



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
L'Univers

Département de Biologie
Laboratoire de Produits Naturels

MÉMOIRE

Présenté par

BEKKAR Wassila et AMRAOUI Halima Ikram

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master

En Microbiologie et contrôle de qualité

Thème

**Isolement et identification des souches d'actinomycètes
productrices des molécules antimicrobiennes et antioxydantes
à partir du sol de la côte Mkhalled (Honaïne, Tlemcen)**

Soutenue le 30/06/2025, devant le jury composé de :

Président	M. REBIAHI Sid Ahmed	Pr. Université de Tlemcen
Encadrant	M. BELYAGOUBI Larbi	Pr. Université de Tlemcen
CO-Encadrante	Mme. BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila	Pr. Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme. BOUBLENZA Nesrine	MCB Université de

Année universitaire : 2024-2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Nos premiers remerciements s'adressent à «Allah», le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la santé, la volonté, la force et la patience nécessaires à la réalisation de ce travail, ainsi que pour nous avoir guidés tout au long de ce parcours.

*Nous exprimons notre profonde gratitude à Monsieur **BELYAGOUBI Larbi**, Professeur à l'Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen, pour avoir accepté de diriger ce travail. Nous le remercions sincèrement pour son accompagnement, ses conseils avisés, son soutien constant, tant sur le plan scientifique que moral. Nous adressons nos remerciements aussi à notre co-encadrante Madame **BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila**, Professeure à l'Université de Tlemcen, pour sa disponibilité et ses orientations précieuses. Sa compétence et ses conseils pertinents ont constitué un point de référence fort.*

*Nous tenons à remercier très vivement Monsieur **REBIAHI Sid Ahmed** Professeur à l'université de Tlemcen pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury.*

*Nos chaleureux remerciements s'adressent également au la Professeur Madame **BOUBLENZ A Nesrine** nous avoir fait l'honneur d'accepter la d'examiner ce travail.*

Je tiens à remercier chaleureusement les ingénieurs du laboratoire de microbiologie de la faculté, ainsi que ceux du laboratoire « Valorisation des actions de l'homme pour la protection de l'environnement et application en santé publique » pour leur précieux soutien technique et leur disponibilité tout au long de ce travail.

Dédicace

À ma très chère mère Halima,

source inépuisable d'amour et d'espoir, dont les prières et le soutien ont été ma lumière dans les moments les plus difficiles.

À mon père bien-aimé Laïd,

pour ses encouragements constants, son amour inconditionnel et ses sacrifices inestimables.

Mes pensées reconnaissantes vont également.

*À mes frères **Gharib, Amine** et **Mahdi**, ainsi qu'à mes sœurs **Chaïmaa** et **Bassma**, véritables piliers de ma vie. Je n'oublie pas ma tante Rebhia, dont la tendresse a profondément marqué mon cœur, ni ma petite nièce **Tasnim Hafsa**, rayon de joie et d'innocence.*

*J'adresse aussi toute ma gratitude à mes chères amies, notamment ma précieuse **Achouak, Wahiba**, pour leur amitié sincère et leur soutien constant.*

*Un grand merci à ma tante **Hayat** et à mon oncle **Noureddine**, qui n'ont jamais cessé de m'apporter amour et encouragements, ainsi qu'à ma cousine **Fatima Zahra**, l'amour de mon cœur, pour son aide précieuse et sa présence bienveillante.*

*Je remercie également **Remissaa, Asmaa** et **Anes**, pour leur affection réconfortante, et j'exprime toute ma reconnaissance.*

*À ma binôme **Wassila**, chère partenaire de route, pour sa collaboration, sa patience et sa contribution essentielle à ce travail.*

*Enfin, à toute ma famille, **Amraoui** et **Rahmani**, je dédie ce mémoire avec tout mon amour et ma profonde gratitude.*

Halima Ikram



Dédicace

À l'âme de mon cher père Hachemi,

*Mon père qui m'a appris à ne jamais abandonner, même lorsque tout semblait s'écrouler.
Ton souvenir demeure vivant en moi, une lumière éternelle guidant mes pas. Aucun mot ne
saurait contenir tout l'amour et la reconnaissance que je te porte. Papa, ton rêve est devenu
réalité.*

À ma mère, mon refuge et ma paix Fatma,

*Ô battement de mon cœur et source de mon bonheur. Toi qui as semé en moi l'amour du
savoir et arrosé mes ambitions par tes prières sincères. Tu as été la lumière sur mon chemin.
Pour tout cela, je te dois l'amour, la reconnaissance, et les plus tendres prières. Que Dieu te
protège, te comble de santé et de sérénité.*

*À mes sœurs **Fatima, Fatiha** et **Samira**, Présentes dans mes joies et mes doutes. Votre
présence a toujours été un appui silencieux et précieux.*

*À mon oncle **Mohamed**, mon réconfort silencieux.*

*À mon frère **Amine**, Pilier fidèle dans mes moments d'incertitude. Merci d'avoir toujours cru
en moi.*

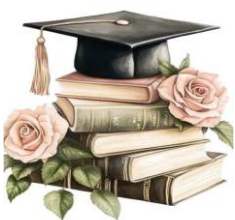
*À mes frères, présents dans ma vie ou dans mon cœur, Je vous rends hommage avec gratitude
et affection.*

*À tous ceux qui me sont chers, nés de mes frères et de ma sœur, Je vous dédie cette réussite
avec tout mon amour.*

*À mes amies **Yasmine, Linda, Achouak** et **Wahiba**, Merci pour votre amitié sincère, votre
soutien et votre lumière.*

*Et à toi, **Ikram**, ma binôme et amie précieuse, Ta persévérance et ta belle amitié ont illuminé
ce parcours.*

*À tous ceux qui ont cru en moi, À la famille **BEKKAR** et à la famille **BELAID**,
Ma reconnaissance vous accompagne, silencieuse et sincère.*



Wassila

الملخص

تحتضن النظم البيئية الأرضية الساحلية في الجزائر تنوعاً مهماً من الكائنات الحية الدقيقة، والتي قد تمثل مصدراً هاماً للجزيئات ذات النشاط البيولوجي، المستخدمة في عدة مجالات، لا سيما الطب، والصناعة، والصناعات الزراعية والغذائية. في إطار دراستنا، قمنا بتقييم الأنشطة المضادة للميكروبات والمضادة للأكسدة للسلاسل المنتمية إلى فصيلة البكتيريا الشعاعية التي تم عزلها من تربة المنطقة الجبلية الساحلية "مخلد". كما تم اختبار المستخلصات المستخلصة من هذه السلاسل بعد تخميرها في أوساط سائلة وصلبة (Gélose nutritif gélatine، Bennett، Fermentation des actinomycètes). تم عزل 15 سلالة من البكتيريا الشعاعية باستخدام Gélose nutritif gélatine، Bennett، Tryptic Soy Agar و International Streptomyces Project .

أظهرت نتائج النشاط المضاد للميكروبات بطريقة أسطوانة الأغار على خمس سلاسل نقية أن السلالة AB14 أظهرت منطقة تثبيط بقطر 9.5 مم ضد *Staphylococcus aureus*، و 8 مم ضد *Pseudomonas aeruginosa*. كما أظهرت السلالتان AB5 و AB15 نشاطاً ضد *P. aeruginosa*، مع أقطار تثبيط بلغت 15 مم و 14 مم على التوالي. وباستخدام طريقة الحفر، أظهرت السلالة AB5 نشاطاً مهماً ضد *Klebsiella pneumoniae* بمنطقة تثبيط قطرها 18 مم، في حين بلغت منطقة التثبيط للسلالة AB1 ضد *P. aeruginosa* حوالي 12.5 مم. فيما يتعلق بالمستخلصات المستخلصة من الأوساط الصلبة، فإن مستخلص السلالة AB14 المزروعة على وسط بينيت أظهر منطقة تثبيط قدرها 8.5 مم ضد *S. aureus*. وأظهرت مستخلصات AB13 من وسط Bennett ووسط AF مناطق تثبيط قدرها 24 مم و 13.5 مم على التوالي ضد *P. aeruginosa*. أما بالنسبة للنشاط المضاد للأكسدة، فقد سجل مستخلص AB14 من وسط بينيت نسبة تثبيط بلغت 27.9% عند تركيز 0.25 ملغم/مل.

انطلاقاً من هذه النتائج، تبرز ثراء التربة الجزائرية بسلاسل البكتيريا الشعاعية كمصدر واعد للعوامل ذات النشاطات المضادة للميكروبات والأكسدة، وهي إمكانيات بيولوجية ما تزال بحاجة إلى مزيد من الاستكشاف.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الشعاعية، تربة مخلد، مستخلصات، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مضاد للأكسدة.

Abstract

Algerian coastal terrestrial ecosystems host an interesting diversity of microorganisms that may constitute a significant source of biologically active compounds, used in various fields such as medicine, industry, and agri-food.

In the context of our study, we evaluated the antimicrobial and antioxidant activities of actinomycete strains isolated from the soil of the mountainous coastal region of Mkhalled. Extracts from these strains, obtained through fermentation in both liquid and solid media (Gelatin Nutrient Agar, Bennett, and Actinomycete Fermentation), were also tested.

A total of 15 actinomycete strains were isolated using Gelatin Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar, Bennett, and the International Streptomyces Project medium. The results of antimicrobial activity using the agar cylinder method on five purified strains showed that strain AB14 exhibited an inhibition zone of 9.5 mm against *Staphylococcus aureus* and 8 mm against *Pseudomonas aeruginosa*. Strains AB5 and AB15 also showed activity against *P. aeruginosa*, with inhibition diameters of 15 mm and 14 mm, respectively. Using the well diffusion method, strain AB5 showed interesting activity against *Klebsiella pneumoniae*, with an inhibition zone of 18 mm, while AB1 reached 12.5 mm against *P. aeruginosa*.

Regarding the extracts obtained from solid media, the extract of strain AB14 cultivated on Bennett produced an 8.5 mm inhibition against *S. aureus*. The AB13 extracts from Bennett and Amidon Fructose media showed inhibition zones of 24 mm and 13.5 mm, respectively, against *P. aeruginosa*. As for antioxidant activity, the AB14 Bennett extract exhibited an inhibition percentage of 27.9% at a concentration of 0.25 mg/mL.

Based on these results, the microbial richness of Algerian soils in actinomycetes offers promising biological potential as antimicrobial and antioxidant agents yet to be fully explored.

Keywords: Actinomycetes, Mkhalled soil, Extracts, Antimicrobial activity, Antioxidant activity.

Résumé

Les écosystèmes terrestres côtiers Algériens abritent une variété intéressante de microorganismes qui peuvent être une source importante de molécules biologiquement actives, utilisées dans de nombreux domaines, notamment la médecine, l'industrie et l'agro-alimentaire. Dans le cadre de notre étude nous avons évalué les activités antimicrobiennes et antioxydantes des souches d'actinomycètes isolées à partir du sol de la région montagneuse côtière de Mkhalled. Les extraits de ces souches obtenus par fermentation en milieux liquides et solides (Gélose nutritif gélatine, Bennett et Amidon Fructose) ont aussi testé.

15 souches d'actinomycètes ont été isolées sur les milieux Gélose nutritif gélatine, Tryptic Soy Agar, Bennett, et International Streptomyces Project. Le résultat de l'activité antimicrobienne par la méthode du cylindre d'agar de cinq souches purifiées a montré que la souche AB14 présente une zone d'inhibition de 9.5 mm contre *Staphylococcus aureus* et de 8 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*. Les souches AB5 et AB15 se sont également révélées actives contre *P. aeruginosa*, avec des diamètres d'inhibition respectifs de 15 et 14 mm. Par la méthode des puits, la souche AB5 a montré une activité intéressante contre *Klebsiella pneumoniae* avec une zone d'inhibition de 18 mm, tandis qu'AB1 atteint 12.5 mm contre *P. aeruginosa*. Concernant les extraits issus de milieux solides, celui de la souche AB14 cultivée sur Bennett a produit une inhibition de 8.5 mm contre *S. aureus*. Les extraits AB13 Bennett et AB13 AF ont révélé des zones d'inhibition de 24 et 13.5 mm, respectivement contre *P. aeruginosa*. En ce qui concerne l'activité antioxydante, l'extrait AB14 Bennett présente un pourcentage d'inhibition de 27.9 % à la concentration de 0.25 mg/ml.

D'après ces résultats, la richesse microbienne des sols algériens par les actinomycètes offre un potentiel biologique prometteur comme agents antimicrobiens et antioxydants qui restent à exploiter.

Mots clés : Actinomycètes, Sol Mkhalled, Extraits, Activité antimicrobienne, Activité antioxydante.

Tables de matières

Remerciement	1
Dédicace	
المخلص	
Abstract	
Généralités.....	1

Matériel et méthodes

1. Prélèvement et échantillonnage	8
2. Mesure des paramètres physico- chimiques du sol	9
2.1. Mesure du pH	9
2.2. Mesure de la conductivité électrique	9
2.3. Parametres du la pollution du sol	9
2.3.1. Test des nitrites (NITRITE – Nitricol)	9
2.3.2. Test des nitrates (NITRATE – Nitratest).....	9
3. Isolement et purification des actinomycètes.....	10
3.1. Isolement des actinomycètes	10
3.2. Préparation des dilutions décimales	10
3.3. Ensemencement et incubation	10
3.4. Purification des actinomycètes	11
4. Conservation.....	11
5. Identification de souches actinomycètes actives	11
5.1. Critères morphologiques	11
5.1.1. Etude macroscopique	11
5.1.2. Etude microscopique	11
5.1.3. Production de pigments mélanoides.....	12
5.2. Critères biochimiques.....	12
5.2.1. Hydrolyse de la gélatine	12
5.2.2. Recherche de l'enzyme catalase.....	12
5.2.3. Action sur le lait écrémé.....	12
5.2.4. Détermination de l'activité protéolytique (Hydrolyse de la caséine)	12
5.2.5. Utilisation de citrate comme seule source de carbone.....	13

5.2.6.	Détermination de l'activité amylolytique	13
5.2.7.	Utilisation des différents substrats carbonés sur milieu TSI	13
5.2.8.	Recherche de la production d'indole	13
5.2.9.	Recherche de l'Uréase	13
6.	Criblage primaire de l'activité antimicrobienne.....	14
6.1.	Les souches pathogènes testées	14
6.2.	Test d'activité antimicrobienne	14
1.2.1.	Méthode de cylindre d'agar.....	14
1.2.2.	Méthode des puits.....	15
2.	Fermentation et extraction des métabolites	15
7.1.	Optimisation, fermentation et extraction de substances actives en milieu liquide	15
7.2.	Optimisation, fermentation et extraction de substances actives en milieu solide.....	15
8.	Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits.....	15
8.1.	Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode des disques	15
9.	Test du piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl)	16

Résultats et discussion

1.	Résultats des analyses physico-chimiques d'échantillons de sol	18
1.1	Paramètres physico-chimiques	18
1.2.	Paramètres de la pollution	18
2.	Résultats d'isolement des actinomycètes	19
3.	Purification et identification des souches d'actinomycètes.....	21
3.1.	Critères morphologiques	22
3.1.1	Etude macroscopique	22
3.1.2.	Etude microscopique	23
3.2.	Résultat de critères biochimiques.....	24
4.	Résultat de l'activité antimicrobien.....	26
4.1.	. Méthode de cylindre d'agar.....	26
4.2	Méthode des puits.....	27
5.	Résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits	29
5.1.	Les extraits obtenus par fermentation en milieu solide	29
5.2.	Extraits obtenus par fermentation en milieu liquide.....	31
6.	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits	32
6.1.	Les extraits obtenus par fermentation en milieu solide	32
6.2.	Les extraits obtenus par fermentation en milieu liquide.....	33

<i>Conclusion.....</i>	35
<i>Références bibliographiques.....</i>	37
<i>Annexes.....</i>	46

Liste des tableaux

Tableau 1:Antibiotiques d'importance clinique produits par les actinomycètes	5
Tableau 2:Situation géographique de la station d'échantillonnage.....	8
Tableau 3:Souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne	14
Tableau 4:Les paramètres physico-chimiques d'échantillons de sol.	18
Tableau 5:Paramètres de la pollution du sol.	18
Tableau 6:Résultats de l'étude d'aspect macroscopique des isolats.	22
Tableau 7:Caractéristiques biochimiques des souches actinomycètes.....	24
Tableau 8:Activité antimicrobienne des souches actinomycètes par la méthode de cylindre d'agar.....	52
Tableau 9:Activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes par la méthode des puits..	52
Tableau 10:Activité antimicrobienne des extraits obtenus après fermentation des souches d'actinomycètes sur milieu solide.	52
Tableau 11:Activité antioxydant des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu solide.	53
Tableau 12:Activité antioxydante des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu liquide.....	53
Tableau 13:Origine des souches d'actinomycètes.	54

Liste des figures

Figure 1: Carte d'Algérie montrant la région d'échantillonnage .	8
Figure 2: Zone d'échantillonnage	9
Figure 3: Photo d'isolement des actinomycètes du sol .	19
Figure 4: Nombre de souches isolées par milieu de culture après l'isolement d'échantillon de sol.	20
Figure 5: Culture pure d'actinomycètes isolés sur gélose ISP2	22
Figure 6: Aspect macroscopique des souches actinomycètes	23
Figure 7: Observation microscopique des souches d'actinomycètes ($G \times 100$) après coloration de Gram	24
Figure 8: Activité antimicrobienne des souches actinomycètes par la méthode de cylindre d'agar.	26
Figure 9: Effet antimicrobien de deux souches d'actinomycètes par la méthode de cylindre d'agar.	27
Figure 10: Activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes par la méthode des puits. .	28
Figure 11: Effet antimicrobien de deux souches d'actinomycètes par la méthode des puits....	29
Figure 12: Activité antimicrobienne des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu solide.	29
Figure 13: Effet antimicrobien des extraits de deux souches d'actinomycètes par la méthode des disques.	31
Figure 14: Activité antioxydant des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu solide	33
Figure 15: Activité antioxydante des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu liquide.	34

Liste d'abréviations

ISP : *International Streptomyces Projet*.

GNG : Gélose nutritive gélatine.

TSI : Triple Sugar Iron agar.

ATCC : American type culture collection.

UFC: Unité format colonie.

AF : Amidon Fructose.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

AC : Absorbance du contrôle négatif.

AE : Absorbance de l'échantillon.

EC : Concentration efficace.

ARN : Acide Ribonucléique Ribosomal.

H₂S: Sulfure d'hydrogène.

ARNr: Acide Ribonucléique Ribosomal.

PCR : Polymérase chaîne réaction.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance (souvent abrégé aussi).

AF : Fermentation des actinomycètes

Généralités

Le sol abrite la communauté biologique la plus diversifiée de la planète, constituant un habitat pour une grande variété de macro-organismes et de micro-organismes (**Romero et al., 2023**), dont la biomasse est influencée par les propriétés du sol (**Li et al., 2018**). Cette richesse en micro-organismes conduit à s'intéresser l'écologie microbienne du sol qui est l'étude des organismes microbiens dans le sol et de leurs rôles essentiels dans les processus biochimiques (**Roger et al., 2001**) et les cycles biogéochimiques, notamment celui de l'azote. Ces microorganismes assurent la transformation de l'azote à travers divers processus (fixation, minéralisation, nitrification, dénitrification), influençant ainsi la fertilité du sol, la productivité des écosystèmes, le changement climatique, et la qualité de l'eau et de l'air (**Robertson & Groffman, 2024**).

Dans cette diversité microbienne, cinq grands groupes de microorganismes, dont les bactéries, les champignons, les virus, les algues et les protozoaires, composent la microflore présente dans le sol (**Bera, 2022**). Ces microorganismes produisent une grande diversité de composés naturels bioactifs, notamment les antibiotiques d'intérêt clinique (**Salem et al., 2023**).

Concernant spécifiquement les communautés bactériennes, les embranchements les plus abondants dans la majorité des sols sont : *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* et *Firmicutes* (**Onet et al., 2025**).

Les actinobactéries sont des micro-organismes aérobies, sporogènes, à Gram positif, formant un mycélium aérien (**Gacem, 2021**). Elles constituent un groupe hétérogène caractérisé par des filaments mycéliens qui leur confèrent une structure filamenteuse (**Sapkota et al., 2020**). Cette organisation morphologique particulière se manifeste à travers plusieurs critères observables, tels que la germination des spores, l'allongement et la ramification du mycélium végétatif, la formation du mycélium aérien, la production de pigments, ainsi que la coloration des mycéliums aériens et de substrat. Ces éléments sont couramment utilisés pour différencier et identifier les différentes espèces au sein de ce groupe bactérien (**Ranjani et al., 2016**).

Au sein des actinobactéries, les actinomycètes occupent une place particulière. Ce sont des micro-organismes saprophytes, présentant des cycles de vie complexes, à l'exception des formes unicellulaires *Corynebacterium* et *Mycobacterium*. Au cours de leur cycle de vie, les actinomycètes développent un mycélium radial bien structuré, qui se divise en mycélium de substrat et en mycélium aérien (**Ngmcharunghit et al., 2023**).

Les actinomycètes peuvent être isolées à partir de différents milieux, notamment les environnement côtier (**Vanathi et al., 2024**), les plages (**Dhaini et al., 2025**), les sols de rhizosphère associés à des plantes médicinales (**Khamna et al., 2010**), du bois et des branches de plantes ligneuses (**Pullen et al., 2002**), des sols pollués par des métaux lourds (**Desjardin,**

2002), ou contaminés par des hydrocarbures, notamment du pétrole brut (**Baniasadi et al., 2009**), ainsi que les grottes karstiques (**Belyagoubi et al., 2018**), et les îles (**Boublenza, 2021**). Ces micro-organismes constituent l'un des groupes bactériens les plus abondants du sol, représentant plus de 30 % de la population microbienne totale. Leur densité peut varier de 10^6 à 10^9 cellules par gramme de sol, selon les conditions environnementales et la nature du substrat (**Silva et al., 2022**).

Cette abondance remarquable dans les sols est fortement influencée par divers facteurs environnementaux tels que la température, le pH, la teneur en matière organique, les pratiques culturales, l'aération du sol et son taux d'humidité (**Manandhar & Sharma, 2013**).

En lien avec cette large répartition et leur adaptation aux conditions édaphiques, ces micro-organismes interviennent dans divers processus du sol, notamment la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate, la production de phytohormones et d'enzymes, ainsi que la dégradation de la matière organique (**Nazari et al., 2022**). Outre ces fonctions écologiques fondamentales les micro-organismes sont capables de produire environ 23 000 métabolites bioactifs, parmi lesquels 10 000, soit environ 45 %, sont synthétisés par les Actinobactéries (**Mebrat., 2024**).

Cette capacité métabolique remarquable s'explique par la diversité des voies biosynthétiques chez ces bactéries, dont le métabolisme se subdivise en deux catégories distinctes: le métabolisme primaire, dont la synthèse se produit principalement durant la phase exponentielle du cycle bactérien, et le métabolisme secondaire, dont la production débute généralement au début de la phase stationnaire de croissance, lorsque les nutriments deviennent limitants et que la cellule entre dans un état de stress (**Strub, 2008 ; Andryukov et al., 2019**).

La remarquable diversité métabolique observée au sein de cette classe bactérienne est attribuée à la taille importante de leur génome, lequel renferme des centaines de facteurs de transcription impliqués dans la régulation de l'expression génique, leur conférant ainsi une capacité d'adaptation aux besoins spécifiques (**Mebrat., 2024**).

Dans ce contexte, les métabolites secondaires synthétisés par les actinomycètes présentent une grande diversité, tant sur le plan de leurs fonctions que de leurs structures chimiques sous-jacentes, parmi lesquelles figurent notamment les polycétides, les polypeptides, les lipoprotéines, les glycosides, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Krysenko & Wohlleben, 2024**). À côté de ces composés à structures variées, on retrouve aussi de nombreuses enzymes extracellulaires précieuses capables de dégrader divers matériaux organiques. Parmi ces enzymes utilisées dans différentes industries, il y a les cellulases, les protéases, les amylases, les lipases, les xylanases, les chitinases, les cutinases et les pectinases (**Mukhtar et al., 2017**).

Par ailleurs, les actinomycètes sont reconnus pour leur capacité à produire d'autres métabolites d'intérêt majeur dans les domaines médical, agroalimentaire et agricole. Elles sont largement utilisées et étudiées pour l'obtention d'antibiotiques (**Tableau 01**), d'antifongiques tels que l'amphotéricine B (**Ngamcharungchit et al., 2023**), d'antiviraux par exemple l'Antimycine A1a, un dérivé de l'antimycine A (large spectre contre divers virus à ARN), qui a montré une grande efficacité contre le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest (**Meenakshi et al., 2024**).

En outre, elles produisent également des immunosuppresseurs comme par exemple, de l'ascomycine isolée à partir de *Streptomyces hygroscopicus*, ou encore du tacrolimus obtenu à partir de *S. tsukubaensis*. Ces composés exercent leur effet en se liant à une protéine appelée immunophiline, qui joue un rôle clé dans l'activation et la prolifération des lymphocytes T (**Ngamcharungchit et al., 2023**).

Sur le plan oncologique, plusieurs composés à activité anticancéreuse sont issus de ces bactéries, à titre d'exemple, la doxorubicine, un agent anticancéreux bien connu, est extraite de *S. peucetius* et la marinomycine, un autre composé antitumoral possédant également une activité antibactérienne, est dérivée de l'actinobactérie marine *Marinisporasp* (**Meenakshi et al., 2024**).

À cela s'ajoute la production de métabolites dotés d'activités antioxydantes (phenol, hydroquinone, α -tocopheryl acetate) (**Girma et al., 2025**), antipaludique, cytostatique, anti-inflammatoire, antiparasitaire, anti-angiogénique, ainsi que pour la production, de bio-insecticides, de biostimulants et de biosurfactants (**Nazari et al., 2022 ; Salem et al., 2023**). D'autres métabolites sont valorisés pour être utilisés dans les domaines nutraceutiques et cosmétiques (**Remya & Vijayakumar, 2008**).

Parmi les autres applications notables, certaines molécules d'origine actinobactérienne sont utilisées comme herbicides à savoir la phosphinothricine, l'herbicidine A et la geldanamycine. D'autres sont employés comme traitements antidiabétiques, tels que l'acarbose, ou encore comme agents antihelminthiques, tels que l'ivermectine et la milbémycine (**Araujo-Melo et al., 2019**). Les actinomycètes produisent également des spinosynes, des insecticides naturels à large spectre (**Jose, Maharshi & Jha, 2021**).

Tableau 1: Antibiotiques d'importance clinique produits par les actinomycètes (Mebrat, 2024).

Antibiotique	Produit par
Sagamicine	<i>Micromonospora sagamiensis</i>
Minosaminomycine	<i>Streptomyces</i> sp.
Amicléinomycine	<i>Streptomyces lavendulae</i>
Méthylénomycine	<i>Streptomyces violaceoruber</i>
Roséoflavine	<i>Streptomyces davawensis</i>
Rosamicine	<i>Micromonospora rosaria</i>
Rifamycine	<i>Micromonospora rifamycinica</i>
Platéinomycine	<i>Streptomyces platensis</i>
Lincomycine	<i>Streptomyces lincolnensis</i>

Notamment, près des deux tiers des antibiotiques microbiens sont principalement synthétisés par des espèces d'actinomycètes, dont 80 % sont exclusivement produits par le genre *Streptomyces* (Meenakshi et al., 2024).

Dans ce contexte l'Algérie abrite plusieurs écosystèmes côtiers susceptibles de constituer une source importante de micro-organismes d'intérêt biotechnologique, et qui nécessitent d'être explorés, notamment face à la menace croissante de l'émergence de résistances aux antibiotiques, un enjeu majeur de santé publique.

Ainsi, le développement de stratégies innovantes en matière de découverte de nouvelles molécules s'avère indispensable. Parmi ces approches, la redécouverte du potentiel antimicrobien des actinomycètes suscite un intérêt croissant (Meenakshi et al., 2024).

En tenant compte du besoin mondial de découvrir de nouvelles substances bioactives, nous nous intéressons à l'exploration de nouvelles entités bioactives à propriétés antimicrobiennes et antioxydantes, obtenues à partir d'actinomycètes isolés du sol de la région montagneuse côtière de Mkhalled, dans la wilaya de Tlemcen.

Ce mémoire est structuré en trois parties : une première partie générale où seront décrits le sol ainsi que les métabolites primaires et secondaires, suivie d'une partie expérimentale présentant la méthodologie utilisée, puis des résultats et de leur discussion. Enfin, une conclusion viendra clore ce travail.

Afin d'atteindre notre objectif, une approche expérimentale rigoureuse a été mise en œuvre, reposant sur :

- L'isolement des actinomycètes productrices de molécules antimicrobiennes et antioxydantes à partir d'échantillons de sol.
- La purification et l'identification des souches isolées.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne des isolats par les méthodes du cylindre d'agar et des puits.
- La fermentation des souches d'intérêt dans trois milieux différents (Bennett, GNG, AF), suivie de l'extraction des métabolites produits.
- L'analyse de l'activité antimicrobienne des extraits obtenus par la méthode des disques.
- L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits.

Matériel et méthodes

1. Prélèvement et échantillonnage

Le 13 février 2025, un échantillon de sol a été prélevé à l'aide d'une spatule stérile à environ 1 km du littoral de la plage de Mkhalled (**Tableau 02 et Figure 01**).

Tableau 2: Situation géographique de la station d'échantillonnage.

Région	Altitude (Mètre)	Latitude (N)	Longitude	Etage Bioclimatique
Tlemcen	3–5	35.0833° N	-1.3667° E	Semi-aride



Figure 1: Carte d'Algérie montrant la région d'échantillonnage (Google earth, 2025).



Figure 2: Zone d'échantillonnage (Photo personnelle, 2025).

2. Mesure des paramètres physico- chimiques du sol

2.1. Mesure du pH

Une masse de 10 g de sol a été mélangée à 50 mL d'eau distillée, selon un rapport de 1:5 (P/V), puis agitée pendant 2 minutes. Le pH a ensuite été mesuré à partir du surnageant (**Valliet *al.*, 2012**).

2.2. Mesure de la conductivité électrique et la salinité

Un échantillon de 5 g de sol a été mélangé avec 25 mL d'eau distillée, puis le mélange a été soumis à une agitation pendant 30 minutes. La suspension obtenue a ensuite été laissée au repos durant 15 minutes, avant d'être centrifugée à 3000 tours par minute pendant 10 minutes (**El Karkouri et *al.*, 2019**).

2.3. Paramètres du la pollution du sol

2.3.1. Test des nitrites (NITRITE – Nitricol)

Le dosage des nitrites dans les échantillons de sol a été réalisé selon une méthode modifiée, adaptée de la procédure décrite par Sigma-Aldrich (2024), à l'aide d'un comprimé Nitricol et d'un photomètre Wagtech WTD.

En pratique, 20 g de sol humide ont été extraits à l'aide de 50 mL d'eau distillée. Le mélange a été agité pendant 10 minutes, puis filtré. Le filtrat obtenu a ensuite été traité avec un comprimé Nitricol, assurant le développement d'une coloration violette caractéristique. Après un temps de repos de 10 minutes, la concentration en nitrites (NO_2^-) a été mesurée à l'aide du photomètre Wagtech WTD, en sélectionnant le programme Phot 64 (**Marchal & Bourdon, 1991**).

2.3.2. Test des nitrates (NITRATE – Nitratest)

Le dosage des nitrates dans les échantillons de sol a été réalisé selon une méthode modifiée, combinant le principe photométrique décrit par Sigma-Aldrich (2024) pour l'analyse des sols,

et la méthode opérationnelle fournie par Palintest (2013) via le kit Nitratest, initialement destiné aux eaux. En pratique, un tube Nitratest de 20 ml a été rempli avec l'échantillon de sol liquide. Une cuillère de poudre Nitratest et un comprimé Nitratest (non écrasé) ont été ajoutés. Le tube a été fermement agité pendant une minute, puis laissé reposer une minute. Ensuite, il a été légèrement secoué 3 à 4 fois pour provoquer la floculation et reposé deux minutes supplémentaires jusqu'à clarification.

La solution claire a été transférée dans une éprouvette en verre de 10 ml, puis un comprimé Nitricol a été ajouté, écrasé et agité jusqu'à dissolution complète.

Après un développement colorimétrique de 10 minutes, la mesure a été effectuée à l'aide du photomètre Wagtech WTD, en sélectionnant le programme Phot 63, à 570 nm, selon les paramètres du fabricant (**Marchal & Bourdon, 1991**).

3. Isolement et purification des actinomycètes

3.1. Isolement des actinomycètes

On utilise quatre types de milieux pour l'isolement des actinomycètes, notamment la gélose Bennett (**Boudemagh et al., 2005**), la gélose Trypticase de Soja (TSA) (**Krishnamurthi & Chakrabarti, 2013**), International *Streptomyces* Project (ISP2) (**Shirling & Gottlieb, 1966**) et la gélose nutritive gélatine (GNG) (**Belyagoubi, 2025**).

Dans cette recherche, chaque milieu est enrichi d'un antifongique : la cycloheximide afin d'inhiber le développement des champignons antagonistes ainsi que d'autres microorganismes eucaryotes (30 µg/mL) (**Williams & Davies 1965; Ouhdouch et al., 2001; Badji et al., 2005**), ainsi que l'acide nalidixique afin d'inhiber la croissance des bactéries à Gram négatif (10 µg/mL) (**Takizawa et al., 1993**).

3.2. Préparation des dilutions décimales

On réalise des dilutions pour chaque échantillon en employant la méthode suspension-dilution. Une dilution de 10^{-1} est réalisée en dissolvant 10 g de sol sec dans 90 ml d'eau saline stérile (NaCl à 9 g.L⁻¹). Après l'homogénéisation au vortex, une série de dilutions décimales est réalisée dans les tubes contenant de l'eau physiologique stérile jusqu'à atteindre une dilution de 10^{-7} (**Belyagoubi et al., 2018 ; Djebbah et al., 2021**).

3.3. Ensemencement et incubation

Après les dilutions en série, un volume de 100 µL de chaque dilution a été réparti en surface sur les milieux de culture. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 28°C pendant une période de 2 à 4 semaine, avec un suivi quotidien de la croissance microbienne.

3.4. Purification des actinomycètes

Les colonies présentant des caractéristiques typiques des actinomycètes, ont été sélectionnées puis repiquées en vue de leur purification sur le milieu ISP2 (Bastide, 1986; Belyagoubi, 2014).

4. Conservation

La conservation a été effectuée à +4 °C dans des tubes en verre spécifiques sur le milieu Bennett (25 × 100 mm) (Kitouni, 2007).

5. Identification de souches actinomycètes actives

5.1. Critères morphologiques

5.1.1. Etude macroscopique

L'examen macroscopique des colonies développées sur boîtes de Pétri a permis leur description en fonction de leur forme, taille, couleur, surface et aspect. Les actinobactéries isolées ont été caractérisées par inoculation sur différents milieux de culture recommandés par l'International *Streptomyces* Project (ISP) (Beichi et al., 2021). Après une incubation à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 7 jours, les boîtes de Pétri ont été examinées afin de caractériser ces paramètres morphologiques (Djebbah, 2022).

5.1.2. Etude microscopique

L'examen microscopique, réalisé à un grossissement de 100× sur des cultures fraîches, a permis de déterminer la morphologie cellulaire (forme, mode de groupement, densité), constituant ainsi une étape essentielle dans l'orientation taxonomique. Une attention particulière a été portée à la production de pigments, caractéristique importante dans l'identification des actinobactéries. Des milieux de culture spécifiques ont été utilisés à cet effet. La coloration de Gram a été réalisée conformément au protocole standard (Beichi et al., 2021).

- **Coloration de Gram**

Un frottis de l'isolat d'Actinomycètes a été préparé sur une lame de verre propre, puis laissé à sécher à l'air libre avant d'être fixé à la chaleur. Le frottis ainsi fixé a été recouvert de cristal violet pendant une minute, puis rincé à l'eau. Il a ensuite été traité avec le mordant, l'iode de Gram. La décoloration a été effectuée à l'aide d'éthanol à 95 %, suivie d'un rinçage à l'eau. Le frottis a ensuite été contre-coloré avec de la safranine (fuchsine) pendant 45 secondes. Après un dernier rinçage à l'eau, la lame a été séchée à l'aide d'un papier absorbant, puis observée en immersion dans l'huile à un grossissement de 100× (Sailaja Rani et al., 2023).

5.1.3. Production de pigments mélanoides

La production de pigments mélanoides par les isolats a été évaluée sur des milieux solides ISP6 et ISP7. Les boîtes de Pétri ont étéensemencées par stries rapprochées, puis incubées à 28 °C. L'observation de la production pigmentaire a été effectuée après 2 et 4 jours d'incubation. La pigmentation des milieuxensemencés a été comparée à celle des milieux témoins (stériles), incubés dans les mêmes conditions (**Shirling & Gottlieb., 1966 ; Margalith, 1992**).

La classification repose sur l'apparition de pigments mélanoides sur le milieu de culture (à savoir : brun verdâtre clair, brun noir, brun distinct, ou pigment ayant subi une modification de couleur). Les souches sont ainsi réparties en deux groupes : productrices de pigment mélanoides (+) et non productrices (-) (**Sharma et al., 2014**).

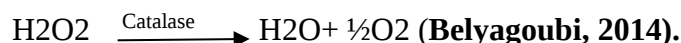
5.2. Critères biochimiques

5.2.1. Hydrolyse de la gélatine

La souche a été cultivée sur un milieu de gélose nutritive contenant 0.4 % (p/v) de gélatine pendant 14 jours à 28°C. Les zones où la gélatine n'est pas dégradée deviennent opaques après l'ajout d'une solution de chlorure mercurique(Annexe). Les zones claires correspondent aux zones d'hydrolyse (**Geraldine et al., 1981**).

5.2.2. Recherche de l'enzyme catalase

La détection de l'activité catalasique a été réalisée en appliquant une goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sur une colonie bactérienne. L'apparition immédiate et abondante de bulles d'oxygène témoigne d'une réaction positive, indiquant la présence de l'enzyme catalase (**Beichi et al., 2021**).



5.2.3. Action sur le lait écrémé

Des tubes contenant une solution de lait écrémé à 10 % (p/v) ont étéensemencés avec la souche étudiée, puis incubés à 28 °C. Un suivi régulier a été effectué pendant 14 jours afin de détecter d'éventuels phénomènes de coagulation et/ou de peptonisation du lait, indiquant une activité protéolytique de la souche (**Williams & Cross, 1971**).

5.2.4. Détermination de l'activité protéolytique (Hydrolyse de la caséine)

L'hydrolyse de la caséine a été étudiée sur une gélose nutritive supplémentée avec 5 % de lait écrémé. Après une incubation de 14 jours à 28 °C, les boîtes ont été examinées. La dégradation de la caséine s'est traduite par une clarification du milieu autour des colonies (**Schofield & Schaal., 1981**) (**Chaphalkar & Dey, 1996**).

5.2.5. Utilisation de citrate comme seule source de carbone

L'alcalinisation au citrate a été effectuée sur gélose au citrate de Simmons. Les pentes ont été intensément ensemencées à l'aide d'organismes préalablement cultivés. Les cultures ont été incubées à 28 °C et observées quotidiennement pendant une période de cinq jours. L'utilisation du citrate, accompagnée d'une production d'alcali, s'est traduite par une coloration bleue de la pente (**Wauters et al., 2005**).

5.2.6. Détermination de l'activité amylolytique

Pour évaluer l'activité amylolytique, le milieu à base de gélose nutritive a été supplémenté en amidon à une concentration de 1 % (p/v). Après une incubation de 14 jours, les boîtes ont été traitées avec une solution de Lugol. Afin de mettre en évidence d'éventuelles zones de décoloration autour des colonies bactériennes, indiquant l'hydrolyse de l'amidon (**Schofield & Schaal, 1981**).

5.2.7. Utilisation des différents substrats carbonés sur milieu TSI

Ce test est réalisé à l'aide du milieu TSI (gélose contenant du glucose, du lactose, du saccharose et permettant la détection de l'HS et de gaze). Des tubes contenant ce milieu sont ensemencés par longitudinale sur la pente, suivie d'une pique centrale dans la partie profonde puis incubés à 28 °C pendant une durée de 7 à 14 jours (**Marchal et al., 1991**).

Les résultats se présentent comme suit :

- Lactose-saccharose positif : coloration jaune de la pente.
- Glucose positif : coloration jaune du culot.
- H₂S positif : noircissement du milieu au niveau de la zone de jonction entre la pente et le culot (**Belyagoubi, 2014**).
- gaze positive : mise en évidence par des fissures ou un soulèvement du milieu dans le tube TSI.

5.2.8. Recherche de la production d'indole

Un volume de 4.5 mL d'eau physiologique contenant 4 gouttes d'urée-indole est ensemencé. La lecture est réalisée après une incubation à 28 °C pendant 48 heures. Ensuite, 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs sont ajoutées à 1 mL de la culture. Une réaction positive se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge vermillon à la surface (**Marchal et al., 1991**).

5.2.9. Recherche de l'Uréase

Un volume de 4.5 mL d'eau physiologique contenant 4 gouttes d'urée-indole est ensemencé. La lecture est effectuée après 48 heures d'incubation à 30 ± 1 °C (**Marchal et al., 1991**).

- Un virage de la couleur du milieu vers le rouge indique une Uréase positive.
- L'absence de changement de couleur indique une Uréase négative (**Belyagoubi, 2014**).

6. Criblage primaire de l'activité antimicrobienne

6.1. Les souches pathogènes testées

Les activités antimicrobiennes ont été évaluées à l'aide de souches de référence indiquées dans le **Tableau 03**

Tableau 3: Souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne.

	Microorganismes	Gram	Code
Bactéries	<i>S. aureus</i>	Positif	ATCC 29213
	<i>B. subtilus</i>		ATCC 6633
	<i>P. aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
	<i>E. coli TEM</i>		ATCC 35218
	<i>K. pneumoniae</i>		ATCC 700603
Levure	<i>C. albicans</i>		ATCC 10231

ATCC: American Type Culture Collection.

6.2. Test d'activité antimicrobienne

1.2.1. Méthode de cylindre d'agar

Afin d'évaluer la production de molécules antimicrobiennes vis-à-vis de micro-organismes pathogènes à l'aide de la méthode des cylindres d'agar, les souches isolées ont étéensemencées sur le milieu Bennett, puis incubées à une température de 28°C pendant 14 jours.

L'issue de l'incubation, des disques de 6 mm de diamètre ont été prélevés à l'aide d'une pipette Pasteur, puis déposés à la surface de la gélose Sabouraud, préalablement ensemencée avec la levure *C. albicans* à une charge finale de $\approx 10^6$ UFC/ml.

En parallèle, des disques ont également été placés sur le milieu Mueller-Hinton, ensemencé avec des souches bactériennes de référence à une charge finale de $\approx 10^8$ UFC/ml (**CLSI, 2017**). L'ensemble est maintenu au réfrigérateur à 4 °C pendant deux heures afin de favoriser la diffusion des substances actives dans la gélose. Par la suite, les boîtes sont incubées à 37 ± 1 °C pendant 24 heures à 48h. Les diamètres des zones d'inhibition formées autour des cylindres d'agar sont ensuite mesurés (**Shomura et al., 1979; Saadoun& Al moumani, 1997; Petrosyan et al., 2003; Boudjelal et al., 2011**).

Afin de comparer les activités antimicrobiennes, des disques standards d'antibiotiques ont été utilisés comme témoins positifs : l'ampicilline (10µg) par disque pour les bactéries et la

nystatine (100µg) par disque pour les levures, dans le but d'évaluer la sensibilité des microorganismes testés (Belyagoubi et al., 2018).

1.2.2. Méthode des puits

Les souches d'actinomycètes ont été cultivées dans 5 ml de bouillon Bennett et incubées à 28 ± 1 °C pendant sept jours, avec agitation toutes les deux heures.

Des puits de 6 mm de diamètre ont été réalisés dans les milieux de culture préalablement ensemencés avec la souche cible. Un volume de 100 µL de la culture d'actinomycète a été déposé dans chaque puits. Après une incubation de 2 h à 4°C minutes à température ambiante afin de permettre la diffusion, les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 ± 1 °C pendant 24 h pour les bactéries, et à 37 ± 1 °C pendant 24 h pour *C. albicans*. Les diamètres des zones d'inhibition ont ensuite été mesurés (Lemriss et al., 2003; Valanarasu et al., 2010).

2. Fermentation et extraction des métabolites

7.1. Optimisation, fermentation et extraction de substances actives en milieu liquide

Pour optimiser la production des métabolites, trois milieux de culture ont été utilisés : GNG, le milieu de Bennett et le milieu AF. La souche a été inoculée dans des flacons contenant chacun 100 mL de ces milieux, avec un pH ajusté à 7 ± 0.2 . Les cultures ont été incubées pendant deux semaines à une température de 28 ± 2 °C. À l'issue de l'incubation, les filtrats ont été récupérés et testés pour évaluer leur activité antimicrobienne.

L'extraction des composés antimicrobiens a été réalisée à l'aide d'un mélange de solvants constitué d'acétate d'éthyle et de chloroforme (V/V). La phase organique a été séparée à l'aide d'une ampoule à décanter, puis concentrée à 45 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif afin d'obtenir un extrait brut. Celui-ci a été récupéré à l'aide de chloroforme et d'acétate d'éthyle (V/V), puis conservé à 4 °C en vue des essais d'activité biologique (Djebbah, 2022).

7.2. Optimisation, fermentation et extraction de substances actives en milieu solide

Les souches d'actinomycètes ont été cultivées sur des milieux Bennett, AF et GNG. Après incubation pendant 14 jours à 28 °C, la biomasse a été découpée, puis extraite par macération dans un mélange d'acétate d'éthyle et de chloroforme (V/V). Le filtrat a été évaporé sous pression réduite afin d'obtenir l'extrait brut (Leulmi et al., 2019).

8. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

8.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode des disques

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits a été réalisée selon la méthode de diffusion en disques. Une quantité de 100 µL de la suspension microbienne a été utilisée pour ensemencer les milieux Mueller-Hinton et Sabouraud, puis répartis dans des boîtes de Pétri

stériles de 9 cm de diamètre. Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre ont été imprégnés individuellement avec 0.2 mg de l'extrait, Après séchage, les disques ont été déposés à la surface des milieux ensemencés. Les boîtes ont été conservées à 4 °C pendant 2 heures afin de favoriser la diffusion, avant d'être incubées à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries, à 37 °C pendant 24 à 48 heures pour la souche fongique. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres (Chaouche et al., 2016).

9. Test du piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl)

L'activité anti-radicalaire a été réalisée par la méthode de Sánchez-Moreno et al. (1998). Un volume de 50 µl d'extrait, à une concentration de 0.25 mg/ml, est ajouté à 1950 µl d'une solution éthanolique fraîchement préparée de DPPH (0.025 g/l). Le mélange est ensuite incubé à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance est réalisée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Un contrôle négatif est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl d'éthanol avec 1950 µl de la même solution éthanolique de DPPH.

Le pourcentage d'inhibition (%) du radical DPPH est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

Avec : AC : absorbance du contrôle négatif ; AE : absorbance de l'échantillon.

Résultats et discussion

1. Résultats des analyses physico-chimiques d'échantillons de sol

1.1 Paramètres physico-chimiques

Les résultats d'analyse des paramètres physico-chimiques, pH, redox, conductivité, salinité sont représentés dans le **tableau 04** :

Tableau 4: Les paramètres physico-chimiques d'échantillons de sol.

	pH	Conductivité électrique (US/cm) 25°C	Salinité
Echantillon du sol	8.16±0.01	202.5±0	0±0

Le sol analysé présente un pH légèrement basique. Il convient de noter que ce paramètre joue un rôle déterminant dans la solubilité et la biodisponibilité de nombreux minéraux du sol. En ce qui concerne la conductivité électrique, qui est également largement utilisée pour caractériser diverses propriétés du sol notamment la capacité d'échange cationique, la salinité, la concentration en éléments nutritifs, l'humidité résiduelle ainsi que la texture du sol, elle a été trouvée avec une valeur de 202.5 ± 0 . La salinité de ce sol est nulle.

1.2. Paramètres de la pollution

Les résultats des paramètres de pollution sont représentés dans le **tableau 05** :

Tableau 5: Paramètres de la pollution du sol.

	Test nitrite (Mg /L)	Test nitrate (Mg /L)
Echantillon du sol	0.06±0.03	1.9±0.14

Les nitrites observés présentent une faible concentration, avec une valeur moyenne de 0.06 ± 0.03 mg/L, ce qui est typique dans des sols bien oxygénés (**Ayiti & Babalola, 2022**). Ces valeurs indiquent que le processus d'oxydation des nitrites en nitrates fonctionne correctement. La teneur en nitrate mesurée dans l'échantillon de sol est faible, avec une valeur moyenne de 1.9 ± 0.14 mg/kg. Des concentrations élevées en nitrates sont généralement associées à des sources anthropiques, telles que l'utilisation excessive d'engrais, les rejets issus des fosses septiques, les eaux usées domestiques ou encore l'épandage de fumier en milieu agricole (**Chaudhary et al.,2025**).

Ainsi, la faible concentration observée dans nos échantillons suggère un niveau de pollution relativement bas.

2. Résultats d'isolement des actinomycètes

Le nombre de souches isolées à partir de notre échantillon de sol, cultivées sur différents milieux de culture, est illustré dans la figure 03 ci-dessous.

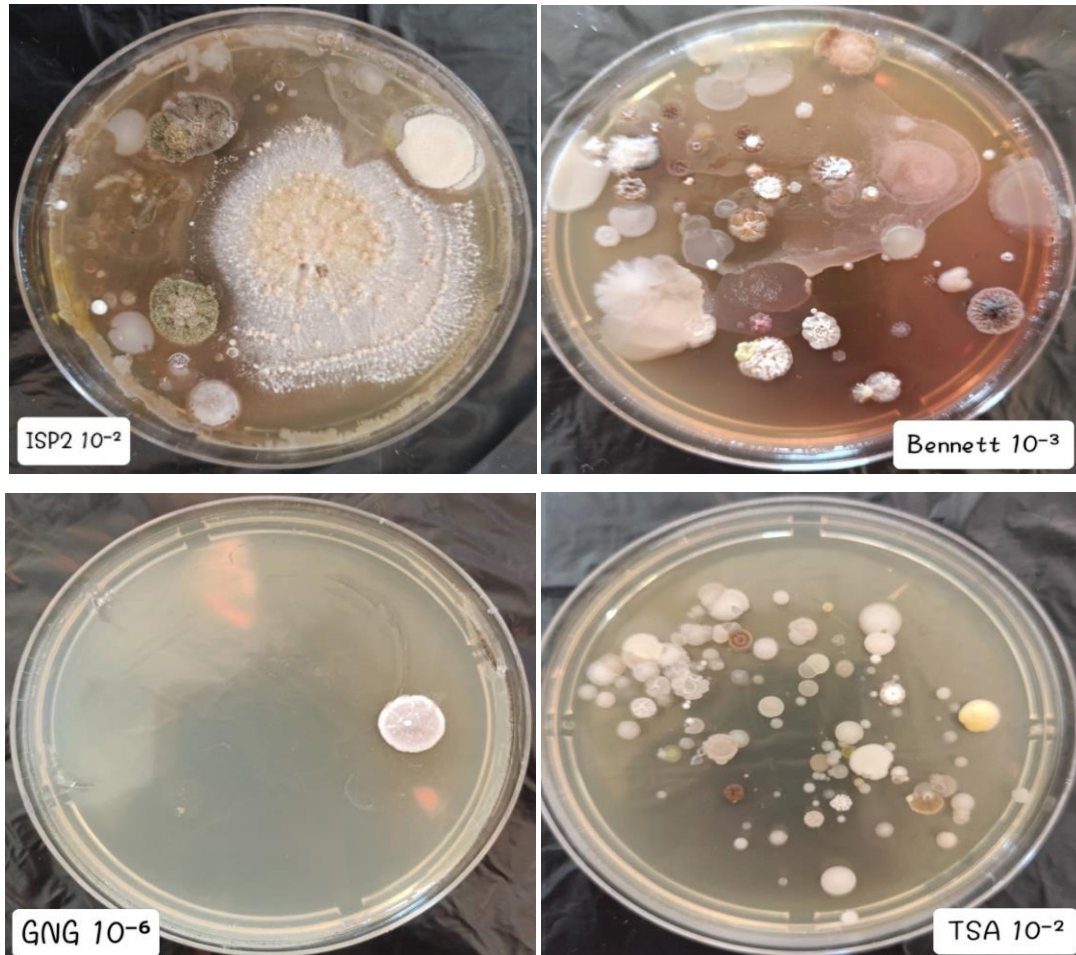


Figure 3: Photo d'isolement des actinomycètes du sol (Photo personnelle, 2025).

Les souches ont été isolées sur le milieu TSA, ISP₂, GNG, Bennett. On a identifié 15 souches d'actinomycètes à partir de sol, on a procédé à la purification en repiquant la souche sur le milieu ISP₂ jusqu'à ce qu'elle soit pure.

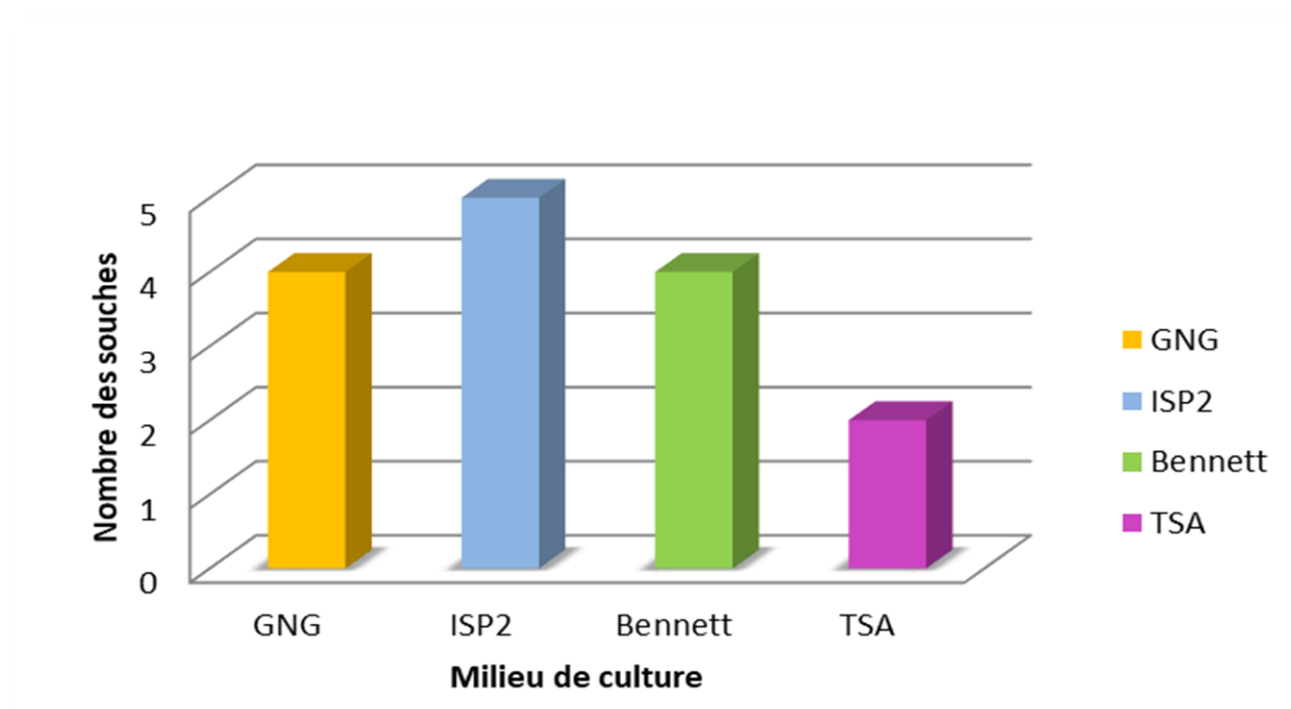


Figure 4: Nombre de souches isolées par milieu de culture après l'isolement d'échantillon de sol.

L'analyse comparative des milieux de culture révèle que le milieu ISP2 s'est avéré le plus performant, avec l'isolement de cinq souches, suivi des milieux GNG et Bennett (quatre souches

chacun). En revanche, le milieu TSA n'a permis l'isolement que de deux souches. Ces résultats suggèrent que la composition du milieu ISP2 est particulièrement favorable à la croissance des micro-organismes présents dans les échantillons de sol analysés. Cette observation est appuyée par les données expérimentales rapportées par **Khirennas et al .(2023)**, selon lesquelles 71,88 % des isolats d'actinomycètes ont présenté une croissance allant de bonne à excellente sur le milieu ISP2, avec respectivement 46,88 % de croissances très bonnes et 25,00 % de croissances excellentes. Ces résultats mettent en évidence l'efficacité du milieu ISP2 dans la promotion de la croissance des actinomycètes, en particulier des souches du genre *Streptomyces*, majoritaires dans leur étude. De manière complémentaire, l'étude de **Salem et al. (2023)**, confirme cette tendance, avec l'isolement de 164 souches d'actinomycètes à partir de 300 échantillons de sol prélevés sur 77 sites en Libye, principalement à l'aide du milieu ISP2. 38 de ces souches ont ensuite été caractérisées sur le milieu Bennett, soulignant également l'efficacité de ce dernier pour la culture d'actinomycètes. Ainsi, les résultats de notre étude concordent avec ces observations, en soulignant les performances respectives du milieu ISP2 et du milieu Bennett. Des actinobactéries ont également été isolées à partir de la rhizosphère de

plantes médicinales et aromatiques, à savoir la lavande, la mélisse et l'origan. Après incubation, ces isolats ont montré

une croissance abondante sur tous les milieux ISP, formant des colonies dures, coriaces, de tailles

et de formes variées. Sur les boîtes contenant le milieu ISP2, les isolats présentaient des mycéliums aériens et substrats de couleurs différentes, confirmant ainsi que ce milieu permet une croissance optimale, comme le montrent nos propres résultats (**Sáhó et al., 2024**).

Le milieu ISP2 semble particulièrement propice au développement des actinomycètes en raison de sa composition nutritive riche et équilibrée. Il contient des sources complexes de carbone et d'azote, ainsi que des éléments sélectifs, facteurs clés pour la croissance de micro-organismes à exigences nutritionnelles spécifiques (**Harouna Maidoukia Abdoul Razack et al., 2024**). Cette

formulation confère au milieu ISP2 une aptitude remarquable à favoriser l'isolement, la croissance et la prolifération des actinomycètes, en particulier des *Streptomyces*. En comparaison, le milieu TSA a permis l'isolement d'un nombre réduit de souches d'actinomycètes, ce qui indique une efficacité modérée comparée à d'autres milieux plus sélectifs. Ce constat rejoint les résultats de **Belyagoubi et al. (2018)**, obtenus à partir de la grotte de Chaabe, où seulement 6 souches d'actinomycètes (soit 12,76 % du total isolé) ont été obtenues à partir du milieu TSA et 10 souches (21,28 %) sur le Bennett's agar.

Il est tout de même intéressant de noter que certaines espèces nouvellement identifiées ont été isolées

par le milieu TSA, à partir duquel *Nocardia altamirensis* a été isolée (**Rangseekaew & Pathom-aree, 2019**).

L'efficacité plus faible du TSA pourrait être attribuée à sa composition nutritive plus générale et

moins sélective pour les actinomycètes, ce qui favorise également la croissance de bactéries concurrentes, réduisant ainsi les chances d'isolement de ces micro-organismes particuliers.

Ces résultats concordent donc pleinement avec notre propre expérience.

3. Purification et identification des souches d'actinomycètes

A partir de 15 souches d'actinomycètes isolées et purifiées, 5 souches qui sont retenues dans notre étude. Les résultats observés après 28 jours d'incubation sont illustrés dans les figures 05 ci-dessus :

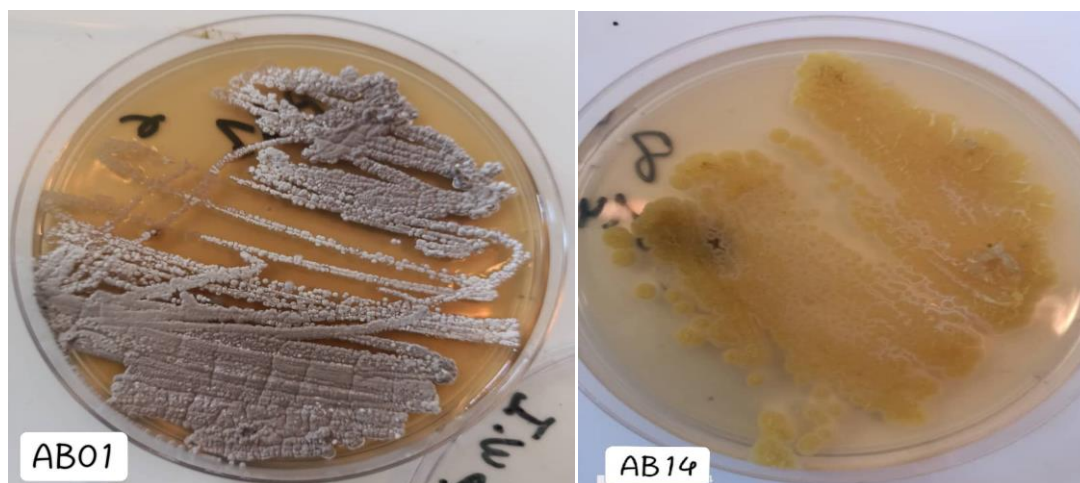


Figure 5: Culture pure d'actinomycètes isolés sur gélose ISP2 (Photo personnelle, 2025).

3.1. Critères morphologiques

3.1.1 Etude macroscopique

Les colonies des souches d'actinomycètes apparaissent après une incubation de 2 à 4 semaines à 28 °C, suite à l'ensemencement sur le milieu solide ISP2. Les premiers signes de croissance se manifestent par la formation de colonies adhérant fermement au milieu de culture. À partir du 14^e jour, la majorité des souches développent des colonies poudreuses ou granuleuses, présentant des couleurs variées de mycélium aérien (jaune, blanc, brun, gris). La taille moyenne des colonies varie généralement entre 5 et 15 mm.

La description des souches repose sur les caractéristiques morphologiques présentées dans le **tableau 06** et la **figure 06** ci-dessous :

Tableau 6: Résultats de l'étude d'aspect macroscopique des isolats.

Code de la souche	Source	Aspect macroscopique
AB 1	GNG 10 ⁻⁶	Colonie gris claire avec un centre blanc de grande taille incrusté dans la gélose
AB 5	ISP2 10 ⁻³	Colonie gris foncée de grande taille incrustée dans la gélose
AB 13	GNG 10 ⁻³	Colonie Blanche de petite taille incrustée dans la gélose
AB 14	TSA 10 ⁻³	Colonie jaune de grande taille incrustée dans la gélose
AB 15	TSA 10 ⁻³	Colonie beige claire de grande taille incrustée dans la gélose

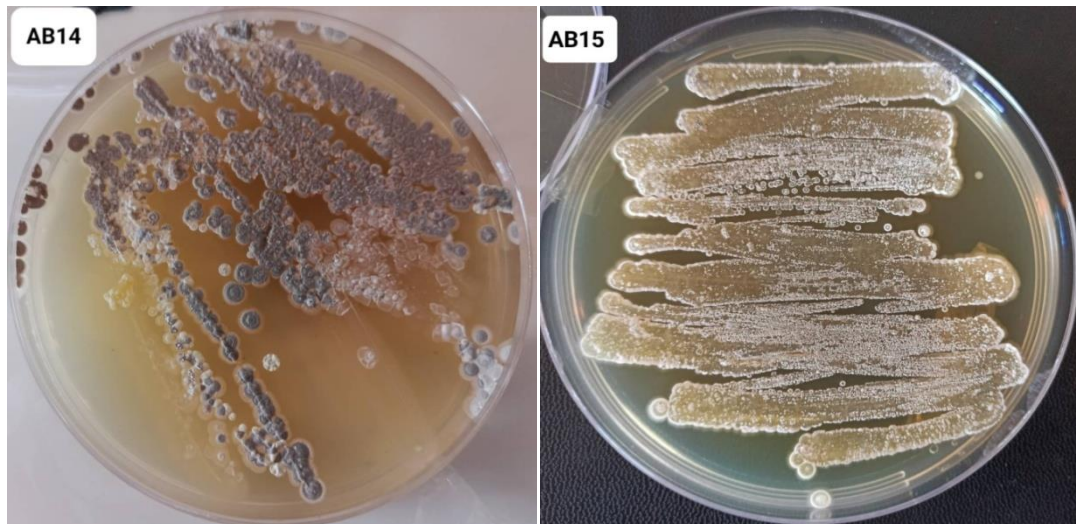


Figure 6: Aspect macroscopique des souches actinomycètes (photo personnelle, 2025).

3.1.2. Etude microscopique

3.1.2.1. Résultats de coloration de Gram

Les résultats de l'observation microscopique après la coloration de Gram ont révélé que toutes les souches isolées (AB1, AB13, AB14, AB5 et AB15) présentent des caractéristiques morphologiques typiques des actinomycètes. En effet, leur coloration Gram positive ainsi que la présence de mycéliums ramifiés et de chaînes de spores visibles au microscope optique ($G \times 100$) (**Figure 07**).

Par ailleurs, les résultats de la coloration de Gram des isolats d'actinomycètes ont montré qu'ils sont à Gram positif, ce qui est indiqué par une coloration violette. Les bactéries à Gram positif possèdent une couche plus épaisse de peptidoglycane comparée aux bactéries à Gram négatif, qui sont indiquées par une coloration rose (**Dwiyani et al., 2025**).

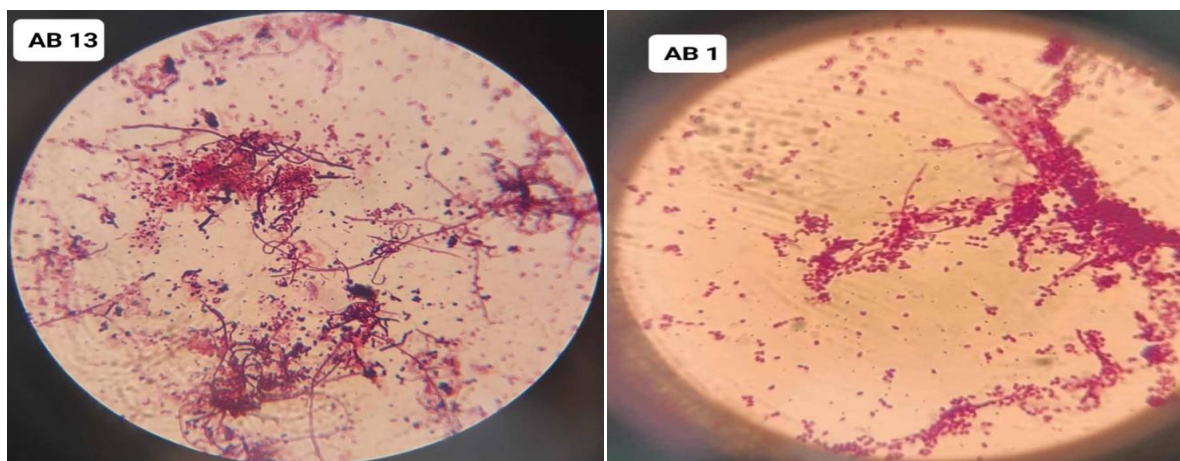


Figure 7: Observation microscopique des souches d'actinomycètes (G× 100) après coloration de Gram (photo personnelle, 2025).

3.2.Résultat de critères biochimiques

Les souches isolées ont été soumises à des tests biochimiques. Les résultats obtenus dans le cadre de cette identification sont présentés dans le **tableau 08** ci-dessous.

Tableau 7: Caractéristiques biochimiques des souches actinomycètes.

Caractéristiques		Souches					
		T	AB 1	AB 5	AB 13	AB 14	AB 15
TSI	Glucose/ Lactose/ Saccharose	-	---	+++	---	+++	+++
	Production d'H ₂ S	-	+	-	+	-	-
	Production de gaze	-	-	+	-	+	-
Hydrolyse de la caséine		-	+	+	+	+	+
Hydrolyse de l'amidon		-	+	+	+	+	+
Hydrolyse de la gélatine		-	+	+	+	+	+
Coagulation du lait écrémé		-	+	+	-	-	+
Peptonisation du lait écrémé		-	-	-	+	+	-
Dégradation de l'urée		-	-	-	-	-	-
Production de l'indole		-	-	-	-	+	-
Recherche de Catalase		-	+	-	+	-	-
Production de pigments mélanoïde sur le milieu ISP ₆		-	-	-	-	-	-
Production de pigments mélanoïde sur le milieu ISP ₇		-	-	-	-	-	-

(-) : Test négatif. ; (+) : Test positif. ; (T) : Témoin.

Selon les résultats obtenus, toutes les souches étudiées présentent une activité protéolytique marquée, mise en évidence par une hydrolyse positive de la gélatine et de l'amidon. Ce constat rejoint les observations rapportées dans une étude portant sur des actinomycètes isolés à partir d'un échantillon de sol rhizosphérique prélevé dans les jardins de Tulsi, situés à Kayathar, dans le district de Tuticorin, où tous les isolats ont montré un résultat positif, témoignant de leur aptitude à dégrader ce substrat via la production d'amylase. En outre, l'hydrolyse positive de la caséine dans notre étude contraste avec les résultats obtenus pour les isolats des jardins de Tulsi, chez lesquels elle s'est révélée négative (**Jasmine Doss et al., 2021**). Cette divergence pourrait s'expliquer par des différences au niveau du patrimoine génétique des souches ainsi que par les conditions de culture. Ces données soulignent le potentiel enzymatique élevé des souches que nous avons testées.

L'analyse du test TSI révèle que les souches AB5, AB13 et AB15 sont capables de fermenter le glucose, le lactose et le saccharose. En revanche, dans l'échantillon de sol rhizosphérique déjà comparé, tous les isolats ont montré une capacité de fermentation du glucose. Par ailleurs, les souches AB1 et AB13 ne présentent aucune fermentation détectable.

La production de H₂S est observée uniquement chez AB1 et AB13, tandis que la production de gaz est détectée chez AB5 et AB14. Concernant l'activité sur le lait écrémé, une coagulation a été observée avec les souches AB1, AB5 et AB15, tandis que les souches AB13 et AB14 ont provoqué une peptonisation. Ces résultats indiquent que les souches étudiées ont la capacité de dégrader la caséine.

Le test de production d'indole est négatif chez toutes les souches, sauf AB14, ce qui indique que cette dernière possède la capacité de dégrader l'acide aminé tryptophane en indole.

Les souches AB1 et AB13 ont produit des bulles d'oxygène après l'ajout de H₂O₂, libérant ainsi de l'oxygène libre, ce qui indique une activité catalasique positive, caractéristique des actinomycètes aérobies (**Public Health England, 2016**). En revanche, tous les isolats testés montrent des résultats négatifs pour la production de pigments mélanoides sur les milieux ISP6 et ISP7, ainsi que pour le test de l'urée, tout comme les isolats provenant de l'échantillon de sol rhizosphérique déjà utilisé pour la comparaison, où également tous les isolats ont présenté des résultats négatifs (**Jasmine Doss et al., 2021**).

Ainsi, une souche présentant la capacité de dégrader simultanément la caséine, la gélatine ou l'amidon peut être attribuée au genre *Streptomyces*, en raison de son profil enzymatique caractéristique (**Public Health England, 2016**). Ce résultat est en accord avec les observations obtenues pour les souches testées dans notre étude, qui ont démontré une activité enzymatique significative envers ces trois substrats.

D'après les observations macroscopiques, microscopiques et les critères biochimiques, les souches isolées appartiennent probablement au genre *Streptomycètes*.

4. Résultat de l'activité antimicrobienne

4.1. Méthode de cylindre d'agar

Les figures 08 et 09 présentent les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode du cylindre d'agar.

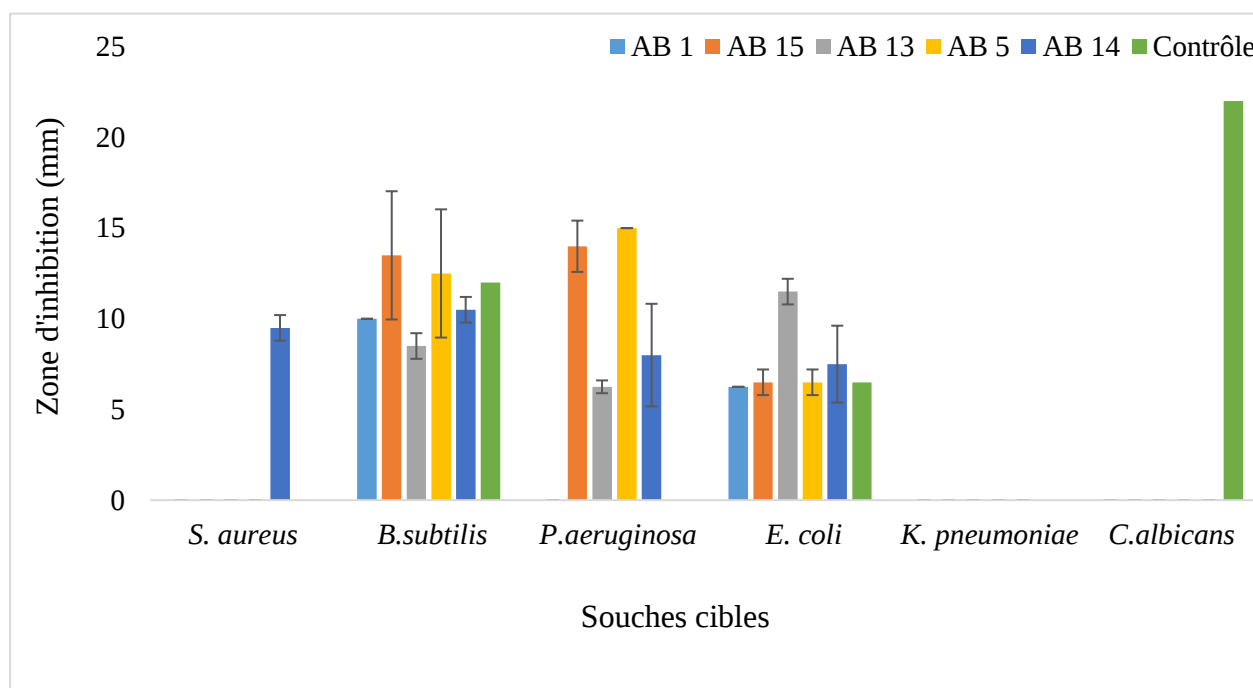


Figure 8: Activité antimicrobienne des souches actinomycètes par la méthode de cylindre d'agar.

L'analyse des résultats met en évidence des profils d'activité antimicrobienne différenciés parmi les souches d'actinomycètes testées. Il est particulièrement remarquable que certaines de ces souches aient démontré une efficacité là où l'antibiotique de référence, l'ampicilline, est resté sans effet. Par exemple, la souche AB14 a révélé une inhibition mesurable contre *S. aureus*, tandis que les souches AB5, AB13, AB14 et AB15 ont exercé une action notable contre *P. aeruginosa*, avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 15 mm (AB5), ce qui suggère la production de métabolites capables de surmonter les mécanismes de résistance de ce germe. Des recherches récentes portant sur des isolats issus d'environnements extrêmes ou marins confirment leur efficacité marquée contre cette bactérie (Dhaini et al., 2025).

Concernant *B. subtilis*, bien que l'ampicilline ait montré une activité attendue, plusieurs souches d'actinomycètes, notamment AB5, AB13 et AB15, ont également présenté des inhibitions notables, confirmant leur efficacité. Ces résultats confirment que les actinomycètes, notamment les espèces du genre *Streptomyces*, sont une source classique d'antibiotiques puissants contre les bactéries à Gram positif, comme le démontrent l'iminimycin A et B, produits par *Streptomyces griseus* (Takahashi & Nakashima, 2018). Contre *E. coli*, toutes les souches testées ont montré une activité mesurable, AB13 se distinguant par une zone d'inhibition de 11.5 mm, supérieure à plusieurs autres souches et comparable à celle de l'antibiotique de référence. Ces résultats concordent avec les travaux récents sur les actinomycètes d'origine marine, qui rapportent également une bonne efficacité contre *E. coli* (Dhaini et al., 2025). En revanche, aucune des souches d'actinomycètes testées n'a montré d'activité antimicrobienne contre *K. pneumoniae* ni contre *C. albicans*, avec des zones d'inhibition nulles pour toutes les souches.

On observe que la souche AB14 présente une activité antimicrobienne contre quatre germes différentes, appartenant à la fois aux bactéries à Gram positif et à Gram négatif, ce qui témoigne de la richesse et de la diversité de ses métabolites secondaires.

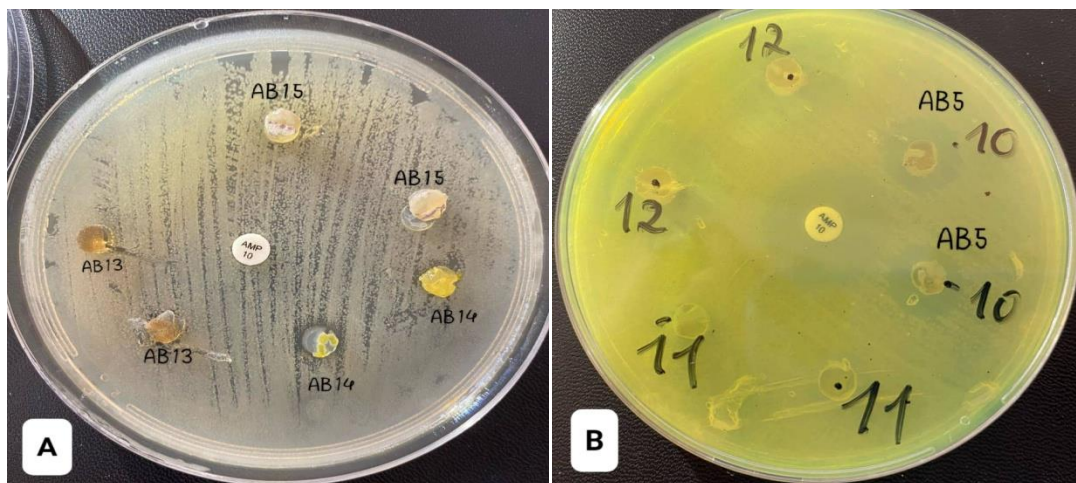


Figure 9 : Effet antimicrobien de deux souches d'actinomycètes par la méthode de cylindre d'agar.

A : AB14 contre *S. aureus* ; **B :** AB5 contre *P. aeruginosae* (photo personnelle, 2025).

4.2 Méthode des puits

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne, réalisés à l'aide de la méthode des puits, sont présentés dans les **figures 10 et 11**.

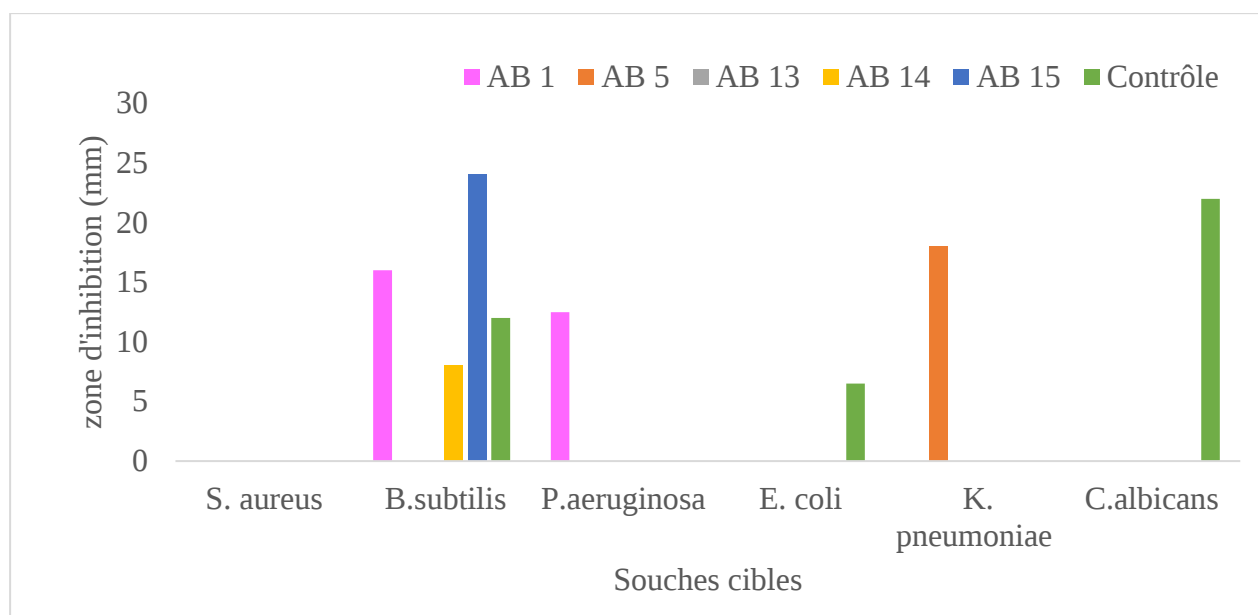


Figure 10: Activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes par la méthode des puits.

Les résultats obtenus révèlent une activité antimicrobienne sélective des souches d'actinomycètes isolées du sol. La souche AB15 se distingue par une forte inhibition de *B. subtilis* (24 mm), nettement supérieure à celle de l'ampicilline (12 mm), traduisant un potentiel intéressant contre ce germe Gram-positif. En comparaison, AB14 présente une activité plus modérée (8 mm). La souche AB1 se montre active à la fois contre *B. subtilis* (16 mm) et *P. aeruginosa* (12,5 mm), une bactérie Gram-négative souvent multirésistante. De son côté, AB5 exerce une inhibition notable sur *K. pneumoniae* (18 mm), un pathogène du groupe ESKAPE, qui comprend *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* et les espèces d'*Enterobacter*, fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales multirésistantes (**Santajit et al., 2016**). Ces observations rejoignent celles de **Dar & Ahmad. (2024)**, qui rapportent une activité antibactérienne ciblée de certains actinomycètes vis-à-vis de ces souches problématiques.

À l'inverse, l'ampicilline n'a montré d'effet que contre *E. coli* et *B. subtilis*, restant inefficace contre *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*. Ainsi, les souches AB1 et AB5 se révèlent particulièrement prometteuses en raison de leur efficacité là où l'antibiotique standard échoue. En revanche, aucune des souches testées n'a inhibé *S. aureus*, *E. coli* ou *C. albicans*, suggérant soit une production métabolique trop faible, soit une sélectivité d'action propre à certaines espèces.

Ces profils d'activité confirment les observations récentes selon lesquelles les actinomycètes, notamment du genre *Streptomyces*, produisent des métabolites dont le spectre dépend fortement des conditions environnementales et du substrat de culture (Nazari et al., 2022).

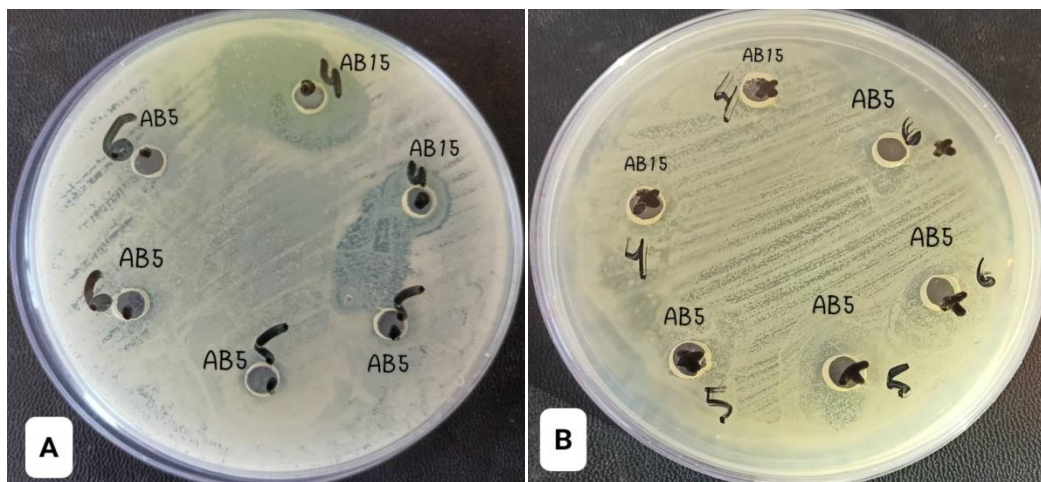


Figure 11: Effet antimicrobien de deux souches d'actinomycètes par la méthode des puits (A) AB 15 contre *B. subtilis* ; (B) AB5 contre *K. pneumoniae* par (photo personnelle, 2025).

5. Résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

5.1. Les extraits obtenus par fermentation en milieu solide

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits, réalisée à l'aide de la méthode des disques, sont présentés dans les figures 12 et 13.

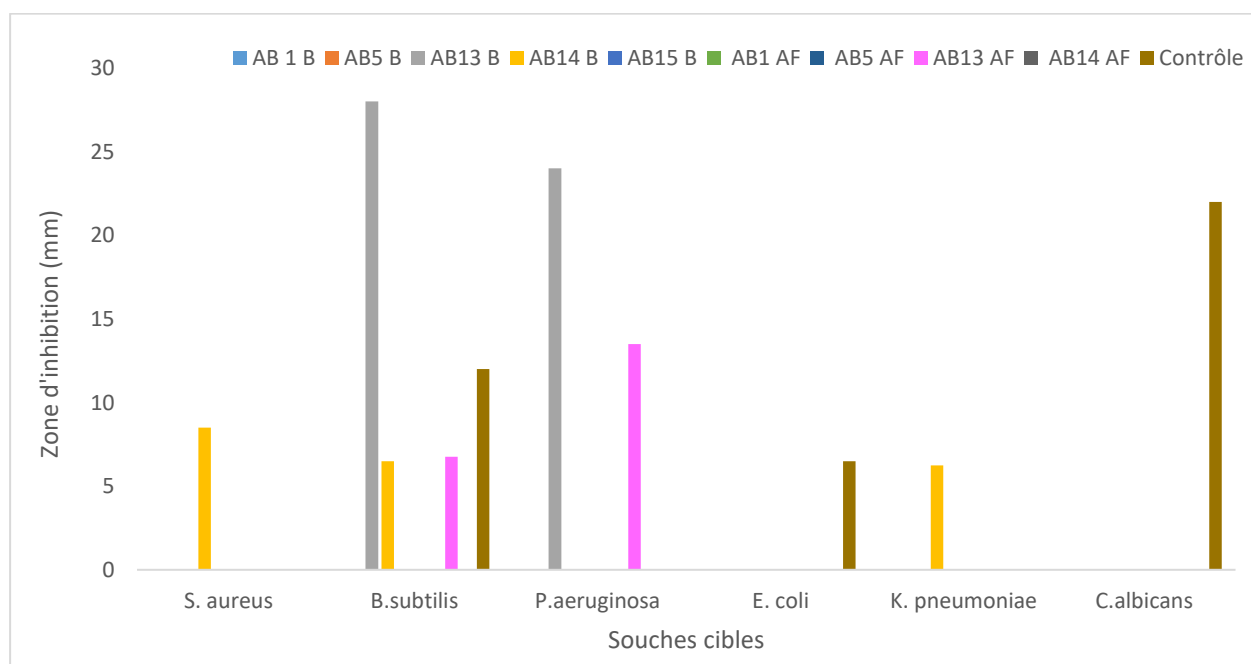


Figure 12: Activité antimicrobienne des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu solide.

L'analyse des résultats met en évidence des profils différenciés d'activité antimicrobienne entre les extraits d'actinomycètes testés et les témoins (ampicilline et le nystatine). L'ampicilline a montré une efficacité restreinte, n'agissant que sur *B. subtilis* et *E. coli*, sans aucune action inhibitrice détectable sur *S. aureus*, *P. aeruginosa* ni *K. pneumoniae*. À l'inverse, les extraits issus des souches d'actinomycètes ont révélé une activité plus large et ciblée contre ces mêmes germes, précisément là où l'ampicilline est demeurée inefficace.

Plus précisément, contre *P. aeruginosa*, l'ampicilline est inefficace, alors que la souche AB13 cultivée sur le milieu Bennett a exercé une inhibition marquée (24 mm), et une activité modérée sur le milieu AF (13.5 mm). De même, contre *S. aureus*, l'ampicilline n'a induit aucune inhibition, tandis que la souche AB14 a généré une zone d'inhibition de 8.5 mm. En ce qui concerne *K. pneumoniae*, également non sensible à l'ampicilline, une activité mesurable de 6.25 mm a été observée avec l'extrait d'AB14.

Dans l'ensemble, ces résultats mettent en évidence que les souches d'actinomycètes étudiées, notamment AB13 et AB14, synthétisent des métabolites bioactifs là où l'ampicilline demeure sans effet, mettant ainsi en lumière leur potentiel thérapeutique. Ces résultats soulignent que le milieu Bennett solide est plus favorable à la biosynthèse de molécules antimicrobiennes chez certaines souches d'actinomycètes. Cela est peut-être dû à la composition de ce milieu, car ce dernier joue un rôle important dans le déclenchement de l'activité antimicrobienne. Selon **Ait Assou et al. (2024)**, la composition du milieu de culture joue un rôle déterminant dans la modulation de l'activité antimicrobienne des actinomycètes.

En revanche, l'antibiotique nystatine a montré une activité vis-à-vis de *C. albicans*, tandis qu'aucune activité antifongique n'a été observée pour les extraits, quelle que soit la souche d'actinomycète ou le milieu d'extraction utilisé.

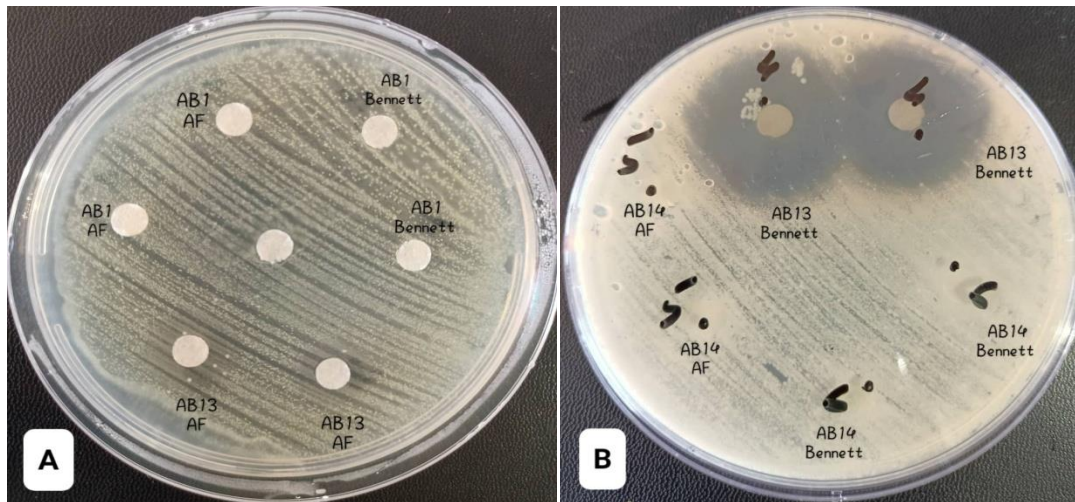


Figure 13: Effet antimicrobien des extraits de deux souches d'actinomycètes par la méthode des disques.

(A) Extrait de la souche AB13 ensemencé sur milieu AF contre *P. aeruginosa* ; (B) Extrait de la souche AB13 ensemencé sur milieu Bennett contre *B. subtilis* (photo personnelle, 2025).

5.2. Extraits obtenus par fermentation en milieu liquide

Après extraction des métabolites secondaires produits en milieux liquides par différentes souches d'actinomycètes (AB1, AB5, AB13, AB14 et AB15), aucune activité antimicrobienne n'a été détectée vis-à-vis des microorganismes pathogènes testés, à savoir *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *C. albicans*. Cette absence d'effet inhibiteur a été observée indépendamment du milieu utilisé pour la culture (GNG, AF ou Bennet), ce qui suggère que les souches, dans les conditions expérimentales appliquées, n'ont pas produit de métabolites bioactifs ou que ceux-ci étaient présents à des concentrations insuffisantes pour exercer une action antimicrobienne détectable.

Dans un article de R tten et al. (2022), les auteurs notent que les tests de criblage bioactif traditionnels sur milieu solide révèlent souvent des activités que ne montrent pas les extraits issus des cultures liquides, en raison de la différence dans la production et l'expression des métabolites secondaires selon le type de culture.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent une perte d'activité antimicrobienne après l'extraction chez certaines souches d'actinomycètes, alors qu'elles avaient montré une activité notable avant cette étape. Cette observation suggère que l'extraction pourrait rompre un équilibre synergique naturel entre les métabolites produits par la souche. En effet, Challis & Hopwood. (2003), ont démontré que plusieurs métabolites secondaires issus des *Streptomyces* présentent une activité antimicrobienne faible individuellement, mais développent une activité

puissante lorsqu'ils agissent en synergie. Cette synergie joue donc un rôle déterminant dans l'inhibition des bactéries pathogènes. L'exemple de la céphamycine C et de l'acide clavulanique, produits simultanément par *S. clavuligerus*, illustre bien ce phénomène : leur association permet de contourner la résistance bactérienne grâce à une action combinée. Ainsi, l'interruption de cette coproduction naturelle lors de l'extraction – processus pouvant s'apparenter à un fractionnement – expliquerait la perte d'activité observée, certaines molécules pouvant être partiellement ou non extraites. Par ailleurs, **Sapkota et al. (2020)**, ont rapporté des résultats similaires, où des souches actives lors du criblage primaire perdaient leur pouvoir antimicrobien après fermentation et extraction. Selon ces auteurs, cette perte pourrait être liée à plusieurs facteurs : fermentation inefficace, dégradation ou modification des métabolites actifs, ou liaison de ces métabolites aux composants du milieu de culture, les rendant ainsi inactifs ou inaccessibles.

Nos résultats confirment ces observations. Sur milieu solide, trois souches ont perdu leur activité antimicrobienne après extraction, tandis que sur milieu liquide, toutes les souches testées ont perdu leur activité. Cela suggère que les conditions de culture et la nature du milieu influencent fortement la stabilité et l'expression des métabolites actifs, et donc l'efficacité antimicrobienne post-extraction.

6. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

6.1. Les extraits obtenus par fermentation en milieu solide

Les résultats présentés dans **la figure 14** montrent l'évaluation de l'activité antioxydante de différents extraits d'actinomycètes obtenus après fermentation en milieu solide, testés à une concentration de 0.25 mg/mL.

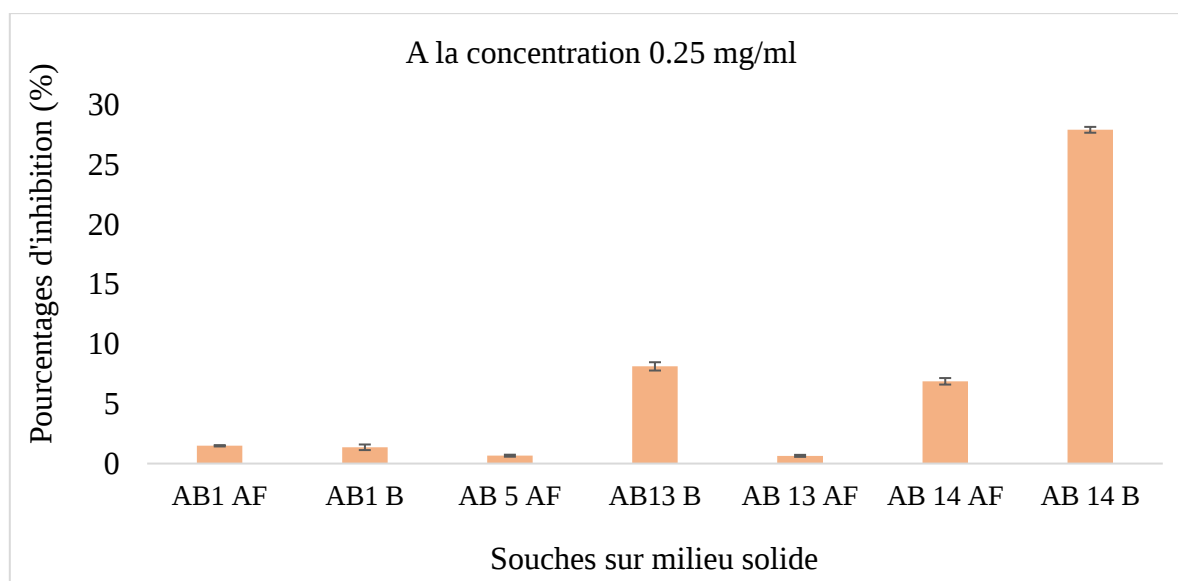


Figure 14: Activité antioxydant des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu solide

Sur milieu solide, à la concentration de 0.25 mg/ml, l'extrait AB 14 B possède un effet antiradicalaire de l'ordre de 27.9 % comparativement aux autres extraits. Les autres extraits (AB 1, AB 5, AB 13 AF) présentent des pourcentages d'inhibition <2 %. Ces résultats suggèrent que le milieu Bennett agit favorablement dans la production de composés antioxydants via fermentation solide.

Une revue récente indique que les Actinobactéries produisent divers métabolites antioxydants, notamment pigments, polysaccharides, peptides et phénols ; ces molécules agissent via piégeage des radicaux libres, réduction des métaux et activation enzymatique (catalase, SOD, glutathion peroxydase) (Arslan et al., 2025). Les extraits testés notamment (AB 14 B) s'inscrivent clairement dans cette dynamique. Selon Rammali et al. (2022), un isolat de *Streptomyces* du Maroc a montré une forte corrélation entre la teneur en composés phénoliques/flavonoïdes et son activité antioxydante (DPPH : ~25 %, ABTS : ~36 %).

6.2. Les extraits obtenus par fermentation en milieu liquide

Les résultats présentés dans la figure 15 montrent l'évaluation de l'activité antioxydante de différents extraits d'actinomycètes obtenus après fermentation en milieu liquide, testés à une concentration de 0.25 mg/mL.

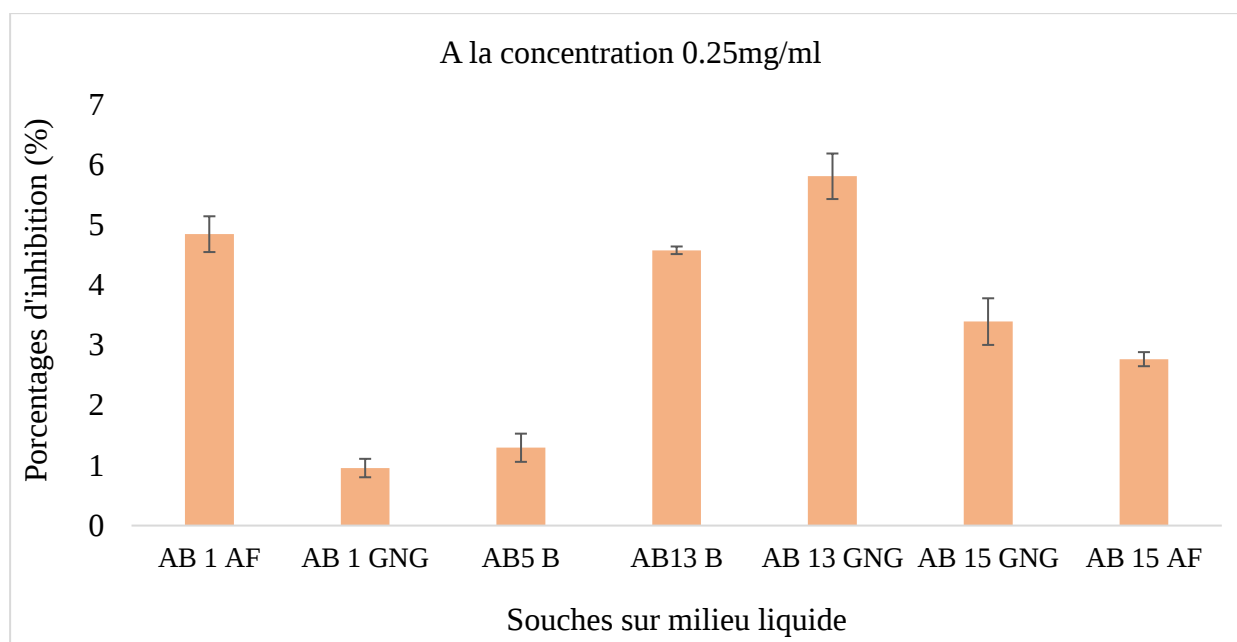


Figure 15: Activité antioxydante des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu liquide.

À la concentration de 0.25 mg/ml, les extraits des souches testées ont présenté des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 5.8 %, 4.8 %, 4.5 %, pour les extraits AB13 GNG, AB1 AF, AB13 B, respectivement. Les autres extraits ont montré des pourcentages d'inhibition qui varient entre 3.3 %, 2.7 %, 1.2 % et 0.9 % pour AB15 GNG, AB15 AF, AB5 B et AB1 GNG.

D'après ces résultats obtenus dans cette étude, nous concluons que le milieu ISP2 est le plus adapté pour l'isolement des actinomycètes à partir du sol côtier. Parmi les souches isolées, AB14 se distingue par une activité antimicrobienne à large spectre contre *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* et *B. subtilis*, ainsi qu'une activité antioxydante notable atteignant 27.9 % à une concentration de 0.25 mg/ml. Par ailleurs, l'extrait de la souche AB13, cultivée sur milieu Bennett en fermentation solide, a présenté une forte inhibition vis-à-vis de *B. subtilis* (24 mm) et *P. aeruginosa* (28 mm). Le profil enzymatique des isolats, caractérisé par l'hydrolyse de la gélatine, de la caséine et de l'amidon, suggère une appartenance probable au genre *Streptomyces*, reconnu pour sa capacité à produire des métabolites bioactifs.

Conclusion

Les actinomycètes du sol constituent une source précieuse de biomolécules naturelles grâce à leurs nombreuses activités biotechnologiques, en particulier antimicrobiennes et antioxydantes. Ce travail avait pour objectif l'isolement et l'identification de souches actinomycètes à partir d'échantillons prélevés dans la région montagneuse côtière de Mkhalled (Wilaya de Tlemcen). Les activités antibactériennes, antifongiques, et antioxydantes ont été évaluées.

Au cours de cette étude, l'isolement suivi par la purification a permis d'obtenir cinq souches, soumises à une évaluation de leur activité antimicrobienne à l'aide de deux méthodes. La méthode de cylindre d'agar a révélé une activité antimicrobienne significative de la souche AB14 vis-à-vis de *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* et *E. coli*. Parallèlement, la méthode des puits a mis en évidence une activité marquée de la souche AB5 contre *K. pneumoniae*.

Suite à l'extraction des métabolites par fermentation en milieu solide, l'extrait de la souche AB13 cultivée sur milieu Bennett a démontré une activité notable contre *P. aeruginosa* et *B. subtilis*. En ce qui concerne l'activité antioxydante, les extraits des souches AB14 Bennett et AB13 Bennett, ont présenté des pourcentages d'inhibition respectifs de 27.9 % et 8.12 % à une concentration de 0.25 mg/ml.

Ces résultats confirment le double potentiel (antimicrobien et antioxydant) des souches AB14 et AB13, et soulignent la richesse inexploitée des sols algériens comme réservoir naturel de micro-organismes producteurs de molécules bioactives à visée pharmaceutique, ouvrant ainsi la voie à de futures stratégies de valorisation dans le domaine de la recherche antimicrobienne et antioxydante.

Cette étude préliminaire mérite d'être approfondie en ce qui concerne :

- Poursuivre l'identification moléculaire des différentes souches isolées à partir de sol étudié, afin de mieux caractériser leur diversité génétique et phylogénétique (séquençage du gène 16S rRNA, PCR...).
- Identification des molécules bioactives par des techniques chromatographies et spectrales (RMN, HPLC...).
- Mettre en place des études complémentaires *in vitro* et *in vivo* afin d'évaluer l'efficacité, la toxicité et le mécanisme d'action des composés bioactifs produits.
- Evaluation de d'autre activité biologique : anti-inflammatoire, anticancéreuse, anti-neurodégénérative.
- Isolement des microorganismes des autres échantillons (sable de plage, sédiment marin ...)

Références bibliographiques

- Ait Assou, S., Anissi, J., Dufossé, L., Fouillaud, M., & El Hassouni, M. (2024). Inducing and enhancing antimicrobial activity of mining-soil-derived actinomycetes through component modification of Bennett's culture medium. *Microbiology Research*, 16(4), 72. <https://doi.org/10.3390/microbiolres16040072>
- A., Arasu, M.V., Ravindran, B. (2021). Isolation and characterization of novel *Streptomyces* strain from Algeria and its in-vitro antimicrobial properties against microbial pathogens. *Journal Of Infection And Public Health*, 14(11), p16-72
- Araujo-Melo, R. de O., de Oliveira, T. H. B., de Oliveira, C. V. J., de Araújo, J. M., de Sena, K. X. R. F., & Coelho, L. C. B. B. (2019). Actinobacteria: A Renewable Source of Bioactive Molecules with Medical, Industrial and Pharmacological Importance. In *Advances and Trends in Biotechnology and Genetics* (Vol. 1, pp. 59–76). <https://doi.org/10.9734/bpi/atbg/v1>
- Arslan, N. P., Azad, F., Orak, T., Budak-Savas, A., Ortucu, S., Dawar, P., Baltaci, M. O., Ozkan, H., Esim, N., & Taskin, M. (2025). A review on bacteria-derived antioxidant metabolites: their production, purification, characterization, potential applications, and limitations. *Archives of Pharmacal Research*, 48, 253–292. <https://doi.org/10.1007/s12272-025-01541-5>
- Ayiti, O. E., & Babalola, O. O. (2022). Factors influencing soil nitrification process and the effect on environment and health. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 821994. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.821994>
- Baniasadi, F., Baghizadeh, A., Haghighi, M., & Gharavi, S. (2009). In vitro petroleum decomposition by actinomycetes isolated from petroleum contaminated soils. [Research article]. <https://www.researchgate.net/publication/233904460>
- Bastide, A., De Méo, M., Andrianthosa, M., Laget, M., Duménil, G. (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non polyéniques. *MIRCEN J Appl Microbiol Biotechnol*, 2: 453–466.
- Beichi, M., Badis, A., & El Hattab, M. (2021). Isolation and characterization of actinobacteria from two marine algae *asparagopsis armata* and *zonaria tournefortii* with biotechnological interest. *agrobiologia*, 11(2), 2600-2608
- Belyagoubi, L., Belyagoubi-Benhammou, N., Jurado, V., Dupont, J., Lacoste, S., Djebbah, F., Ounadjela, F. Z., Benaissa, S., Habi, S., Abdelouahi, D. E., & Saiz-Jimenez, C. (2018). Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi) isolated from Chaabe Cave, Algeria. *International Journal of Speleology*, 47(2), 189–199. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.47.2.2148>

- Belyagoubi, L., Belyagoubi-Benhammou, N., Jurado, V., Dupont, J., Lacoste, S., Djebbah, F., ... & Saiz-Jimenez, C. (2018). Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi) isolated from Chaabe Cave, Algeria. *International Journal of Speleology*, 47(2), 8.
- Belyagoubi, L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et Bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Th. doctorat : Biologie : Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen p 70-76
- Bera, B. (2022). Soil Microorganisms With Effects. In Chapter of Book. St. Joseph's College, Darjeeling. <https://www.researchgate.net/publication/365996063>
- Boudjelal, F., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Nasseridine Sabaou, N. (2011). Taxonomic study and partial characterization of antimicrobial compounds from a moderately halophilic strain of the genus *Actinobaculum*. *Braz J Microbiol*, 42(3): 835–845.
- Boublenza, N. (2021). Isolement et caractérisation de souches d'actinomycètes marines productrices de biomolécules antimicrobiennes à partir de l'île de Rachgoun, l'Ouest algérien [Thèse de doctorat, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella]. *Laboratoire d'Aquaculture et de Bioremédiation (AQUABIOR)*.
- Boudemagh A., Kitouni M., Boughachiche F., Hamdiken H., Oulmi L., Reghioia S., Zerizer H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A. & Boiron P., 2005 – Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some Saharian soils of South East Algeria (Biskra, El Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *Journal of Medical Mycology*, 15: 39-44.
- Chaouche T. M., Haddouchi F., Zerhouni K., Sidi-Yekhelef A. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85, 152–159.
- Chaphalkar, S. R., & Dey, S. (1996). Computer assisted identification of *Streptomyces* species with high extra-cellular protease activity. *Actinomycetes*, 7, 47-54.
- Charousová, I., Medo, J., Hleba, L., Císarová, M., & Javoreková, S. (2019). Antimicrobial activity of actinomycetes and characterization of actinomycin-producing strain KRG-1 isolated from Karoo, South Africa. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55, e17249. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000217249>
- Chaudhary, I. J., Chauhan, R., Kale, S. S., Gosavi, S., Rathore, D., Dwivedi, V., Singh, S., & Yadav, V. K. (2025). Groundwater nitrate contamination and its effect on human health:

- A review. *Water Conservation Science and Engineering*, 10, Article 33.
<https://doi.org/10.1007/s41101-025-00359-y>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2017). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100. 12 Shomura, T., Yoshida, J., Amano, S., Kojima, M., Inouye, S., Niida, T. (1979). Studies on *Actinomycetale* producing antibiotics only on agar culture. I. Screening, taxonomy and morphology-productivity relationship of *Streptomyces halstedii*, strain SF-1993. *JAntibiot*, 32(5): 427–435.
- Dar, M. S., & Ahmad, I. (2024). Screening and evaluation of antibacterial active strains of Actinomycetes isolated from Northern Indian soil for biofilm inhibition against selected ESKAPE pathogens. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, 11, 340–355. <https://doi.org/10.1007/s43994-024-00164-8>
- Desjardin, V. (2002). Réduction du chrome (VI) par la souche *Streptomyces thermocarboxydus* NH50 isolée à partir d'un sol pollué (Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon). INSA de Lyon
- Dhaini, H. K., Khalil, M. I., & El Hajj, R. (2025). The antimicrobial potential of actinomycetes isolated from marine soils in Tyre City Beach, Lebanon: A promising source of novel bioactive metabolites. *Applied Microbiology*, 5(1), 27. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol5010027>
- Diouf, G., Dimé, A. K. D., Dia, A., Yatt, B., & Fall, M. (2024). Caractérisation physico-chimique des sols situés dans une zone à forte pollution industrielle : Cas des communes de Ngoundiane et de Rufisque au Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 18(3), 1128–1139. <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v18i3.32>
- Djebbah, F. Z., Belyagoubi, L., Abdelouahid, D. E., Kherbouche, F., Al-Dhabi, N. A., Arasu, M. V., Ravindran, B. (2021). Isolation and characterization of novel *Streptomyces* strain from Algeria and its in-vitro antimicrobial properties against microbial pathogens. *Journal Of Infection And Public Health*, 14(11), p16-72
- Djebbah F (2022). Isolement et caractérisation d'actinomyètes producteurs de substances antimicrobiennes à partir de la grotte Gueldaman 1 (GLD1) (Akbou, Algérie). thèse de doctorat, Spécialité en Microbiologie appliquée. Université Abou bakr belakid - tlemcen, Département de biologie p1-2 -31-32-55.
- Dwiyani, A., Retnowati, Y., Sidik, A., Kandowangko, N. Y., & Uno, W. D. (2025). Isolation and characterisation of Actinomycetes in the rhizosphere of *Pandanus amaryllifolius* plants

- in Gorontalo. Mikhayla: *The Journal of Advanced Research*, 2(1), 19–28.
<https://doi.org/10.61579/mikhayla.v2i1.285>
- Gacem, M. A. (2021). Screening phytochimique et activité antifongique et antibactérienne des substances bioactives de plantes médicinales et d'actinomycètes prélevées des sols sahariens [Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah Ouargla]. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- Geraldine, M., Schofield, M., Schaal, K. P. (1981). A numerical taxonomic study of members of the *Actinomycetaceae* and related taxa. *J Gen Microbiol*, 127(2): 237–259.
- Girma, D., Feyisa, A., Chaluma, E., Mulu, D., Geta, S., & Tafesse, M. (2025). Insights into the antibacterial, antioxidant, and fabric colorant applications by pigment-producing actinomycetes from Sof-Umer cave rocks and sediments. *BMC Microbiology*, 25, 236. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03959-9>
- Harouna Maidoukia Abdoul Razack, Garba Boubacar, YahouzaZaneidou, &Boudemagha. (2024). Study of SomeEnzymaticActivities of ActinomycetesIsolatedfromTwoExtremeEcosystems in SouthernAlgeria. *International Journal of CurrentMicrobiology and Applied Sciences*, 13(4), 156–163.
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2024.1304.018>
- Jakubiec-Krzesniak, K., Rajnisz-Mateusiak, A., Guspiel, A., Ziemska, J., & Solecka, J. (2018). Secondary metabolites of actinomycetes and their antibacterial, antifungal and antiviral properties. *Polish Journal of Microbiology*, 67(3), 259–272.
<https://doi.org/10.21307/pjm-2018-048>
- Jose, P. A., Maharshi, A., & Jha, B. (2021). Actinobacteria in natural products research: Progress and prospects. *Microbiological Research*, 246, 126708.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126708>
- Khirennas, O., Mokrani, S., Behira, B., Bouras, N., Driche, E. H., &Moumen, O. (2023). Isolation, Identification and Screening of SaharanActinomyceteStrain Streptomyces fimbriatus AC31 EndowedwithAntimicrobial Activity. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 12(1), 51–69.
<https://doi.org/10.22088/IJMCM.BUMS.12.1.51>
- Kitouni, M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extremes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat en Microbiologie appliquée. Université Mentouri-Constantine. Algérie. 170p.

- Krishnamurthi, S., Chakrabarti, T. (2013). Diversity of bacteria and archaea from a landfill in Chandigarh, India as revealed by culture-dependent and culture-independent molecular approaches. *Syst Appl Microbiol*, 36(1): 56–68.
- Krysenko, S., & Wohlleben, W. (2024). Role of Carbon, Nitrogen, Phosphate and Sulfur Metabolism in Secondary Metabolism Precursor Supply in *Streptomyces* spp. *Microorganisms*, 12(8), 1571. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12081571>
- Remya, M., & Vijayakumar, R. (2008). Isolation and characterization of marine antagonistic actinomycetes from west coast of India. *Medicine and Biology*, 15, 13–19.
- Lemriss, S., Laurent, F., Couble, A., Casoli, E., Lancelin, J. M., Saintpierre-Bonaccio, D., Rifai, S., Fassouane, A., Boiron, P. (2003). Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Can J Microbiol*, 49(11): 669–674.
- Leulmi, N., Sighel, D., Defant, A., Khenaka, K., Boulahrouf, A., & Mancini, I. (2019). Enhanced production and quantitative evaluation of nigericin from the Algerian soil-living *Streptomyces youssoufiensis* SF10 strain. *Fermentation*, 5(1), 13. <https://doi.org/10.3390/fermentation5010013>
- Li, L., Xu, M., Eyakub Ali, M., Zhang, W., Duan, Y., & Li, D. (2018). Factors affecting soil microbial biomass and functional diversity with the application of organic amendments in three contrasting cropland soils during a field experiment. *PLOS ONE*, 13(9), e0203812. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203812>
- Manandhar, S., & Sharma, S. (2013). Practical approach to microbiology (Revised ed.). National Book Centre, Graphic Plus Printers.
- Margalith, P. L. (1992). Pigment microbiology. *First edition Chapman et Hall*. 5–15.
- Marchal, N., Bourdon, J. L. (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin éditeurs –Paris. 509p
- Mebrat, Y. (2024). Production of secondary metabolites by Actinomycetes and their biological applications: A review. *International Journal of Science, Technology, Engineering and Mathematics*, 4(3), 154–172. <https://doi.org/10.53378/ijstem.353099>
- Meenakshi, S., Hiremath, J., Meenakshi, MH, et Shivaveerakumar, S. (2024). Actinomycètes : isolement, culture et leurs biomolécules actives. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 18(1), 118–143. <https://doi.org/10.22207/JPAM.18.1.48>
- Mukhtar, S., Zaheer, A., Aiysha, D., Malik, K. A., & Mehnaz, S. (2017). Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 10(12), 316–319. <https://doi.org/10.4172/jpb.1000456>

- Nazari, M. T., Machado, B. S., Marchezi, G., Crestani, L., Ferrari, V., Colla, L. M., & Piccin, J. S. (2022). Use of soil actinomycetes for pharmaceutical, food, agricultural, and environmental purposes. *3 Biotech*, 12, 232. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03307-yg/10.1007/s13205-022-03307-y>
- Ngamcharungchit, C., Chaimusik, N., Panbangred, W., Euanorasetr, J. et Intra, B. (2023). Métabolites bioactifs des actinomycètes terrestres et marins. *Molécules*, 28 (15), 5915. P1-2-3
- Onet, A., Grenni, P., Onet, C., Stoian, V., & Crisan, V. (2025). Forest soil microbiomes: A review of key research from 2003 to 2023. *Forests*, 16(1), 148. <https://doi.org/10.3390/f16010148>
- Petrosyan, P., Garcia-Varela, M., Luz-Madrigal, A., Huitron, C., Flores, M. E. (2003). *Streptomyces mexicanus* sp. nov., a xylanolytic microorganism isolated from soil. *Inter J SystEvolMicrobiol*, 53(Pt 1): 269–273.
- Public Health England. (2016). Identification of aerobic actinomycetes (UK Standards for Microbiology Investigations, ID 10, Issue 2.2). <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories> (consulter le 21/05/2025)
- Pullen, C., Schmitz, P., Meurer, K., Bamberg, D. D. v., Lohmann, S., De Castro França, S., Groth, I., Schlegel, B., Möllmann, U., Gollmick, F., Gräfe, U., & Leistner, E. (2002). New and bioactive compounds from *Streptomyces* strains residing in the wood of Celastraceae. *Planta*, 216(2), 162–167. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0874-6>
- Rammali, S., Hilali, L., Dari, K., Bencharki, B., Rahim, A., Timinouni, M., Gaboune, F., El Aalaoui, M., & Khattabi, A. (2022). Antimicrobial and antioxidant activities of *Streptomyces* species from soils of three different cold sites in the Fez-Meknes region Morocco. *Scientific Reports*, 12, 17233. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21644-z>
- Rangseekaew, P., & Pathom-aree, W. (2019). Cave Actinobacteria as producers of bioactive metabolites. *Frontiers in Microbiology*, 10, 387. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00387>
- Rütten, A., Kirchner, N., & Musiol-Kroll, E. M. (2022). Overview on strategies and assays for antibiotic discovery. *Pharmaceuticals*, 15(11), 1302. <https://doi.org/10.3390/ph15111302>
- Ranjani, A., Dhanasekaran, D., & Gopinath, P. M. (2016). An introduction to Actinobacteria. In D. Dhanasekaran & Y. Jiang (Eds.), *Actinobacteria - Basics and biotechnological applications* (pp. 1–35). InTechOpen. <https://doi.org/10.5772/62329>

- Robertson, G. P., & Groffman, P. M. (2024). Chapter 14: Nitrogen transformations. In *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822941-5.00014-4>
- ROGER, P., Garcia, J. L., & de Marseille, A. I. (2001). Microbiologie Microbiologie du sol.
- Romero, F., Hilfiker, S., Edlinger, A., Held, A., Hartman, K., Labouyrie, M., & van der Heijden, M. G. A. (2023). Soil microbial biodiversity promotes crop productivity and agro-ecosystem functioning in experimental microcosms. *Science of the Total Environment*, 885, 163683. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163683>
- Saadoun, L., Al moumani, F. (1997). *Streptomyces* from Jordan soils active against *Agrobacterium tumefaciens*. *Actinomycetes*, 8(1-2) : 29–36.
- Sailaja Rani, J., Reddi Kumar, M., Khayum Ahammed, S., Koteswara Rao, S. R., Ravindra Reddy, B., & Sarada Jayalakshmi Devi, R. (2023). *Biochemical characterization of Actinomycetes isolated from rhizosphere soils of groundnut in Andhra Pradesh*. *Ecology, Environment and Conservation*, 29(1), 342–346. <https://doi.org/10.53550/EEC.2023.v29i01.049>
- Sáhó, A., Karikás, V., Ásványi, B., Lakatos, E., Varga, L., & Greff, B. (2024). Bioactive potential of actinobacteria strains ,isolated from the rhizosphere of lavender, lemonbalm, and oregano. *Agriculture*, 14(10), 1758. <https://doi.org/10.3390/agriculture14101758>
- Salem, GS, Baiu, SH et Ali, AA (2023). Isolement, examen et caractérisation d'actinomycètes comme source d'agents antimicrobiens dans le sol libyen. *Progrès en biosciences et biotechnologies*, 14(6), 322–336. <https://doi.org/10.4236/abb.2023.146020>
- Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F (1998) A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric* 76(2):270–276
- Sapkota, A., Thapa, A., Budhathoki, A., Sainju, M., Shrestha, P., & Aryal, S. (2020). Isolation, characterization, and screening of antimicrobial-producing actinomycetes from soil samples. *International Journal of Microbiology*, 2020, Article ID 2716584. <https://doi.org/10.1155/2020/2716584>
- Schofield, G. M., & Schaal, K. P. (1981). A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. *Microbiology*, 127(2), 237-259.
- Shirling, E. B., Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int J Syst Bacteriol*, 16(3): 313–340
- Shirling, E. B., Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *IntJ SystBacteriol*, 16(3): 313–340.

- Silva, G. C., Kitano, I. T., Ribeiro, I. A. F., & Lacava, P. T. (2022). The potential use of actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture. *Frontiers in Soil Science*, 2, Article 833181. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.833181>
- Takahashi, Y., & Nakashima, T. (2018). Actinomycetes, an inexhaustible source of naturally occurring antibiotics. *Antibiotics*, 7(2), 45. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7020045>
- Takizawa M., Colwell R.R. & Hill R.T., 1993 – Isolation and diversity of actinomycetes in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 997-1002.
- Vanathi, P., Sundaresan, U., & Manivannan, K. (2024). Characterization and Genetic analysis of Actinomycetes from Mangrove and Coastal Environments: Enzyme Production, Dye Degradation and Antibiotic Resistance. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 21(4), 1553–1573. <https://doi.org/10.13005/bbra/3325>
- Wauters, G., Avesani, V., Charlier, J., Janssens, M., Vaneechoutte, M., & Delmée, M. (2005). Distribution of *Nocardia* species in clinical samples and their routine rapid identification in the laboratory. *Journal of clinical microbiology*, 43(6), 2624-2628.
- Williams S.T. & Davies F.L., 1965 – Use of antibiotics for selective isolation and enumeration of actinomycetes from soil. *Journal of General Microbiology*, 38: 251-261. <https://doi.org/10.1099/00221287-38-2-251>

Annexes

Annexes 01

Composition des milieux de culture

Composition du milieu	Quantité
AF	
Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Glucose	2g
NaCl	2.5g
CaCO ₃	1g
Agar	15g
Eau distillée	1000mL
pH	7±0.2
Amidon caséine agar (M₂)	
Amidon	10 g
Caséine	0.3 g
KNO ₃	2 g
NaCl	2 g
KH ₂ PO ₄	2 g
MgSO ₄	0.05 g
CaCO ₃	0.02 g
FeSO ₄	0.01g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7.4
Bennett	
Extrait de levure	1g
Extrait de viande	1g
Peptone pancréatique de caséine	2g
Glucose	10g
Agar	15g
Eau distillée	1000mL
pH	7±0.2

Bouillon nutritif Peptone Extrait de levure NaCl Eau distillée pH	10 g 5 g 5 g 1000 mL 7.2
Bouillon Sabouraud Peptone de gélatine Glucose Eau distillée pH	10g 20g 1000mL 5.6
Citrate de Simmons Ammonium dihydrogenophosphate Phosphate de dipotassique Chlorure de sodium Citrate de sodium Sulfate magnésium Bleu de bromothymol Agar Eau distillée pH	1g 5g 2g 0.2g 0.08g 15g 1000 mL 6.8

Gélose TSI (Triple Sugar Iron)	
Peptone de viande	15g
Protéose peptone	5g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	3g
Glucose	1g
Saccharose	10g
Lactose	10g
Citrate de fer ammoniacal	0.3g
Chlorure de sodium	5g
Sodium thiosulfate	0.3g
Rouge de phénol	0.05g
Agar	18g
Eau distillée	1000 mL
pH	7.2
GNG	
Gélose nutritive	24g
Gélatine	4g
Eau distillée	1000 mL
PH	7.2
ISP2	
Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Glucose	4g
Agar	20g
Eau distillée	1000mL
pH	7±0.2

ISP6	
Peptone	15g
Proteose peptone	5g
Citrate de fer ammoniacal	0.5g
Thiosulfate de sodium	0,08g
Extrait de levure	1g
K ₂ HPO ₄	1g
Agar	20g
Eau distillée	1000mL
pH	7±0.2
ISP7	
Glycerol	15g
L-asparagine	1g
K ₂ HPO ₄	0.5g
NaCl	0.5g
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0.01g
Agar	20g
Eau distillée	1000mL
pH 7±0,2	7±0.2
Mueller Hinton	
infusion de viande de boeuf	2 g
Amidon	15 g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Agar	17 g
Eau distillée	1000 mL
pH	7.3

Sabouraud	
Peptone de gélatine	10g
Glucose	20g
Agar	17g
Eau distillée	1000 mL
pH	17g
TSA (Gélose Trypticase de soja)	17 g
Trypticase	3 g
Soytone	5 g
Chlorure de sodium	15 g
Agar	1000ML
Eau distillée	7.2
pH	
Urée- indole	
L-Tryptophane	3 g
Phosphate de dipotassique	1 g
Phosphate monopotassique	1 g
Chlorure de sodium	5 g
Urée	20 g
Rouge de phénol	2.5 g
Eau distillée	1000 ml
pH 6,8	6.8

Annexes 02

Tableau 8: Activité antimicrobienne des souches actinomycètes par la méthode de cylindre d'agar.

	AB 1	AB 15	AB 13	AB 5	AB 14
<i>S. aureus</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	9.5±0.71
<i>B. subtilis</i>	10±0	13.5±3.54	8.5±0.71	12.5±3.54	10.5±0.71
<i>P. aeruginosa</i>	0±0	14±1.41	6.25±0.35	15±0	8±2.83
<i>E. coli</i>	6.25±0	6.5±0.71	11.5±0.71	6.5±0.71	7.5±2.12
<i>K. pneumoniae</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>C. albicans</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

Tableau 9: Activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes par la méthode des puits.

	AB 1	AB 5	AB 13	AB 14	AB 15
<i>S. aureus</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>B. subtilis</i>	16±1.41	0±0	0±0	8±0	24±8.49
<i>P. aeruginosa</i>	12.5±9.19	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>E. coli</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>K. pneumoniae</i>	0±0	18±2.83	0±0	0±0	0±0
<i>C. albicans</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

Tableau 10: Activité antimicrobienne des extraits obtenus après fermentation des souches d'actinomycètes sur milieu solide.

	AB1 Bennett	AB 5 Bennett	AB13 Bennett	AB14 Bennett	AB15 Bennett	AB1 AF	AB5 AF	AB13 AF	AB14 AF
<i>S. aureus</i>	0±0	0±0	0±0	8.5±3.54	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>B. subtilis</i>	0±0	0±0	27±1.41	6.5±0.71	0±0	0±0	0±0	6.75± 0.35	0±0
<i>P. aeruginosa</i>	0±0	0±0	24±0	0±0	0±0	0±0	0±0	13.5± 0.71	0±0
<i>E. coli</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>K. pneumoniae</i>	0±0	0±0	0±0	6.25±0.35	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>C. albicans</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

Tableau 11: Activité antioxydant des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu solide.

Extrait solide 0,25(mg/ml)	D01	%d'inhibition	DO2	%d'inhibition	Moyenne	Ecart type
AB1 AF	0.7425	1.45	0.7419	1.53	1.49	0.06
AB1 B	0.7444	1.19	0.7419	1.53	1.36	0.23
AB 5 AF	0.7489	0.60	0.748	0.72	0.66	0.08
AB13 B	0.694	7.88	0.6903	8.38	8.13	0.35
AB 13 AF	0.7481	0.70	0.749	0.58	0.64	0.08
AB 14 AF	0.703	6.69	0.7001	7.07	6.88	0.27
AB 14 B	0.5417	28.10	0.5443	27.75	27.93	0.24

Tableau 12: Activité antioxydante des extraits obtenus après fermentation des actinomycètes sur milieu liquide.

Extrait Liquide 0.25(mg/ml)	D01	%d'inhibition	DO2	%d'inhibition	Moyenne	Ecart type
AB 1 AF	0.7471	4.64	0.7438	5.06	4.85	0.30
AB 1 GNG	0.7751	1.07	0.7768	0.85	0.96	0.15
AB5 B	0.7746	1.13	0.772	1.46	1.30	0.23
AB13 B	0.7472	4.63	0.7479	4.54	4.58	0.06
AB 13 GNG	0.74	5.55	0.7358	6.08	5.81	0.38
AB 15 GNG	0.7547	3.67	0.759	3.12	3.40	0.39
AB 15 AF	0.7624	2.69	0.7611	2.85	2.77	0.12

Tableau 13: Origine des souches d'actinomycètes.

Code de souche	Milieu /dilution	Aspect macroscopique
AB 1	GNG 10 ⁻⁶	Colonie grise au centre, contour blanc, grande taille
AB 2	GNG 10 ⁻⁴	Colonie blanchâtre
AB 3	ISP2 10 ⁻⁴	Colonie blanchâtre grise, sous forme étoile
AB 4	ISP2 10 ⁻³	Colonie grise
AB 5	ISP2 10 ⁻³	Colonie marron gris
AB 6	ISP2 10 ⁻⁵	Colonie blanchâtre
AB 7	Bennett 10 ⁻³	Colonie gris
AB 8	Bennett 10 ⁻³	Colonie noire gris
AB 9	Bennett 10 ⁻³	Colonie gris
AB10	Bennett 10 ⁻³	Colonie gris
AB 11	ISP2 10 ⁻²	Colonie blanchâtre gris
AB 12	GNG 10 ⁻²	Colonie blanchâtre
AB 13	GNG 10 ⁻³	Colonie blanchâtre
AB 14	TSA 10 ⁻³	Colonie gris claire
AB 15	TSA 10 ⁻³	Colonie blanchâtre