
4. Physiologie de développement	07
4-1 L'oxygène	07
4-2 Le pH	07
4-3 Matière organique	08
4-4 La température	08
4-5 Tolérance en NaCl	08
4-6 L'activité de l'eau	08
5. Ecologie et distribution des Actinomycètes	08
5.1- Sols	08
5.2- Eaux douces et marines	09
5.3 - La fonction écologique	10
6. Cycle de développement des actinomycètes	10
7. Taxonomie des actinomycètes	11
8. Les antibiotiques secrets par les actinomycètes	11
II. Matériels et méthodes	
1. Échantillonnage	13
2. Analyses physico-chimiques du sol	14
2.1- Mesure de pH	14
2.2- Dosage de matière organique	14
3. Isolement et culture	15
3.1- Prétraitement des échantillons	15
3.2- Isolement	15
3.2.1- Les milieux de culture utilisés	15

3.2.2-Préparation de la suspension de dilution et l'ensemencement	15
3.3- Observation microscopique	16
3.4- Purification des isolats	16
3.5- Conservation des isolats	16
4. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne	16
4.1- Préparation des suspensions	17
4.2- Technique de cylindre agar	17
5. Pré-identification des isolats sélectionnés	17
III. Résultats et discussions	
1. Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons du sol	19
2. Résultats d'isolements des actinomycètes	19
3. Résultats de l'activité antimicrobienne	23
4. Pré-identification de l'isolat LAM1T1	29
Conclusion et perspectives	31
Références bibliographiques	33
Annexes	40

Liste de figures

Figure 1 : Une colonie du genre <i>Streptomyces</i> sur milieu solide	03
Figure 2: Clichés de microscopie électronique montrant différents spore d'actinomycètes	04
Figure 3 : Cycle de développement des <i>Streptomyces</i> sur milieu solide	11
Figure 4: Vue générale de la grotte de Tadjrouna	13
Figure 5: Carte géographique indiquant le site de prélèvement des échantillons.	14
Figure 6: La technique de culture sur lamelle	18
Figure 7: L'aspect macroscopique de quelque isolat d'actinomycète	20
Figure 8: L'aspect microscopique de quelque isolat d'actinomycète	20
Figure 9: Nombre des isolats d'actinomycètes isolés à partir de chaque milieu de culture	21
Figure 10: Observation microscopique de l'isolat LAM1T1 (X100).	28
Figure 11: Morphologie microscopique du genre <i>Kibdelosporangium</i>	29

Liste de planche

Planche 1: Test d'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes.	27
--	-----------

Liste des tableaux

Tableau 1: Types de paroi cellulaire définis d'après des critères chimio-taxonomiques relatifs au peptidoglycane chez les Actinobacteria.	05
Tableau 2 : Composition de la paroi en sucres caractéristiques de quelques d'actinomycètes	06
Tableau 3: Fréquence des divers genres d'Actinomycètes dans le sol	09
Tableau 4 : Importance relative des groupes microbiens producteurs d'antibiotiques	12
Tableau 5: Les régions de l'échantillonnage.	13
Tableau 6: Résultats des Analyses physicochimiques des sept échantillons des défèrent région de l'Algérie	19
Tableau 7 : Nombre d'isolats d'actinomycète isolés à partir de déférente régions	20
Tableau 8: Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des souches testées	23
Tableau 9: Sensibilité des différentes souches testées vis-à-vis des substances antimicrobiennes secrétées par les différents actinomycètes isolés.	26

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : L'acide ribonucléique.

ATCC : American type collection culture.

A_w : Activité d'eau.

BET : Bennett

BHIB : Brain Heart Infusion Broth.

CAA : Milieu caséine amidon agar.

CaCO₃ : carbonate de calcium

CH-vit B : Milieu chitine vitamine B

°C : Degré Celsius

DAP : L'acide 2,6 diaminopimélique.

FeSO₄ 7H₂O : sulfate de fer sept fois hydraté.

g : Gramme

h : Heure

ISP : International *Streptomyces* Project

KH₂PO₄ : phosphate monopotassique.

K₂HPO₄ : phosphate dipotassique.

MgSO₄ 7H₂O : sulfate de magnésium sept fois hydraté.

KNO₃ : Nitrate de potassium

min : Minute

mg : Milligramme

ml : Millilitre

mm : Millimètre

MnCl₂ 4H₂O : chlorure de manganèse quatre fois hydraté

MO : Matière organique

NaCl : Chlorure de Sodium.

nm : Nanomètre

pH : potentiel d'hydrogène.

P/V : Poids/Volume

ZnSO₄ 7H₂O : sulfate de zinc sept fois hydraté

µg : Microgramme

% : Pourcentage

Introduction

L'émergence de nouvelles maladies, le développement de résistances aux médicaments, l'apparition de virus mortels, les complications liées aux transplantations d'organes et l'augmentation de l'incidence des maladies infectieuses, ainsi que les risques de toxicité associée à l'utilisation excessive des médicaments et des antibiotiques de synthèse, poussent les chercheurs à explorer différentes sources naturelles afin d'obtenir de nouveaux antibiotiques qui seraient efficaces, possédant une faible toxicité et ayant un impact mineur sur l'environnement (**Donnée OMS, 2014**).

Dans ce domaine, les actinomycètes, bactéries à Gram positif à majorité filamenteuse, représentent la principale source naturelle de métabolites antimicrobiens (**Prescott *et al.*, 2010**). En effet les $\frac{3}{4}$ des antibiotiques utilisés dans le domaine thérapeutique ont comme origine les actinomycètes (**Aouiche *et al.*, 2012**), environ 70% à 80% de nouveaux antibiotiques étaient également de ce groupe de microorganismes (**Kumari *et al.*, 2013**). Les recherches actuelles se sont orientées vers l'isolement de souches d'actinomycètes à partir d'écosystèmes non ou peu exploitées, afin de découvrir de nouvelles souches d'actinomycètes qui pouvant avoir un potentiel de production élevé d'antibiotiques et qui sera utilisées pour faire face à la résistance bactérienne envers les antibiotiques utilisés (**Boughachiche *et al.*, 2012**).

À ce titre s'inscrire notre travail, qui vise à isoler des actinomycètes présumées productrices de molécules antimicrobiennes à partir de deux environnements extrêmes (sebkha et grotte). Notre travail est divisé en trois parties:

- L'isolement des actinomycètes à partir de leur milieu naturel
- Réalisation un criblage de différents isolats d'actinomycètes obtenus par la technique de cylindre agar, afin de sélectionner le meilleur isolat qui montre l'activité antimicrobienne la plus intéressante
- Réalisation une pré-identification de l'isolat sélectionné par l'étude de leur aspect microscopique.

1. Définition et historique

Les actinomycètes sont des bactéries à coloration de Gram positive (**Prescott et al., 2012**) dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes, c'est-à-dire de filaments qui irradient, par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Rastogi et Kishore, 1997**). Cela explique leur dénomination : le mot « Actinomycètes » provient de deux substantifs grecs et signifie « Champignons à rayons » ou « Champignons rayonnante », expression utilisée pour les désigner en anglais (Ray fungi) (**Lamari, 2006**). Ainsi les a-t-on désignés par référence soit à la morphologie des jeunes colonies dont les hyphes ramifiées rayonnant à partir du centre de la croissance (**Rastogi et Kishore, 1997**), soit à la disposition radiée des hyphes épaissies en massues que l'on trouve dans les concrétions que produisent les formes pathogènes responsables des actinomycoses et des mycétomes actinométriques. Les formes les plus évoluées des Actinomycètes rivalisent en complexité morphologiques avec les moisissures (Champignons imparfaits) mais en diffèrent radicalement puisque, comme toutes les autres bactéries, ce sont des Procaryotes (cellules sans enveloppe autour du matériel génétique) (**Prescott et al., 2012**).

D'après **Waksman (1959)**, **Ferdinand Cohn** fut le premier à décrire un Actinomycète en 1875, et **Harz C O**, en 1878, nomma *Actinomyces bovis* un organisme parasite trouvé dans une infection de la mâchoire d'un bovin. Depuis, les Actinomycètes, dont la plupart sont des saprophytes, ont été isolés des sols, des matières organiques en décomposition, des eaux et, en général, de presque tous les habitats où la vie est possible.

Notons que ce ne sont pas des organismes marins et qu'ils deviennent de plus en plus rares dans les mers au fur et mesure qu'on s'éloigne des côtes (**Prescott et al., 2002**).

2. Les propriétés générale des actinomycètes

les actinomycètes consistent un groupe de micro-organismes fascinant, ils sont la source de la plupart des antibiotiques utilisés en médecine aujourd'hui, ils produisent aussi des métabolites employés comme médicaments anticancéreux, comme antihelminthique (par exemple l'ivermectine, qu'on donne aux chiens pour prévenir le ver du cœur) et les médicaments qui suppriment le système immunitaire chez les patients qui ont subi une transplantation d'organe. Cet aspect pratique des actinomycètes est très étroitement lié à leur mode de croissance (**Goodfellow et al., 1988 ; Waksman, 1959**). Comme les

Synthèse bibliographique

myxobactéries à prosthèque et plusieurs autres sortes de micro-organisme. Le cycle biologique de nombreux actinomycètes comprend le développement de cellule filamenteuses. Appelées hyphes, et de spores. Lorsqu'ils croissent sur un substrat solide comme le sol ou la gélose, les actinomycètes développent un réseau ramifié d'hyphes. Ceux-ci poussent à la fois à la surface et à l'intérieur du substrat pour former un tapis dense d'hyphes, qu'on appelle mycélium végétatif (**Prescott et al., 2003**). Des septums divisent habituellement les hyphes en longues cellules (20µm de long et plus) contenant plusieurs nucléoides. Chez beaucoup d'actinomycètes, les hyphes végétatifs se différencient en hyphes qui poussent vers le haut et forme un mycélium aérien qui s'élève au-dessus du substrat (**Theilliex, 1993**).

C'est à ce moment-là que les composés médicalement utiles sont synthétisés, comme la physiologie des actinomycètes bascule de cellules végétatives en croissance active vers ce type spécial de cellules, on appelle souvent ces composés des métabolites secondaires.

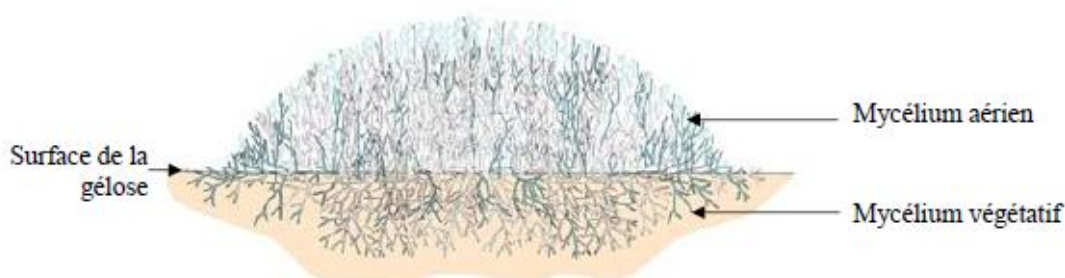


Figure 1 : Une colonie du genre *Streptomyces* sur milieu solide.

Les hyphes aériens forment par septation des spores à paroi mince (figure 1). Ces spores sont considérées comme des exospores (**Prescott et al., 2012**) Parce qu'elles ne se développent pas dans une cellule mère (**Lemriss et al., 2003**). Comme les endospores de *Bacillus* et de *Clostridium*. Si les spores sont localisées dans un sporange. On peut parler de sporangiospores. Ces spores peuvent avoir des formes fort variables (figures 2). comme la formation de spores chez les autres bactéries. La sporulation actinomycétale répond habituellement à une privation en élément nutritifs. La plupart des spores d'actinomycètes ne sont cependant pas particulièrement résistantes à la chaleur. Mais elle supportent bien la dessiccation et ont, de ce fait. Une importante valeur adaptative (**Lemriss et al., 2003**).

Synthèse bibliographique

La plupart des actinomycètes ne sont pas mobiles, leur spores se dispersent grâce au vent ou en adhérant à des animaux. Ils peuvent, de cette façon, trouver un nouvel habitat qui leur fournira la nourriture nécessaire. Chez les quelques genres dotés de mobilité. Celle-ci est limitée aux spores flagellées (Prescot *et al.*, 2002).

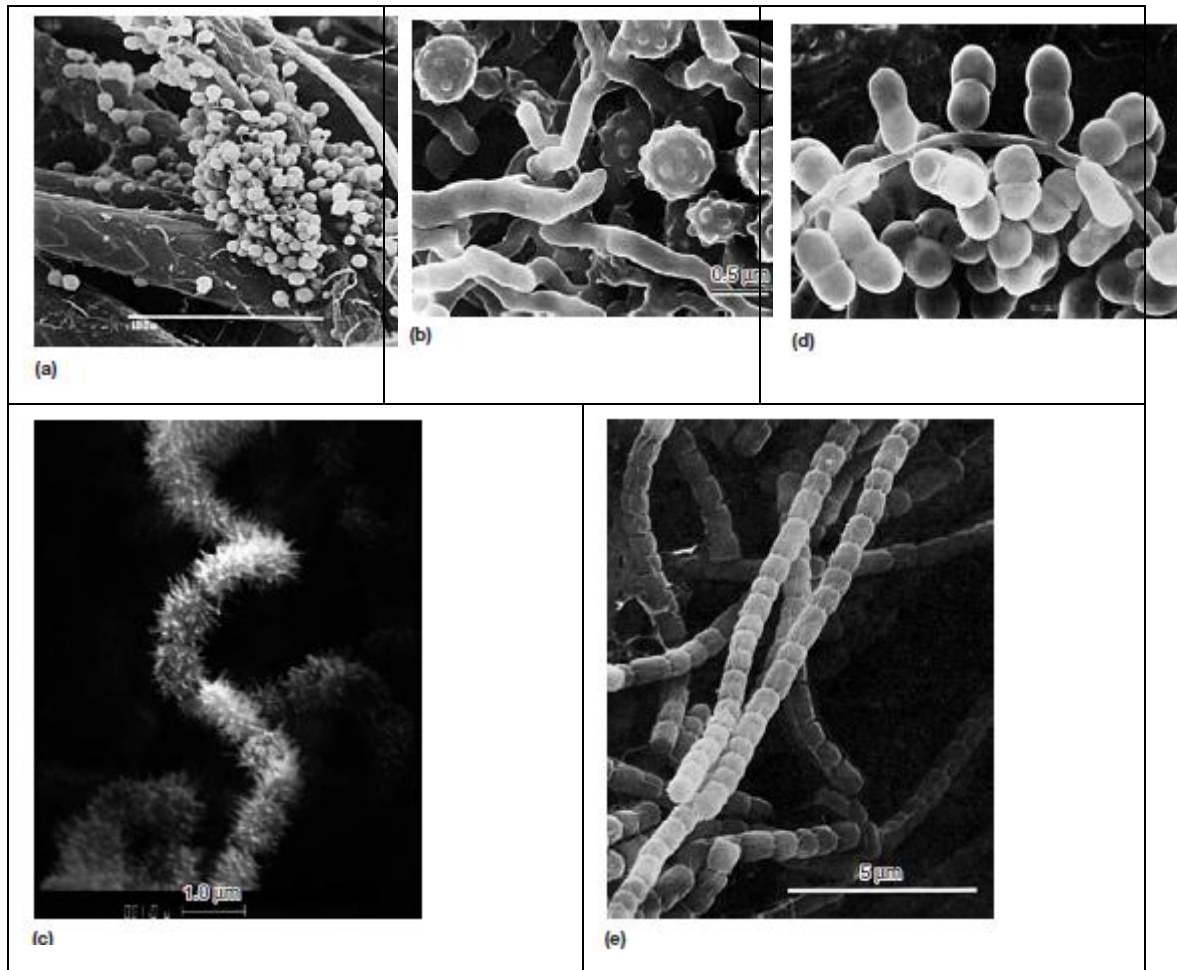


Figure 2 : Clichés de microscopie électronique montrant différents spores d'actinomycètes ;

(a) *Pilimeliacolumellifera*.

(b) *Micromonospora echinospora*.

(c) *streptomycete*.

(d) *Microbispora rosea*,

(e) *Kitasatosporia setae*

Synthèse bibliographique

La composition de la paroi cellulaire des actinomycètes varie fortement d'un groupe à l'autre et prend une importance taxinomique considérable. On peut distinguer quatre types principaux de paroi sur la base de trois caractéristique de la composition et de la structure du peptidoglycane : l'acide aminé en position 3 du tétra-peptide. La présence de glycine dans les ponts interpeptidiques et le contenu en sucres du peptidoglycane (**Basilio, 2003**), (Tableau1).

Tableau 1 : Types de paroi cellulaire définis d'après des critères chimiotaxonomiques relatifs au peptidoglycane chez les Actinobacteria (**Lechevalier et Lechevalier 1970**).

Type de paroi	Acide aminé en position 3	Glycine dans le pont interpeptidique	Sucres	Genres représentatifs
I	<i>L, L-DAP</i>	+	NA	<i>Nocardioides</i> <i>Streptomyces</i>
II	<i>Méso-DAP</i>	+	NA	<i>Micromonospora</i> <i>Pilimelia</i> <i>Actinoplanes</i>
III	<i>Méso-DAP</i>	-	NA	<i>Actinomadura</i> <i>Frankia</i>
IV	<i>Méso-DAP</i>	-	Arabinose, galactose	<i>Saccharomonospora</i> <i>Nocardia</i>

NA : non applicable ou non déterminé.

Les extraits cellulaires totaux des actinimycètes dotés d'une paroi des types II, III et IV contiennent également des sucres caractéristiques ; utile pour l'identification (**Lemriss et al.,2003**) (Tableau 2)

Tableau 2 : Composition de la paroi en sucres caractéristiques de quelques genres d'actinomycètes (**Prescott et al., 2003**).

Type de paroi selon la composition en sucre	Sucres caractéristiques	Genres représentatifs
A	Arabinose, Galactose	<i>Nocardia, Rhodococcus, Saccharomonospora</i>
B	Madurose	<i>Actinomadura, Dermatophilus, Streptosporangium</i>
C	Aucun	<i>Thermomonospora, Actinosynnema, Thermoactinomyces, Streptomyces...</i>
D	Arabinose, Xylose	<i>Micromonospora, Actinoplanes</i>

3. Morphologie

Morphologiquement, les actinomycètes ressemblent fortement à celle des mycètes. Ce groupe des Actinomycètes inclut à la fois des espèces dont le mycélium est rudimentaire au point d'être inexistant (la plupart des *Mycobacterium*), d'autres au mycélium fugace (certains *Nocardia*), et enfin des espèces au mycélium développé et persistant comme dans le genre *streptomyces*. Parmi les formes mycéliennes, on distingue celles qui ne forment qu'un mycélium « de base » poussant à la surface et dans le milieu de culture et celles qui élaborent en outre un mycélium aérien issu du mycélium de base. De plus, il existe une curiosité biologique représentée par le genre *sporichthya*, qui produit seulement un mycélium aérien dont les hyphes sont attachés au substratum par des crampons (**Prescott et al., 1997**)

Les différents groupes d'Actinomycètes peuvent sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores hautement résistantes à la chaleur et autres

adversités. Les endospores sont semblables, morphologiquement et chimiquement, à celles des *Bacillus*, et les Actinomycètes (*Thermoactinomyces*), qui les produisent sur leur hyphes, semblent être proches parents de ce groupe bactérien (Lemriss *et al.*, 2003).

Les conidies peuvent, suivant les groupes, être produites isolément (*Micromonospora*), deux à deux longitudinalement (*Microbispora*), en courtes chaînes (*Actinomadura*), en longue chaînettes (*Streptomyces*). Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, sinuées ou spirales. De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores (*Streptoverticillium*) (Lemriss *et al.*, 2003).

Il existe d'autres structure morphologiques : des sclérotés sont formés dans le genre *Chainia*, des synnemas (ou corémies) par les *Actinosynnema*, des vésicules, différentes des spores, chez les *Frankia* et les *Dactylosporangium* (Prescott *et al.*, 2010).

Plusieurs groupes d'Actinomycètes sporulent en produisant des sporanges qui peuvent contenir des spores mobiles à l'aide de flagelles (*Actinoplanes*) ou des spores immobiles (*Streptosporangium*) (Prescott *et al.*, 2003).

En général, les Actinomycètes forment des cloisons intercellulaires perpendiculairement à l'axe des hyphes. Mais, dans les genres *Dermatophilus*, *Geodermatophilus* et *Frankia*, la division cellulaires se produisent sur les plans les plus divers lors de la formation des spores qui sont mobiles chez les dermatophiles et géodermatophiles, mais immobiles chez les *Frankia* (Perry *et al.*, 2004).

4. Physiologie de développement

Au niveau du sol, les actinomycètes représentent l'une des principales communautés microbiennes. Leur présence est significativement influencée par les conditions environnantes : la température, le pH, le type de sol, la nature et l'abondance de la matière organique (Sykes et Skinner, 1973).

4-1 L'oxygène

Les actinomycètes sont divisés en deux groupes selon leurs types respiratoires

- Les actinomycètes anaérobies, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs (Avril *et al.*, 1992).
- Les actinomycètes aérobies, qui sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol (Avril *et al.*, 1992).

4-2 Le pH

La plupart des actinomycètes du sol sont neutrophiles et croissent dans un intervalle de pH compris entre 5 et 9 avec une croissance optimale à pH neutre ou légèrement alcalin (**Lee et Hwang, 2002**). Les procédures d'isolement ont été traditionnellement basées sur ce caractère de neutralité.

4-3 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 de la salinité du sol (**Lee et Hwang, 2002**).

4-4 La température

La température optimale de croissance est entre 25 à 30 C°, mais les espèces thermophiles peuvent croître à des températures de 55 à 65 C° (**Kim et al., 2000**).

4-5 Tolérance en NaCl

Tresener et al (1968), et **Gottlieb (1973)** étaient les premiers à avoir étudié la présence des actinomycètes dans les environnements à salinité élevée et la tolérance de ces microorganismes aux concentrations élevées de NaCl.

Il existe différentes catégories de microorganismes halotolérants :

Les microorganismes : **non-tolérants** sont ceux qui tolèrent seulement une faible concentration de NaCl (environ **1%** P/V) ; **halotolérants faibles** tolèrent jusqu'à **6-8%** ; **halotolérants modérés** tolèrent jusqu'à **18-20%** ; **halotolérants extrême** qui tolèrent des concentrations de sel qui varient de **Zéro** jusqu'à saturation (**Tiquia, 2006**).

4-6 L'activité de l'eau (Aw)

La germination des spores de la pluparts des actinomycètes, peut-être observée à des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0.67, l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est égale à 0,98 (**Oskayet al., 2004**).

5. Ecologie et distribution des Actinomycètes

Les Actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires (**Larpen et Sanglier, 1989**), on les rencontre sur tous les substrats naturels courants (**Waksman, 1959**).

5.1 Sols

Les Actinomycètes sont largement répandus dans tous les sols à l'exception des sites exposés à des conditions trop extrêmes. Ils sont surtout présents dans la couche comprise

Synthèse bibliographique

entre la surface du sol et jusqu'à 2m de profondeur c'est-à-dire dans la rhizosphère. Le genre *Streptomyce* est le plus fréquent dans le sol, il couvre à lui seul 95% des souches d'Actinomycètes isolées. Le tableau montre la fréquence des divers genres d'Actinomycètes dans le sol (Glazer et Nikaido, 2007).

Tableau 3 : Fréquence des divers genres d'Actinomycètes dans le sol (Prescott *et al.*, 2010).

Genres	Pourcentage (%)
<i>Streptomyces</i>	95,34
<i>Nocardia</i>	1,98
<i>Micromonospora</i>	1,40
<i>Thermomonospora</i>	0,22
<i>Actinoplanes</i>	0,20
<i>Microbispora</i>	0,18
<i>Mycobacterium</i>	0,14
<i>Streptosporangium</i>	0,10
<i>Actinomadura</i>	0,10
<i>Microspolyspora</i>	0,10
<i>Pseudonocardia</i>	0,06
<i>Microellobosporia</i>	0,04

5.2 Eaux douces et marines

Les Actinomycètes sont bien représentés dans ces milieux d'où l'on peut facilement isoler des souches de *Microspora*, d'*Actinoplanes* et de *Streptosporangium*.... C'est essentiellement dans les sédiments des fonds fluviaux ou lacustres que ceux-ci sont présents où ils jouent un rôle important dans la décomposition des débris végétaux et donnent à l'eau son odeur de terre et sa saveur (Zaitlin *et al.*, 2006) selon Cavala et

Eberlin, 1994. La production de ces substances est plus importante chez les espèces possédant un mycélium végétatif abondant.

5.3 La fonction écologique

La fonction écologique principale des actinomycètes au sein des écosystèmes est la décomposition des substances organiques (**Prescott et al., 2010**), grâce à leurs capacités de produire une large gamme d'enzyme hydrolytique, comme les protéases, les nucléases, les lipases ...etc (**Goodfellow et al., 1988**), ainsi que les enzymes pour l'hydrolyse des sucres complexes comme : la cellulose, hémicellulose et certaines d'entre eux attaquent même la carapace chitineuse des cadavres d'insectes (**Waksman, 1959**).

Au niveau de la rhizosphère, les actinomycètes forment des relations symbiotiques avec les racines des plantes (**Prescott et al., 2007**), en contribuant à la promotion de leurs croissances par des effets directs et indirects. Les effets directs comprennent la solubilisation du phosphate, la fixation d'azote, la production de phytohormones, tandis que les effets indirects peuvent être dus au contrôle des agents pathogènes par la production des métabolites secondaires (**Thompson, 1982**), tel que les antibiotiques (**Procopio et al., 2012**). Ou par la compétition nutritionnelle vis-à-vis des agents pathogènes,

6. Cycle de développement des actinomycètes

Tous comme les eucaryotes multicellulaires, les actinomycètes possèdent un cycle de vie qui est le résultat de trois processus physiologiques majeurs : La croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire puis la mort (**Danilenko et al., 2005**).

Sur un milieu solide, les spores d'actinomycètes produisent un ou plusieurs mycéliums de substrat, ramifié et non fragmenté, suite à la germination d'une spore et se développent par croissance apicale (**Hodgson, 1992**) (Figure 3).

En réponse à certains signaux, le mycélium aérien émerge par la réutilisation de composés assimilés par mycélium végétatif tel que l'ADN. Les protéines ainsi que des stockés résultants de la lyse le mycélium de substrat (**Ou et al., 2008; Madigan et Martinko, 2007; Pine 1970**).

Généralement le mycélium aérien est plus épais et moins ramifié que le mycélium de substrat (**Silvey et Roach, 1975**).

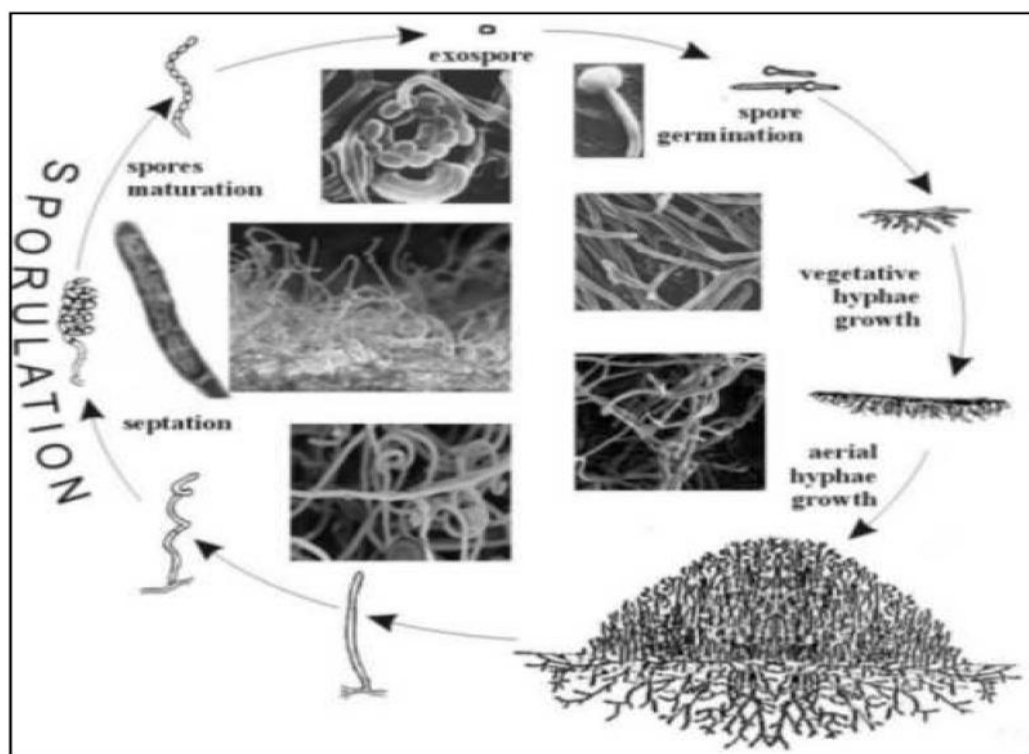


Figure 3: Cycle de développement des *Streptomyces* sur milieu solide (Jakimowicz, 2007)

7. Taxonomie des actinomycètes

L'étude des actinomycètes a pris son ampleur surtout après la découverte de l'aptitude de certains genres de ce groupe à produire des antibiotiques (Busti *et al.*, 2006). En effet, la classification des actinomycètes est basée sur plusieurs caractéristiques. L'ensemble de ces caractéristiques est répertorié dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, un ouvrage de référence pour la taxonomie des bactéries, qui comprend un volume en deux parties dédié aux **Actinobacteria** (Ludwig *et al.*, 2012). Selon ce dernier le phylum d'Actinobacteria comprend six classes : *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria*, *Thermoleophilia*, vingt-trois ordres, cinquante-deux familles et deux cent cinquante-deux genres.

8. Les antibiotiques secrets par les actinomycètes

La différenciation morphologique s'accompagne d'une différenciation métabolique. Un métabolisme secondaire se met en place donnant lieu à la biosynthèse de composés d'une extraordinaire diversité de structures et d'activités biologiques (Choulet, 2006).

Pour plus de 70 ans, les actinomycètes (ordre Actinomycetales) ont été reconnus comme des sources importantes pour des composés naturels bioactifs. De l'à peu près 18000

Synthèse bibliographique

composés bioactifs bactériennes connues, plus de 10000 ont été décrits à partir de bactéries de l'actinomycète genre *Streptomyces*. Beaucoup d'antibiotiques connus, tels que la tétracycline, l'érythromycine, la vancomycine, et la streptomycine, proviennent du métabolisme secondaire des actinomycètes (Weber *et al.*, 2014).

Streptomyces a révélé un potentiel biotechnologique intéressant pour la production d'enzymes, ou la biodégradation de biopolymère, ou des polluants organiques (Goodfellow *et al.*, 1988)

Ainsi, elles présentant une activité biologique d'intérêt pour la santé humaine et animale : antibactérienne (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol), antifongique (nystatine), antivirale (tunicamycine), antiparasitaire (avermectine), immunosuppressive (rapamycine), antitumorale (actinomycine, mitomycine C, anthracyclines), inhibiteur d'enzyme (acide clavulanique) (Procopio *et al.*, 2012).

Tableau 4 : Importance relative des groupes microbiens producteurs d'antibiotiques (Prescott *et al.*, 2010),

Microorganismes producteurs d'antibiotiques	% du total des antibiotiques décrits
Lichens et algues	0.8
Champignons	
<i>Penicillium</i>	4,1
<i>Aspergillus</i>	3,0
<i>Fusarium</i>	1,2
<i>Cephalosporium</i>	0,8
Autres champignons imparfaits	5,4
Basidiomycètes et Ascomycètes	5,0
Bactéries	
Pseudomonadaceae	1,3
Bacillaceae	7,0
Autres Eubactéries	1,7
Actinomycètes	69.7

1. Échantillonnage

Différents échantillons du sol ont été prélevés à partir de différents environnements extrêmes en Algérie (**figure5**), entre le mois de Mai 2014 et Janvier 2015.

Tableau 5 : les régions de l'échantillonnage.

Sebkha	Grotte
- Bogtob (El-Bayadh)	-Tadjrouna (Laghouat)
-Kenadsa (Bechar)	
- Ksar Elhiraan (Laghouat)	
-Hasi Bahbah (Djelfa)	

Chaque échantillon du sol est constitué d'un mélange de cinq aliquotes récupérées sur une surface préalablement délimitée. Le prélèvement des échantillons est réalisé selon la technique de **Pochon et Tardieux (1962)**, cette technique consiste à écarter les cinq centimètres du sol à l'aide d'une grande spatule et une quantité de 100 à 150 grammes du sol sont prélevés par une petite spatule puis placée sur une feuille d'aluminium. Les cinq aliquotes sont bien mélangées et à partir du mélange 50 g du sol sont prélevés puis placés dans un flacon stérile ce qui constitue un échantillon, les autres échantillons sont prélevés de la même manière.



Figure4 : Vue générale de la grotte de Tadjrouna

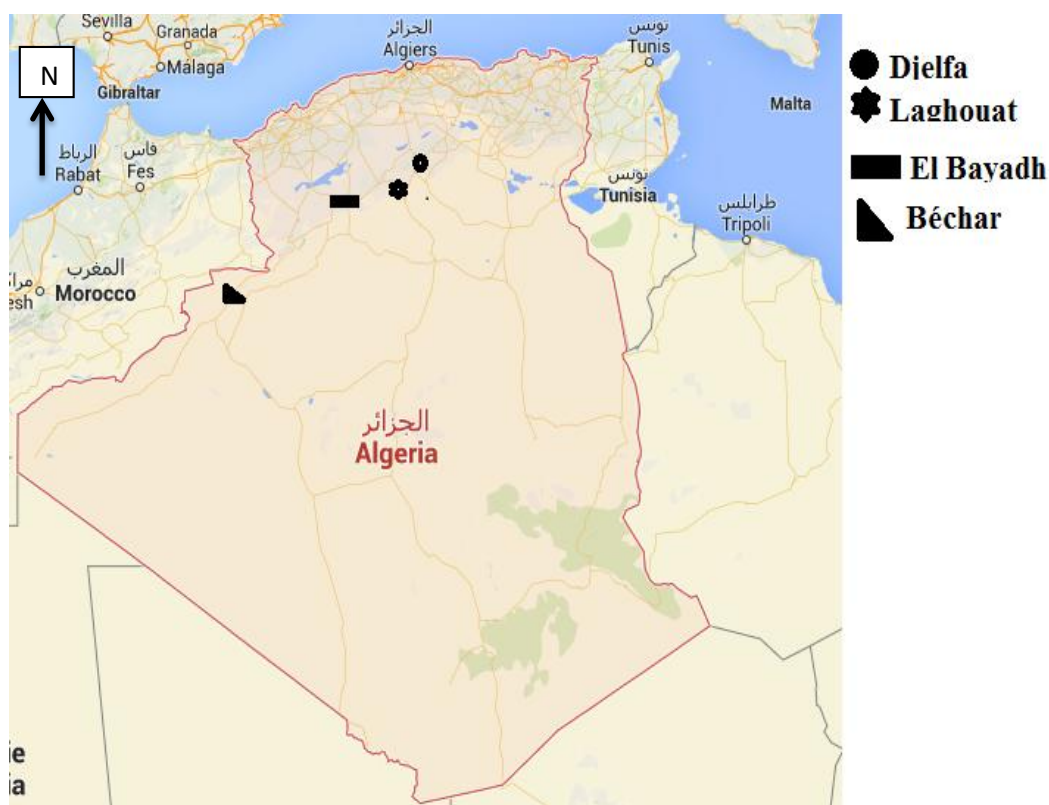


Figure 5 : carte géographique indiquant les sites de prélèvement des échantillons. (google maps)

2. Analyse physico-chimique de sol

2.1- Mesure de pH

Des suspensions de sols/eau sont préparées pour chaque échantillon du sol avec un rapport 2/5 (g/ml). Le pH est déterminé par une mesure directe à l'aide d'un pH-mètre (Lee et Hwang, 2002).

2.2- Dosage de matière organique

le taux de matière organique est déterminé par calcination (Augusto et al., 2006), en effet après un tamisage des échantillons pour éliminer les pierres et les débris, les échantillons sont mis à l'étuve à 100°C pour un séchage afin d'éliminer l'eau, ensuite cinq grammes de chaque échantillon sont placés dans un four à moufle réglé à la température de 475°C pendant 8 heures. La matière organique est calculée alors par la formule suivante (Lee et Hwang, 2002) :

$$\% \text{ Matière organique} = \frac{\text{Poids du sol avant calcination} - \text{Poids du sol après calcination}}{\text{Poids du sol avant calcination}}$$

3. Isolement et culture

3.1- Prétraitement des échantillons

Avant l'isolement, les échantillons du sol subissent un prétraitement afin d'améliorer le nombre des actinomycètes. En effet les échantillons du sol sont séchés à la température ambiante pendant sept jours, ce prétraitement a comme effet la réduction de la flore bactérienne dans les échantillons du sol (**Esin et Uzel, 2012**).

3.2- Isolement

3.2.1- Les milieux de culture utilisés

Trois milieux de culture recommandés pour l'isolement des actinomycètes ont été utilisés :

- Bennete (**Boussaber et al., 2012**). (**Kenneth et Jones, 1948**).
- Caséine amidon agar (**Esin et Uzel, 2012**).
- Chitine vitamine B (**Zaitlin et Watson, 2008**) (**Badji et al., 2006**).

La composition de chaque milieu est donnée dans l'annexe.

Chaque milieu est supplémenté par 10% (P/V) de NaCl (**Basilio et al, 2003**). Après l'autoclavage (120°C, 20 min) et refroidissement des milieux vers 50°C, on ajoute 50µg/ml de colistine pour inhiber les bactéries à Gram négatifs (**Esin et Uzel, 2012**).

3.2.2- Préparation de la suspension de dilution et l'ensemencement

Des suspensions mères ont été préparées après avoir mélangé 10 g de sol de chaque échantillon avec 90 ml d'eau physiologie stérile, le mélange est agité au vortex pendant 15 min, ce qui constitue la dilution 10⁻¹. À partir de la suspension mère de chaque échantillon on prépare la dilution 10⁻² (**Singh et al., 2012, Dehnad et al., 2010**).

Un volume de 1 ml de chaque dilution est ensemencé par inondation à la surface de milieu de culture coulé sur des boîtes de pétries, avec deux répétitions pour chaque dilution, les boîtes sont incubées à une température de 30°C, et elles sont vérifiées régulièrement pendant 21 jours (**Romanenko et al., 2006**).

3.3- Observation microscopique

Les colonies qui ont un aspect dure incrustée dans la gélose sont observées au microscope optique (**Zerizer *et al.*, 2005**) en utilisant la coloration simple par le bleu de méthylène, l'observation est réalisé à différents grossissements ($\times 10$, $\times 40$, $\times 100$). Les actinomycètes sont reconnus par leur aspect filamenteux ramifié (**Goudjale *et al.*, 2014**).

3.4- Purification des isolats

Afin d'obtenir des souches pures, les différentes colonies repérées sont repiquées et ensemencées par la méthode des stries dans des boîtes de pétri contenant le même milieu d'isolement, puis incubées pendant 2 semaines à 30°C, cette opération est répétée jusqu'à l'obtention d'une culture pure (**Boughachiche *et al.*, 2006**).

3.5- Conservation des isolats

Les isolats obtenus sont conservés pour être utilisés dans des tests ultérieurs. La conservation est réalisée selon deux techniques :

- Les isolats d'actinomycètes sont ensemencés sur la gélose de Bennett incliné dans des tubes, puis incubé pendant 14 jours à 30 °C. Les tubes sont ensuite conservés à 4°C (**Boussaber *et al.*, 2012**).
- Les isolats sont ensemencés sur le milieu gélosé, puis incubés jusqu'à sporulation. Les spores des isolats d'actinomycètes sont raclés puis ils sont mis dans des tubes à Eppendorf contenant le milieu Bennett avec 40% de glycérol, puis ils sont conservées à -18 °C (**Boussaber *et al.*, 2012**).

4. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

Les isolats d'actinomycètes isolés au cours du travail, sont d'abord ensemencés par épuisement sur la surface de milieu ISP2 de manière à obtenir un tapis après 14 jours d'incubation à 30 °C (**Lee *et al.*, 2011**).

L'activité antimicrobienne est mise en évidence par la technique de cylindre agar contre des souches de références (**Boughachiche *et al.*, 2012**).

4.1- Préparation des suspensions

Les souches de références utilisées sont tous des souches ATCC, ils ont comme origine : le laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) (Tlemcen).

Nous avons utilisé huit souches bactériennes, dont :

- Quatre bactéries à Gram positifs :

Staphylococcus aureus (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC10876), *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313).

- Quatre bactéries à Gram négatifs : *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606)

La suspension de chaque bactérie teste est préparée à partir d'une culture jeune de 18 heures sur le milieu liquide BHIB. Les densités optiques sont ajustées par un densitomètre fixé à la longueur d'onde de 625 nm de manière à obtenir une absorbance entre 0.08 à 0.1 ce qui correspond à une charge cellulaire entre 10^6 à 10^8 cellule/ml. Une fois préparées, les suspensions sontensemencées à l'aide d'un écouvillon stérile sur le milieu Muller-Hinton (Flora *et al.*, 2015)

4.2- Technique de cylindre agar

Des cylindres de 6mm de diamètre d'une culture de 14 jours d'isolats d'actinomycètes sont prélevées à l'emporte-pièce et déposées à la surface du milieu Muller-Hinton préalablement ensemencé par la bactérie testée. Pour permettre une bonne diffusion des molécules antimicrobiennes sécrétées, les boîtes sont placées à la température de 4°C pendant quatre heures, puis elles sont incubées à la température de 37°C pendant 24 heures. Les zones d'inhibition formées autour des cylindres sont alors mesurées (Souagui *et al.*, 2015, Rifai *et al.*, 2005).

5. Pré-identification de l'isolat sélectionné

L'identification des isolats d'actinomycètes est basée sur plusieurs caractères : morphologique, chimiotaxonomique, biochimique, physiologique, métabolique.

Pour notre travail, nous avons rapproché les isolats sélectionnés au genre ou famille probable sur la base de l'observation microscopique, on utilisant la technique de culture sur lamelle.

Matériels et méthodes

La culture sur lamelle permet une observation de mycélium aérien et de substrat des isolats sans altérer leurs structures et leurs morphologies. Elle consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans un milieu gélosé approprié, de manière à former un angle de 45° avec la surface de la gélose, une goutte d'inoculum de l'isolat à identifier et déposer contre la lamelle en contact avec le milieu (**Figure 6**).

Après 21 jours d'incubation, les lamelles sont retirées délicatement, pour éviter la dénaturation de mycélium aérien et de substrat, puis elles sont placées sur une lame contenant une goutte de lactophénole et sont observées au microscope optique au grossissement X100, avec l'utilisation de quelques gouttes d'huile d'émersion pour éclaircir l'observation (**Shirling et Gottlieb, 1966**).

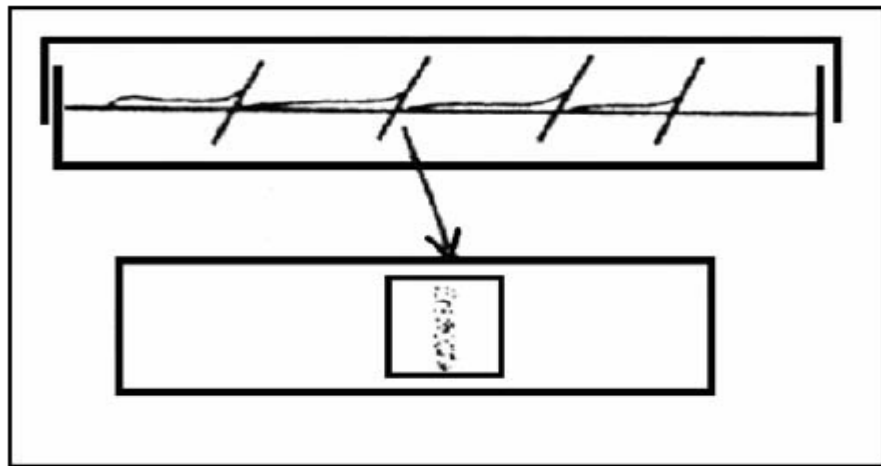


Figure 6 : La technique de culture sur lamelle

1. Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons du sol

Les résultats des analyses physicochimiques (pourcentage de la matière organique et le pH) des cinq échantillons du sol, sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6: résultats des analyses physicochimiques des cinq échantillons du sol des différentes régions de l'Algérie

Echantillons	Bougtob	Tadjrouna	Kenadsa	Ksar El Hiran	Hassi Bahbah
pH	8.18	7.30	8.52	8.90	8.69
% MO	11.80	9.30	7.00	10.30	12.50

pH : potentiel d'hydrogène ; MO : matière organique.

Le pH des cinq échantillons du sol est basique, les valeurs vont de 7.30 pour l'échantillon de Tadjrouna à 8.90 pour l'échantillon de Ksar El Hiran.

Le taux de la matière organique varie entre 7% pour l'échantillon de Kenadsa à 12,5% pour l'échantillon de Hassi Bahbah; selon **Lee et Hwange. 2002** le taux de la matière organique est considéré comme :

- ✓ **Faible** entre 4-7% : observé pour l'échantillon de Kenadsa ;
- ✓ **Modéré** entre 7.1-9% : aucun échantillon n'a montré ce pourcentage de matière organique ;
- ✓ **Elevée** entre 9.1-11% : observé pour les échantillons de Tadjrouna et Ksar El Hiran;
- ✓ **Très élevée** >11 %: pour les échantillons de Bougtob et Hassi Bahbah.

2. Résultats d'isolements des actinomycètes

L'utilisation de trois milieux de culture différents qui favorisent la croissance des actinomycètes nous a permis d'isoler, à partir de cinq échantillons provenant de différents environnements extrêmes en Algérie (sebkha et grotte), 57 isolats qui se rapprochent par leur aspect macroscopique et microscopique aux actinomycètes.

Les isolats d'actinomycètes apparaissent après 14 à 21 jours d'incubation, sur les trois milieux d'isolements utilisés (Bennett, caséine amidon agar, Chitine-vitamine B) additionnés à 50µg/ml de colistine (antibiotique actif contre les bactéries à Gram négatifs) et 10% de NaCl. Les colonies de ces isolats sont reconnues par leurs aspects macroscopiques (colonies dures incrustées dans la gélose) (Figure 7) et microscopiques (aspects filamenteux ramifié) (Figure 8).

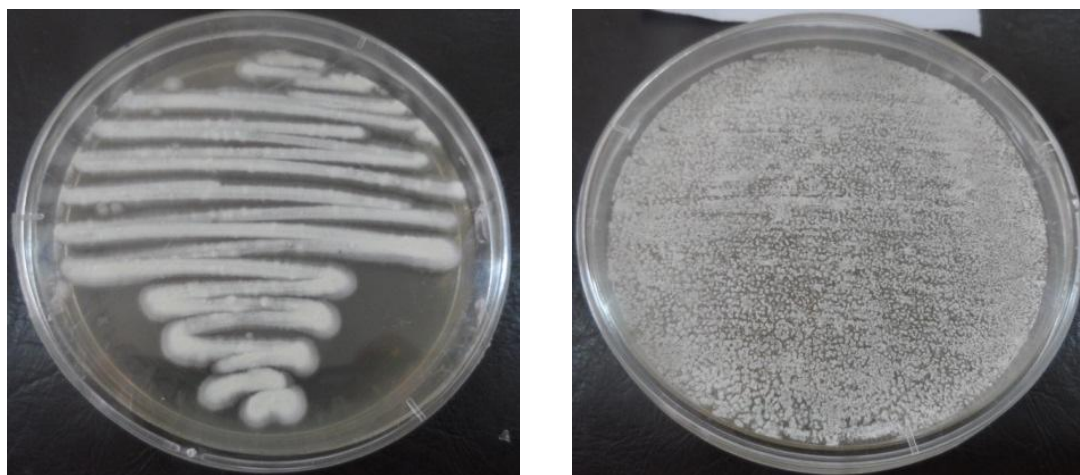


Figure 7: L'aspect macroscopique de deux isolats d'actinomycète sur le milieu CAA

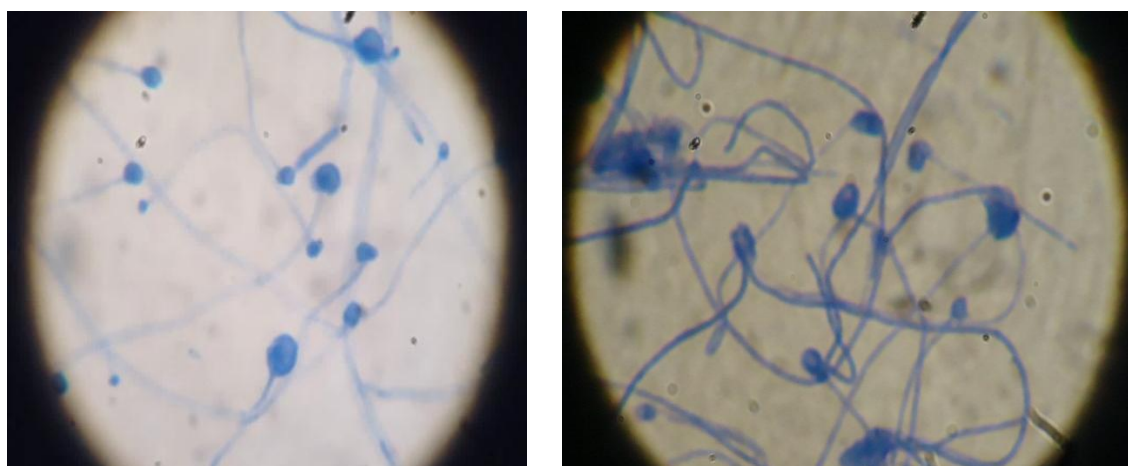


Figure 8: L'aspect microscopique de deux isolats d'actinomycètes

Les résultats d'isolement obtenus à partir de cinq échantillons du sol, sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Nombre d'isolats d'actinomycète isolés à partir de déférente régions

Région	Bougtoob	Tadjrouna	Kenadsa	Ksar El Hiran	Hassi Bahbah
Nombre d'isolats d'actinomycetes	12	05	11	29	0

Le plus grand nombre d'isolat est obtenu à partir de l'échantillon de Ksar El Hiran, par un totale de 29 isolats, douze isolats sont obtenus à partir de l'échantillon de Bougtob, tandis que onze isolats sont isolés à partir de l'échantillon de Kenadsa, alors que Cinq isolats seulement sont isolés à partir de l'échantillon de Tadjrouna. Il faut noter qu'aucun isolat d'actinomycètes n'a été isolé à partir de l'échantillon de Hassi Bahbah.

La figure suivante résume le nombre d'isolats d'actinomycètes isolés en fonction de milieu de culture

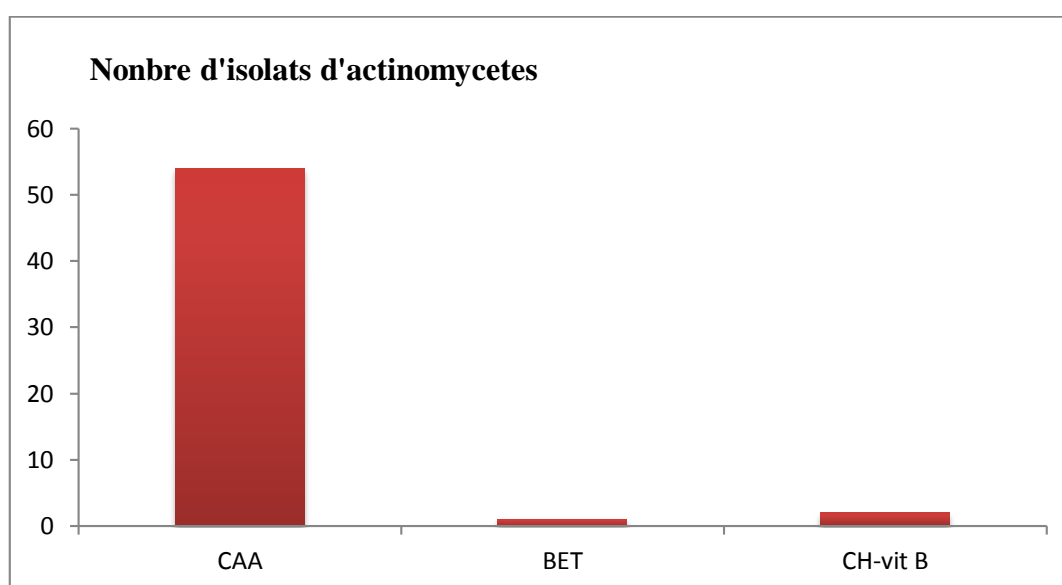


Figure 9: nombre des isolats d'actinomycètes isolés à partir de chaque milieu de culture

Selon la figure 9, le plus grand nombre d'isolat d'actinomycètes est obtenu avec le milieu caséine amidon agar (CAA) (54 isolats). Au contraire les deux milieux BET et CH-vit B nous ont permis d'isolées qu'un nombre très faible d'isolat d'actinomycètes par rapport au premier (deux colonies à partir du milieu CH-vit B et une colonie à partir du milieu BET).

Discussion

Les travaux d'isolement sélectif des actinomycètes à partir des milieux extrêmes, comme sebkha et les grottes, sont relativement rares dans l'Algérie (Messaoudi *et al*, 2015). Dans notre travail nous avons isolé 57 isolats d'actinomycètes à partir de cinq

Résultats et discussion

régions extrêmes, en utilisant trois milieux sélectifs additionnés de 10% de NaCl et de 50µg/ml antibiotiques.

Plusieurs techniques de prétraitement ont été appliquées pour les échantillons du sol pour augmenter le rapport actinomycètes/microorganismes, plusieurs stratégies peuvent être suivies:

- Traitement physique (chauffage, centrifugation) (**Thimann, 2012 ; Yamamura et al., 2012 ; Baskaran et al., 2011**)
- Utilisation des milieux sélectifs (**Khanna et al., 2011**).
- L'ajoute des antibiotiques aux milieux de culture (**Esin et Uzel, 2012 ; Zhang, 2011**).

Dans notre travail nous avons utilisé un prétraitement physique c'est le séchage. Plusieurs chercheurs ont signalé l'efficacité de ce type de prétraitement comme méthode d'enrichissement des actinomycètes dans le sol, en effet les travaux de **Agadagba et al, 2014** indiquent qu'un séchage des échantillons du sol permet une récupération de 3.56×10^5 colonies d'actinomycètes par gramme de sol.

Les résultats présentés dans le tableau 7, indiquent une distribution hétérogène des actinomycètes isolés à partir de chaque échantillon du sol, cela peut être attribué à l'influence des caractéristiques physico-chimiques du sol sur la diversité des microorganismes (**CEAEQ, 2003**), en effet plusieurs paramètres peuvent être mis en jeu, en particulier la température, l'humidité, la taille des pores entre les particules de sol, la qualité et la disponibilité des nutriments dans le sol (**Souagui et al., 2014**).

Dans cette étude deux paramètres physicochimiques ont été déterminés: le pH et la matière organique ; La valeur du pH de Ksar El Hiran est (8,90), cette valeur convient à la croissance des actinomycètes, qui préfèrent généralement des sols neutres ou alcalins. L'abondance des actinomycètes dans l'échantillon de Ksar El Hiran peut être attribuée aussi à sa richesse en matière organique, ceci est en coordinance avec d'autres travaux qui confirme qu'un sol riche en matière organique est convenable pour les actinomycètes qu'un sol pauvre en matière organique (**Lee et Hwange, 2002**).

Il est aussi important de noter qu'aucun actinomycète n'a été isolé de l'échantillon de Hassi Bahbah. Ceci peut être rendu à la concentration de NaCl ajouté au milieu de culture (10%) qui était soit trop élevée soit trop faible pour la croissance des actinomycètes présents dans cet échantillon

Résultats et discussion

La figure 9 indique que le meilleur milieu pour l'isolement des actinomycètes est le milieu caséine amidon agar (CAA), qui permis la récupération de la plupart des actinomycètes isolés (54 isolats sur un totale de 57 isolats).

L'efficacité de milieu CAA additionné d'antibiotiques peut être attribuée à la présence dans ce milieu, d'amidon et de caséine, qui stimulent la croissance des actinomycètes préférentiellement aux autres bactéries favorisant ainsi leur récupération à partir des milieux naturels (Geberyhannes *et al.*, 2013 ; Mohseni *et al.*, 2013 ; Balakrishna *et al.*, 2012).

3. Résultats de l'activité antibactérienne

Nous avons testé l'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes par la technique de cylindres d'agar, afin de sélectionner les isolats les plus producteurs de substances antimicrobiennes. Après 24 heures d'incubation, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des souches testées :

Bactéries isolats	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Listeria monocytogene</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>
LAMIBO1	22	-	-	22	29	12	-
LAMCBO1.1	-	-	-	-	-	-	-
LAMCBO2	-	-	-	-	-	-	-
LAMIBO4	16.5	-	-	-	-	-	-
LAMIBO7	-	-	-	-	-	-	-
LAMCBO8	-	-	-	-	-	-	-
LAMCBO10	17	-	-	-	20	-	-
LAMCBO11	15	-	-	-	15	-	-
LAMCBO12	-	-	-	-	-	-	-
LAMIBO13	15.5	-	-	11	-	-	-
LAMIBO14	9	-	-	-	-	-	-
LAMCBO15	12	-	-	-	-	-	-

Résultats et discussion

LAMIBO15	20	-	-	16	22	11	-
LAMIT1	30	-	-	35	40	-	10
LAMIT4	-	-	-	-	-	-	-
LAMCT4	-	-	-	-	-	-	-
LAMCT5	-	-	-	-	-	-	-
LAMIT6	-	-	-	-	-	-	-
LAMCKT3	-	-	-	-	-	-	-
LAMIKT4	20	-	-	-	26	-	-
LAMCKT4	8	-	-	-	-	-	11
LAMIKT5	21.5	-	-	-	-	-	-
LAMIKT6	25.5	-	-	12.5	-	-	-
LAMIKT7	-	-	-	-	-	-	-
LAMCKT7	-	-	-	-	12	-	-
LAMIKT8	-	-	-	-	-	9	-
LAMCKT9	12	12	-	-	18	-	-
LAMIKT9	10	-	-	14	-	-	10
LAMIKT10	-	-	-	-	-	-	-
LAMIKT11	-	-	-	-	-	-	-
LAMCKT11	-	-	-	-	-	-	-
LAMCKT12	12.5	-	-	10	-	-	-
LAMIKT13	-	-	-	-	-	-	-
LAMCK1	-	-	-	-	-	-	-
LAMIK2	25.5	-	-	11.5	-	-	-
LAMCK3	-	-	-	-	-	12	6
LAMIK4	11.5	-	-	9	-	-	-
LAMCK5	10	-	-	12	-	-	6
LAMIK8	24	-	-	12	-	-	-
LAMCK8	-	-	-	-	-	-	-
LAMIK9	-	-	-	9	-	-	-
LAMIK11	17	-	-	-	-	-	-
LAMIK14	-	-	-	-	-	-	-

Résultats et discussion

LAMCK15	-	-	-	-	-	-	-
LAMCK18	15	-	-	-	-	-	-
LAMCK22	-	-	-	-	-	-	9
LAMCK25	-	-	-	-	-	-	-
LAMIK25	-	-	-	11	-	-	-
LAMIK27	-	-	-	-	-	-	-
LAMCK29	-	-	-	-	-	-	-
LAMCK31	-	-	-	-	-	-	-
LAMIK37	-	-	-	-	-	-	-
LAMCK40	-	-	-	-	-	-	8
LAMCK45	-	-	-	-	-	-	-
LAMIK46	-	-	-	-	-	-	-
LAMCK49	-	-	-	-	-	-	-
LAMIK55	-	-	-	-	-	-	-

Parmi les 57 isolats d'actinomycètes isolés, 29 (51%) isolats ont été actives contre les souches testées utilisées.

Sur les 29 isolats actifs, 4 isolats (14%) ont été actifs uniquement contre des bactéries à Gram négatifs, tandis que 17 isolats (59%) agissent sur des bactéries à Gram positifs seulement, alors que les 8 isolats restants sont actifs à la fois contre des bactéries à Gram positifs et négatifs.

La plus petite zone d'inhibition est observée par les isolats : LAMCK40 contre la bactérie *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 8 mm de diamètre ainsi que l'isolat LAMCKT4 contre *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 8 mm.

L'isolat LAMIT1 montre l'activité antimicrobienne la plus intéressante avec des zones d'inhibition plus au moins grandes, en effet cet isolat a été actif contre quatre bactéries testées utilisées : *Listeria monocytogenes* par une zone d'inhibition de 40 mm de diamètre, *Micrococcus luteus* avec une zone d'inhibition de 35mm, ainsi que contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec des zones d'inhibition de 35 mm et 10 mm de diamètre respectivement.

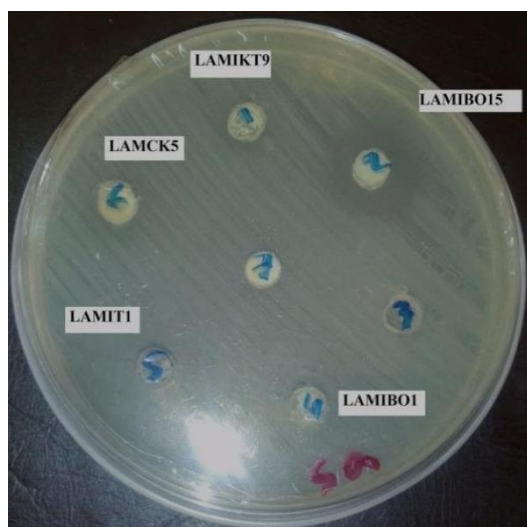
Résultats et discussion

La comparaison entre la sensibilité des bactéries teste utilisées vis-à-vis des molécules antimicrobiennes sécrétées par les isolats d'actinomycètes isolés sont présentés dans le tableau 9.

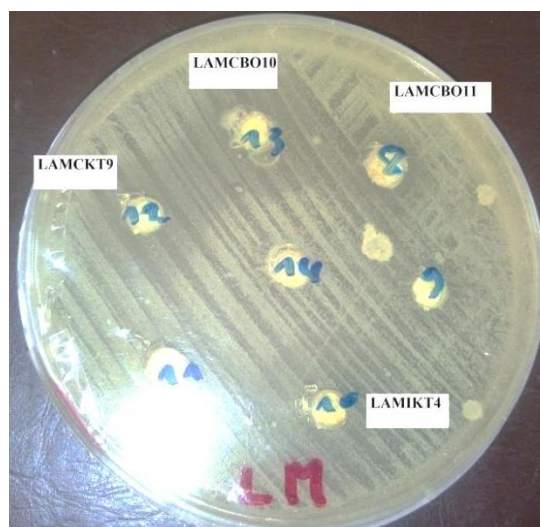
Tableau 9: Sensibilité des différentes souches testées vis-à-vis des substances antimicrobiennes sécrétées par les différents actinomycètes isolés.

Souches testes	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Isolat(s) actif(s)	4	0	1	2	13	7	8

On remarque que la souche la plus sensible vis-à-vis des molécules antimicrobiennes sécrétées par les actinomycètes isolés est *Micrococcus luteus* avec un totale de 13 isolats actifs, alors que la souche la plus résistante est *Bacillus cereus* où aucun isolats d'actinomycètes n'a été active, suivi par *Acinetobacter baumannii* où seulement un isolat a été active.



Staphylococcus aureus



Listeria monocytogenes

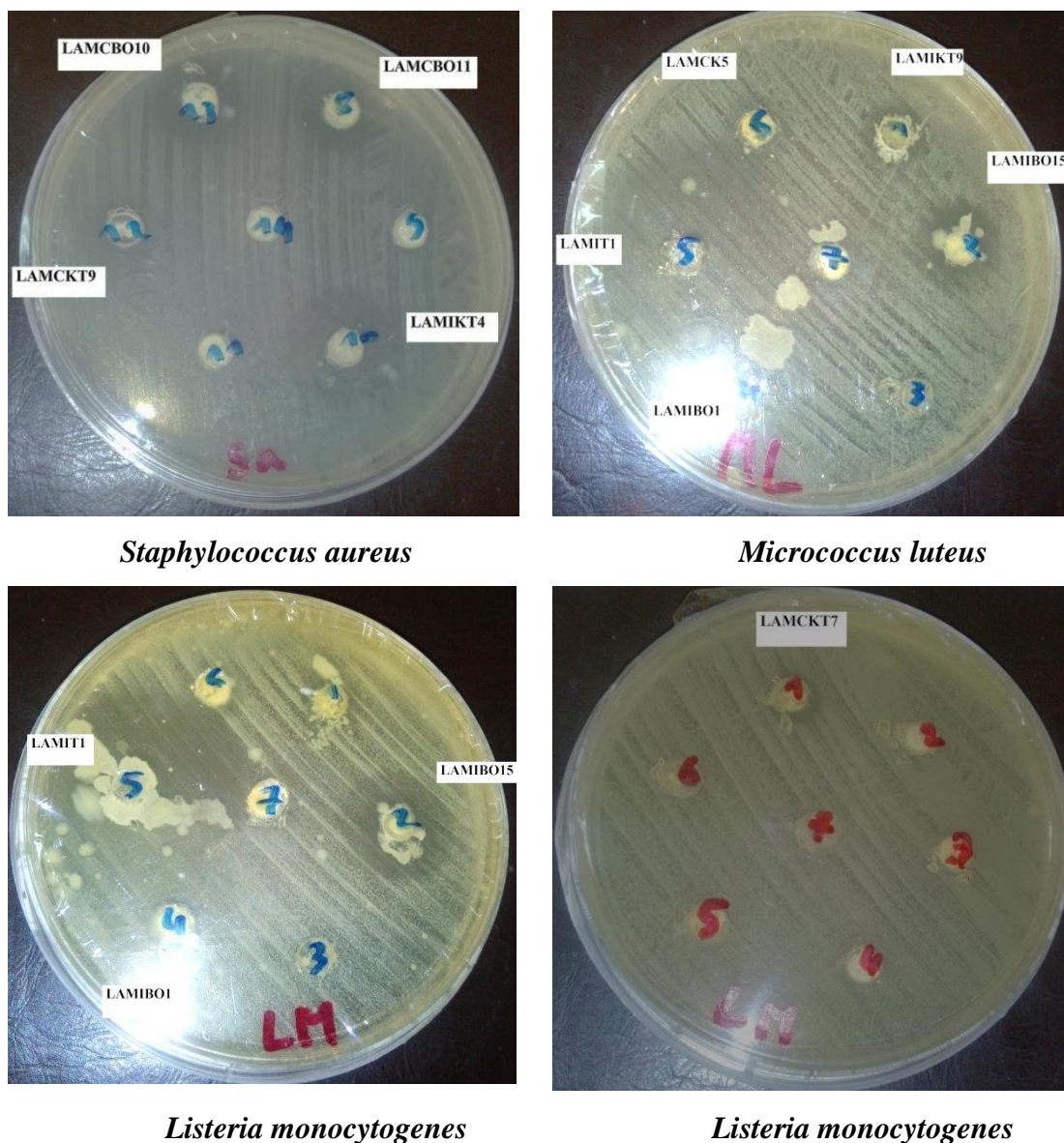


Planche 1: Test d'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes.

Discussion :

Dans le cadre de la recherche de nouveaux antibiotiques élaborés par des actinomycètes isolés à partir des milieux extrêmes (sebkha et grotte), l'activité antibactérienne des isolats d'actinomycète a été étudiée. Les résultats indiquent que la moitié des isolats ont montré une activité antimicrobienne contre au moins une bactérie testée utilisées, en effet, ces isolats appartiennent aux actinomycètes qui sont connus par leurs pouvoirs antimicrobiens remarquables (Ballav *et al.*, 2015 ; Nurkanto *et al.*, 2014).

Résultats et discussion

En plus ces actinomycètes ont été isolés à partir de régions extrêmes, sebkha et grotte, plusieurs auteurs ont indiqué que les actinomycètes qui ont comme origine les milieux extrêmes montrent généralement un pouvoir antimicrobien plus important par rapport aux actinomycètes isolés à partir des environnements normaux (terre agricole par exemple) (**Boussaber *et al.*, 2012**).

D'après les résultats qui figurent dans le tableau 3, indique clairement qu'une bactérie à Gram positif est très sensible qu'une bactérie à Gram négatives. Cette remarque a été faite par plusieurs auteurs (**Messaoudi *et al.*, 2015 ; Atta *et al.*, 2009**).

Cette différence de sensibilité pourrait être attribuée à la différence morphologique entre la paroi des bactéries à Gram négatives et celle des bactéries à Gram positifs, en effet les premiers ont une membrane externe riche en lipopolysaccharide (LPS) ce qui lui rend imperméable aux molécules lipophiles. Cependant, une bactérie à Gram positif est plus sensible, car les LPS sont absents (**Gebreyohannes *et al.*, 2013 ; Hozzein *et al.*, 2011**).

L'isolat LAMIT1 montre une activité antibactérienne importante par rapport aux autres isolats d'actinomycètes isolés au cours de ce travail, en effet cet isolat a été actif contre *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, avec des zones d'inhibition plus aux moins grandes. Cette performance peut être attribuée à leur habitat (grotte), qu'est considérée comme une zone vraiment extrême où les nutriments sont très rares ce qui nécessite un pouvoir compétitif important qui se traduit par la sécrétion d'une forte concentration de molécules bioactives.

Par son pouvoir antimicrobien remarquable l'isolat LAMIT1 a été sélectionné pour être identifié.

4. Pré-identification de l'isolat LAM1T1

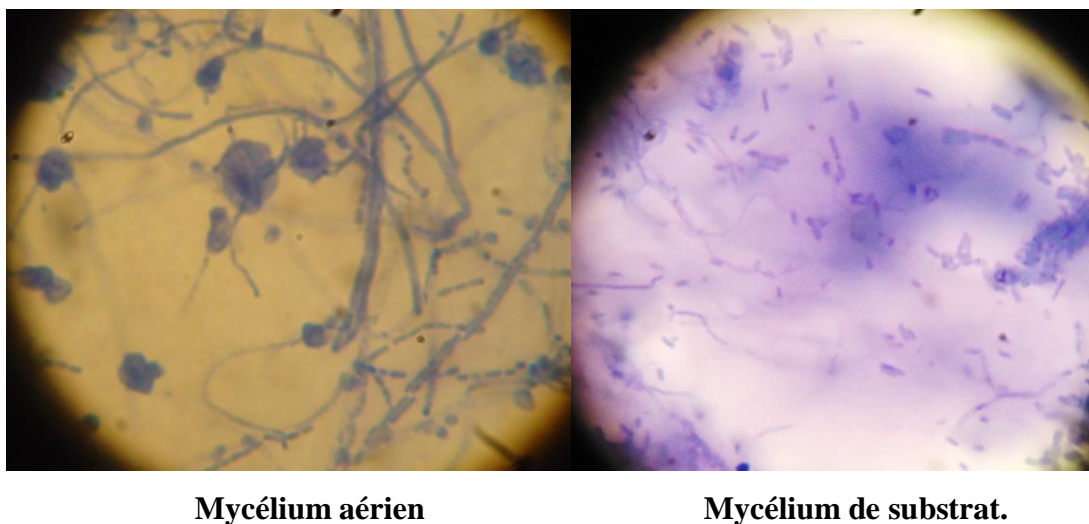


Figure 10 : Observation microscopique de l'isolat LAM1T1 (X100).

L'aspect macroscopique de l'isolat LAM1T1 se caractérise par un mycélium aérien bien développé de couleur blanche sur le milieu ISP2, tandis que le mycélium de substrat est de couleur Ambre.

L'aspect microscopique de l'isolat LAM1T1 se caractérise par un mycélium de substrat fragmenté en petit fragment immobile, tandis que le mycélium aérien porte des sporanges sphérique ainsi que des longues chaînes de pores (figure 10).

Par comparaison entre les caractères macroscopique et microscopique de l'isolat LAM1T1 avec la description des genres donnés dans la deuxième édition de **Bergy's manuel of systématique (volume 5. 2012)**, en peut dire que le genre le plus proche morphologiquement de notre isolat est ***Kibdelosporangium* (figure 11) (Labeda, 2012)**.

Cette identification doit être confirmée plus tard par la détermination des sucres et des acides aminés caractéristiques (étude chimiotaxonomique) ainsi que l'identification moléculaire afin de donner une identification exacte du genre et de l'espèce de notre isolat.

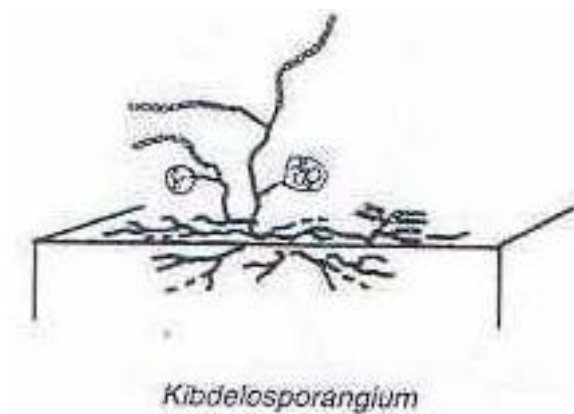


Figure 11: Morphologie microscopique du genre *Kibdelosporangium* (William et Henay, 1994).

Conclusion

« L'efficacité des antibiotiques est l'un des piliers de notre santé, nous permettant de vivre plus longtemps, en meilleure santé, et de bénéficier de la médecine moderne. Si nous ne prenons pas des mesures significatives pour mieux prévenir les infections mais aussi pour modifier la façon dont nous produisons, prescrivons et utilisons les antibiotiques, nous allons perdre petit à petit ces biens pour la santé publique mondiale et les conséquences seront dévastatrices » (OMS, 2009).

L'objectif de notre travail c'est l'isolement des nouvelles souches d'actinomycètes, à partir des environnements extrêmes comme sebkha et grotte, qui peuvent nous fournir des nouveaux antibiotiques. Pour atteindre ce but nous avons divisé le travail en trois parties :

Dans la première étape nous avons étudié les caractères physico-chimiques des cinq échantillons de sol prélevés de différents milieux extrême (potentiel d'hydrogène et matière organique), on a remarqué que le pH de tous les échantillons est basique, tandis que le taux de la matière organique varie entre: Faible pour l'échantillon de Kenadsa à très élevé pour l'échantillon d'Hassi bahbah.

Dans la deuxième étape : nous avons essayé d'isoler des actinomycètes par l'utilisation de trois milieux de culture (caséine amidon agar, chitine vitamine B et le milieu Bennett) les résultats indiquent que le meilleur milieu pour l'isolement des actinomycètes est le milieu caséine amidon agar, qui permet la récupération de la plupart des actinomycètes isolés (54/57).

La troisième étape consiste à mettre en évidence l'activité antimicrobienne des isolats obtenus, les résultats indiquent que 51% d'isolats (29 isolats) obtenus ont été actifs contre au moins une bactérie testée utilisée, la plupart des isolats agissent sur des bactéries à Gram positifs (17 isolats) ; sur la base des résultats de l'activité antimicrobienne obtenue nous avons sélectionné l'isolat LAMIT1, qui a montré l'activité antimicrobienne la plus intéressante, pour être identifier sur la base des critères macroscopique et microscopiques.

L'identification de l'isolat LAMT1 indique qu'il appartient au genre *Kibdelosporangium*, ces résultats doivent être confirmés plus tard par la biologie moléculaire.

Conclusion

Les principales perspectives de ce travail :

- ✓ L'identification moléculaire de l'isolat sélectionnée LAMIT1 par le séquençage de l'ARN 16s, jusqu'au niveau de l'espèce.
- ✓ Tester l'activité antifongique de l'ensemble des souches isolée.
- ✓ Étudier les molécules bioactives sécrétées et étudiant leur structure chimique.

Référence bibliographique

- [1] : Agadagba S K. Isolation of Actinomycetes from Soil. *Journal of Microbiology Research* 2014 ; 4(3): 136-140.
- [2] : Aouiche A, Sabaou N, Meklat A, Zitouni A, Mathieu F, Lebrihi A. Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp.PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. *Journal de Mycologie Médicale* 2012 ; 22 : 42—51
- [3] : Atta H M, Bayoumi R, El-Sehrawi M, Aboshady A and Al-Humiany A. Biotechnological Application for Producing Some Antimicrobial Agents by Actinomycetes Isolates from Al-khurmah Governorate. *European Journal of Applied Sciences* 2010 ; 2 (3) : 98-107.
- [4] : Augusto L, Badeau V, Arrouays D, Trichet P, Flot J.L, Jolivet C, Merzeau D. Caractérisation physico-chimique des sols à l'échelle d'une région naturelle à partir d'une compilation de données Exemple des sols du massif forestier landais. *Étude et Gestion des Sols* 2006 ; 13(1) : 07 – 22.
- [5] : Avril J L, dabernat H, Denis F, Monteil H. *Bactériologie clinique*. Deuxième édition. Ellipses. Paris, 1992 ; 490.
- [6] : Badji B, Zitouni A, Mathieu F, Lebrihi A, and Sabaou N. Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura* sp. AC104 isolated from an Algerian Saharan soil. *Can. J. Microbiol* 2006 ; 52: 373–382.
- [7] : Balakrishna G, Shiva Shanker A, Kumar Pindi P. Isolation of phosphate solubilizing Actinomycetes from Forest soils of Mahabubnagar District. *IOSR Journal of Pharmacy* 2012 ; 2 (2) : 271- 275.
- [8] : Ballav S, Kerkar S, Thomas S, and Augustine N. Halophilic and halotolerant actinomycetes from a marine saltern of Goa, India producing anti-bacterial metabolites. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2014 ; 20 (20) : 1- 8.
- [9] : Basilio A, Gonzalez I, Vicente M F, Gorrochategui J, Cabello A, Gonzalez A, Genilloud O. Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *Journal of Applied Microbiology* 2003 ; 95, 814–823.

Référence bibliographique

- [10] : Baskaran, R. Vijayakumar R. and Mohan P. M. Enrichment method for the isolation of bioactive actinomycetes from mangrove sediments of Andaman Islands, India. *Malaysian Journal of Microbiology* 2011 ;7(1) : 26-32.
- [11] : Boughachiche F, Reghioia S, Oulmi L, Zerizer H, Kitouni M, Boudemagh A, Boulahrouf A. Isolement d'actinomycetale productrice de substance antimicrobienne à partir de la sebka d'Ain Mlila. *Sciences & Technologie* 2006 ; 5-10.
- [12] : Boughachiche F. Étude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre *Streptomyces*, isolées de Sebka. Thèse doc : Université Mentouri-Constantine. 2012
- [13] : Boussaber E, Kadmiri I M, Hilali L, Hilali A. Isolement des souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques. *Science Lib Editions Mersenne* 2012 ; 4(120801) : 1-9.
- [14] : Busti E, Monciardini P, Cavaletti L, Bamonte R, Lazzarini A, Sosio M, Donadio S. Antibiotic-producing ability by representatives of a newly discovered lineage of actinomycetes. *Microbiology* 2006 ; 152 :675–683.
- [15] : Cavala M, Eberlin T. Isolement des Streptomyces du sol. *L'opéron* 1994 ; 4 : 13-17.
- [16] : Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec et ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec. Détermination de la matière organique par dosage du carbone organique dans les sols agricoles : méthode Walkley-Black modifiée. 2003 ; 1- 10.
- [17] : Danilenko VN, Mironov VA, Elizarov SM. Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes: A Review. *App. Biochem. Microbiol* 2005 ;41(4) :319–329
- [18] : Dehnad A, Parsa L, Bakhshi R, Abdi Soofiani S, Mokhtarzadeh A. Investigation antibacterial activity of *Streptomyces* isolates from soil samples, West of Iran. *African Journal of Microbiology Research* 2010 ; (14) :1542-1549.
- [19] : Esin Hames-Kocabas E, Uzel A. Isolation strategies of marine-derived actinomycetes from sponge and sediment samples. *Journal of Microbiological Methods* 2012 ; 342- 347.
- [20] : Flora D O, Adeyemi A I, George W P. Hyoscyamine producing marine Actinomycetes from Lagos Lagoon sediment. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2015 ; 5(3) : 196-201.

Référence bibliographique

- [21] : Gebreyohannes G, Moges F, Sahile S, Raja N. Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lak Tana, Ethiopia. *Asain Pac J Trop Biomed* 2013 ; 3 (6) : 426- 435.
- [22] : Glazer A N, Nikaido H. *Microbial Biotechnology, Fundamentals of Applied Microbiology*, Second Edition. Cambridge, New York 2007 ; 34.
- [23] : Goodfellow M, Williams S T, Modarski M. *Actinomycetes in Biotechnology*. Academic press INC. London. New York. 1988.
- [24] : Gottlieb D. General consideration and implication of the *Actinomycetales*. In *Actinomycetales characteristics and practical importance*. Academic Press, London, New York. 1973.
- [25] : Goudjal Y, Toumatia O, Yekkour A, Sabaou N, Mathieu F, Zitouni A. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomatoplant growth by endophytic actinomycetes isolated from nativeplants of Algerian Sahara. *Microbiological Research* 2014 ; 59-65.
- [26] : Hodgson D A. *Differentiation in Actinomycetes*. In: Prokaryotic Structure and Function, Cambridge University Press, Cambridge. 1992
- [27] : Hozzein WN, Rabie W, Ali Mia. Screening the Egyptian desert actinomycetes as candidates for new antimicrobial compounds and identification of a new desert *Streptomyces* strain. *Afr J Biotechnol* 2011; 10(12): 2295-301.
- [28] : Jakimowicz D. *Chromosome segregation and cell division durind the growthand differenciatio of Streptomyces*. *Postepy Hig. Med. Dosw* 2007; 61: 565-575.
- [29] : Kenneth L, Jones. Fresh isolates of actinomycetes in which the prensence of spoogenous areial mycelia is a fluctuating characteristic. 1948 ; 56 : 141- 149.
- [30] : Khanna. M, Solanki. R & Lal. R. Selective isolation of rare actinomycetes producing novel antimicrobial compounds. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research* 2011 ; 2(3): 357-375.
- [31] : Killian C H, Feher D. Microbiology of desert soils. *Encyclopedie Biologique* 1939 ; 21- 127.
- [32] : Kim B, Al-Tai A M, Kim S B, Somasundaram P, Michael Goodfellow M. *Streptomyces thermophilus* sp. Nov., a cellulase-free endo-xylanase-producing streptomycete. *Int. J. Sys. Ev. Microbiol* 2000 ; 50 : 505- 509

Référence bibliographique

- [33] : Kumari M, Myagmarjav B E, Prasad B and Choudhary M. Identification and characterization of antibiotic-producing actinomycetes isolates. *American Journal of Microbiology* 2013 ; 4 (1): 24-31.
- [34] : Labeda P D, in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second Edition. Springer, USA.2012 ; V 5 : p 1366.
- [35] : Lamari L. Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.2006 ; 153.
- [36] : Larpent J P, Sanglier J J. In: *Biotechnologie des antibiotiques*. Paris: Ed. Masson. 1989 ; 481
- [37] : Lee E J, Hwang K Y, Lee H S, Namhyunchung. aracterization of New Streptomyces.sp A1022 as a potential Biocontrol Agent. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem* 2011 ; 54(3) : 488- 493.
- [38] : Lee J Y, Hwang B K. Diversity of antifungal actinomycetesvariousvegtative soils of korea. *Can J microbiol* 2002 ; (48) : 407-17.
- [39] : Lechevalier M P, Lechevalier H. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int J Syst Bacteriol* 1970 ; 20: 435–443.
- [40] : Lemriss S, Laurent F, Couble A, Casoli E, Lancelin JM, Saintpierre-Bonaccio D, Rifai S, Fassouane A, Boiron P. Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Can J Microbiol* 2003;49(11):669-674.
- [41] : Ludwig W, Euzéby J, William B, Whitman. Taxonomic outline of the phylum *Actinobacteria* in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2012 ; 29- 31.
- [42] : Madigan M T, Martinko JM. *Biologie des microorganismes*. 11^{ème} édition. Pearson Education France ; 2007 : 331-423, 686-718.
- [43] : Messaoudi O, Bendahou M, Benamar I, Abdelwouhid D E. Identification and preliminary characterization of non-polyene antibiotics secreted by new strain of actinomycete isolated from sebkha of Kenadsa, Algeria. *Asian Pac J Trop Biomed* 2015; 5(6): 930- 935.

Référence bibliographique

- [44] : Mohseni M, Norouzi H, Hamed J, Roohi A. Screening of Antibacterial Producing Actinomycetes from Sediments of the Caspian Sea. *Int J Mol Cell Med*. 2013 ; 2 (2) : 64-71.
- [45] : Nurkanto A, Julistiono H. Screening and study of antifungal activity of leaf litter actinomycetes isolated from Ternate Island, Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2014 ; 7 (1) : S238-S243.
- [46] : Oskay M, Tamer A U, Azeri C. Actinobacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of TUKEY. *African Journal of biotechnology* 2004 ; 3 (9) : 441- 446.
- [47] : Ou X, Zhang B, Zhang L, Dong K, Liu C, Zhao G, Ding X. Sar A influences the sporulation and secondary metabolism in *Streptomyce coelicolor* M145. *Acta. Biochim. Biophys Sin* 2008 ; 40 (10) 877-882.
- [48] : Perry J J, Staley J T, Lory S.. Microbiologie. Dunod, Pais 2004 ; 497–498.
- [49] : Pine L. Classification and phylogenetic relationship of microaerophilic actinomycètes. *Int J Bacteriol* 1970 ; 20: 445-474.
- [50] : Pochon J, Tardieux P. Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Éditions : Tourelle. *Saint-Mandé* 1962. 1-11.
- [51] : Prescott M L. *Microbiology*. Fifth edition. The Mc Graw- Hill Companies, 2002 ; 97.
- [52] : Prescott L, Harley J P, Klein D A. *Microbiologie*. 2^{ème} édition. De Boek Ed Berlin, 2003 ; 539.
- [53] : Prescott L, Harley J P, Klein D A, Wiley, Sherwood CG, Woolverton. *Microbiologie*. 3^{ème} édition. De Boeck supérieur Amazon France, 2010 ; 479- 491.
- [54] : Procópio, R E, Silva I R, Martins M K, Azevedo J L, Araújo J M, Antibiotics produced by Streptomyces. *Braz J Infect Dis* 2012 ; 16(5): 466–471.
- [55] : Rastogi B, V, Kishore B. *A Complete Course in ISC Biology*. Pitambar Publishing: New Delhi. 1997 ; 592.

Référence bibliographique

[56] : Rifai S, Fassouane A, El-Abbouyi A, Wardani A, Kijjoa A, Van Soest R. Screening of antimicrobial activity of marine sponge extracts. *Journal de Mycologie Médicale* 2005 ; 15 : 33-38.

[57] : Romanenko L A, Uchino M, Kalinovskaya N I, Mikhailov V V. Isolation, phylogenetic analysis and screening of marine mollusc-associated bacteria for antimicrobial, hemolytic and surface activities. *Microbiological Research* 2008 ; 163 (6) : 633- 644.

[58] : Shirling E B and Gottlieb D. Methods for characterization of streptomyces species. *International journal of systematic bacteriology. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 1966 ; 16 (3): 313-340.

[59] : Silvey J K G, Roach AN. The taste and odor producing aquatic actinomycete. *Crit Rev Environ Control* 1975 ; 5: 233-373.

[60] : Singh S. Kumar P, Gopalan N, Shrivastava B, Kuhad R C, Chaudharg H. Isolation and partial characterization of actinomycetes with antimicrobial activity against multidrug resistant bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2012 ; S1147- S1150.

[61] : Souagui Y, Tritsch D, Grosdemange-Billiard C, Kecha M. Optimization of antifungal production by an alkaliphilic and halotolerant actinomycete, *Streptomyces* sp. SY-BS5, using response surface methodology. *Journal de Mycologie Médicale* 2015 ; 1-8.

[62] : Sykes G, Skinner F A. *Actinomycetales : Characteristics and practical importance*. Academic. London. New York. 1973.

[63] : Theilleux J. *Microbiologie industrielle*. Les microorganismes industriels. Technique et documentation. Lavoisier, Paris, 1993 ; 425- 418.

[64] : Thiemann J. E. A direct screening method for the investigation of microbial biodiversity. *International Research Journal of Microbiology* 2012 ; 3(1) :36-38.

[65] : Thompson C J, Kieser T, Ward J M , Hopwood DA. Physical analysis of antibiotic-resistance genes from *Streptomyces* and their use in vector construction. *Gene* 1982 ; 20(1) : 51–62.

Référence bibliographique

[66] : Tiquia S M, davis D, Hadid H, Kasparian S, Ismail M, Sahly R, Shim J, Singh S, Murray K S. Halophilic and halotolerant bacteria from river waters and shallow groundwater along the roug river of southeastern Michigan. *Environmental Technology* 2006 ; 28 : 297- 307.

[67] : Tresner H D, Hayes J S, Backus E J. Differential tolerance of Streptomycetes to sodium chloride as a taxonomic tool. *App. Microbiol* 1968 ; 16 : 1134 1136.

[68] : Waksman A S. The Actinomycetes Natue, occurrence, and Activities. Baltimore, USA, 19589 ; 1 :

[69] : Wiliam R, Heney L. *Bergey's Manual of Derminativ Bacteriology*. Ninth edition. USA.1994 ; 629.

[70] : Yamamura H, Shimizu A, Nakagawa Y, Hamada M, Otoguro M, Tamura. T & al. Actinoplanes rishiriensis sp. nov, a novel motile actinomycete isolated by rehydration and centrifugation method. *J Antibiot* (Tokyo) 2012 ; 6 (5):249-53.

[71] : Zaitlin B, Watson S B. Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: Myths, tenets and truths. *Water Research* 2006 ; 40(9) : 1741 – 1753.

[72] : Zerizer H, Oulmi L, Boughachiche F, Reghioua S, Boudemagh A, Kitouni M, Boulahrouf A. Identification d'une actinomycetale, productrice d'antibactériens, isolée de sols arides de la région de Biskra. *Sciences & Technologie* 2006 :17-22.

[73] : Zhang. J. Improvement of an Isolation Medium for Actinomycetes. *Modern Applied Science* 2011 ; 5 (2): 124-215.

La composition des milieux de culture

Caséine amidon agar :

Amidon	10g
Caséine	0,3 g
KNO ₃	2 g
K ₂ HPO ₄	2 g
NaCl	2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05 g
CaCO ₃	0,02 g
FeSO ₄ .7H ₂	0,01 g
Agar	18 g
Eau distillée	1000 ml
NaCl	100 g

- pH = 7.3.

ISP 2

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Glucose	4 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
Nacl	100 g

- pH = 7,3

Bennett

Glucose	2 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de malte	1 g
Pepton	2 g
Agar	20 g
Eau distillé	1000 ml
NaCl	100 g

- pH = 7.3

Chitine vitamine B

Chitine	2 g
KH_2PO_4	0.15 g
K_2HPO_4	0.35 g
NaCl	0.3 g
CaCO_3	0.02 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.001 g
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.001 g
Agar	18 g
Poly vitamine B	1.5 g
L'eau distillée	1000 ml
NaCl	100 g

- pH = 7.3

Muller-Hinton

Infusion de viande	300 g
Hydrolysate de caséine	17,5 g
Amidon	1,5 g
Agar	17 g
Eau distillée	1000 ml

- pH = 7,4

BHIB

Brain Heart Infusion	37.0 g
L'eau distillée	1000 ml

- pH = 7.4

,

ملخص

مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية واحدة من أكبر التحديات التي تواجه الصحة العالمية اليوم اذ يعتبر البحث عن مضادات جديدة عن طريق عزل الفطريات الشعاعية من النظم الإيكولوجية القاسية (سبخة والكهف) واحدة من الاستراتيجيات المتبعة ؛ وأشارت النتائج أنه تم عزل 57 سلالة من مناطق مختلفة من الجزائر تشبه في مظهرها الخارجي و المجهرى الى البكتيريا المستهدفة ، 51% من هذه العزلات قدمت نشاط بكتيري ضد واحدة على الأقل من البكتيريا المختبرة، تم اختيار السلالة LAMIT1 ظرا لفعاليتها الفائقة المضادة للميكروبات وبناءا على المعايير الظاهرية و المجهرية يمكن مقارنة هذه السلالة الى النوع : *Kibdelosporangium*

الكلمات المفتاحية: سبخة وكهف، عزل، فطريات شعاعية، نشاط مضاد للميكروبات

Résumé

On a détecté des résistances aux antimicrobiens partout dans le monde et, le problème s'intensifiant, c'est l'un des plus grands défis qui se pose aujourd'hui à la santé mondiale. L'une des stratégies suivies dans la recherche de nouvelles molécules antibiotiques consiste à isoler des bactéries actinomycétales à partir d'écosystèmes peu ou pas explorés (Sebkha et grotte) ; 57 souches isolées à partir de différentes régions qui se ressemblent par leur aspect macroscopique et microscopique aux actinomycètes, 51% présentés une activité antimicrobienne contre au moins une bactérie test utilisée. Parmi ces isolats la souche **LAMIT1** a été sélectionnée pour son pouvoir antimicrobien intéressant. Sur la base des critères morphologiques, cet isolat peut être rapproché au genre *Kibdelosporangium*

Mots clés : Sebkha et grotte, Isolement, Actinomycète, Activité antimicrobienne.

Abstract

The problem of detection of antimicrobial resistance in the world, is one of the biggest challenges facing the World Health Day , as the search for new antibiotics by isolating actinomycetes of ecosystems harsh (marsh and the cave), it's one of the strategies used; 57 strains isolated from different regions that are similar in macroscopic and microscopic appearance actinomycetes, 51% presented antimicrobial activity against at least one bacterium test used , These isolates the **LAMIT1** strain was selected for its interesting antimicrobial power. Based on morphological criteria, this isolate can be compared to the genus *Kibdelosporangium*.

Keywords: marsh and cave, isolate, *actinomycete*, antimicrobial activity.