



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID --TLEMCE--

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Département d'Ecologie Et Environnement

Mémoire présenté par

Mr. HADJIDJ Adil

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

Filière : Hydrobiologie marine et continentale
Spécialité : Sciences de la Mer

Thème :

**Isolement Et Identification De Souches D'actinomycètes Marines Dotée D'un Pouvoir
Antifongique**

Soutenu le Juin 2025, devant le jury composé de :

Présidente : Mme DAMERDJI Amina	professeur	Université de Tlemcen
Examineur : Mr BELYAGOUBI Larbi	professeur	Université de Tlemcen
Encadrante : Mme BOUBLENZA Nesrine	MCB	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2024-2025



Remerciements

Il m'est essentiel, en préambule de ce travail, d'exprimer toute ma gratitude envers celles et ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à sa réalisation. Avant toute chose, je remercie Dieu de m'avoir accordé la force, le courage et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce modeste travail. Je tiens à adresser mes remerciements les plus sincères et ma profonde reconnaissance à Madame Dr. Boublenza Nessrine, enseignante-chercheuse à l'Université de Tlemcen, pour son encadrement bienveillant, ses orientations scientifiques pertinentes et son soutien constant. Son écoute, sa patience et ses précieux conseils ont largement contribué à la qualité de ce travail. Malgré ses nombreuses responsabilités, elle m'a accompagnée avec disponibilité et rigueur, facilitant grandement l'avancée de cette recherche.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Madame Damerdji Amina, présidente du jury, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'évaluer ce travail. Sa disponibilité et la qualité de ses remarques ont grandement enrichi ce mémoire.

Je remercie également Monsieur Belyagoubi Larbi, examinateur, pour son appui précieux tant dans l'évaluation de ce travail que lors de la phase expérimentale. Sa pédagogie, sa disponibilité et ses encouragements m'ont permis de progresser dans un environnement enrichissant et formateur.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent aussi à Madame Dahaooui Salima, Madame Dali Youcef Khadidja et Monsieur Benmoussat Benslimane pour leur aide technique, leur disponibilité et leurs conseils pratiques au laboratoire. Leur accompagnement a été d'une grande valeur durant toute la phase expérimentale. Je garde un souvenir très positif de l'ambiance chaleureuse et stimulante au sein du laboratoire, marquée par l'échange, l'entraide et la découverte. Cet environnement m'a permis de m'épanouir dans un cadre motivant et propice au travail scientifique.

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance à mes parents, pour leur amour inconditionnel, leur soutien moral infaillible et leurs encouragements à chaque étape de ce parcours. Leur confiance et leurs sacrifices ont été pour moi une source de force inestimable.

Un grand merci également à mes amis, pour leur bienveillance, leur écoute et leur soutien dans les moments de doute ou de fatigue. Leur présence a été d'un réconfort précieux tout au long de ce chemin. Enfin, je remercie de tout cœur toutes les personnes, visibles ou

discrètes, qui ont, à leur manière, contribué à la réalisation de ce travail, que ce soit par leur aide, leur soutien ou leurs encouragements.

ملخص

ظهر المقاومة المتزايدة للعوامل المضادة للفطريات الحاجة الملحة إلى استكشاف مصادر طبيعية جديدة للمركبات الحيوية النشطة. تُعدّ الأكتينوميسيتات البحرية، المعروفة بقدرتها على إنتاج مستقلبات ثانوية ذات إمكانات علاجية عالية، من بين أبرز الكائنات الدقيقة الواعدة في هذا المجال. استهدفت هذه الدراسة الرواسب البحرية المجمعة من شاطئ الوردانية (ولهاصة الغرابة) لعزل هذه البكتيريا وتقييم إمكاناتها البيولوجية.

تم عزل عدة سلالات من الأكتينوميسيتات باستخدام وسط زراعي مناسب، وقد أظهرت خصائص مورفولوجية نموذجية لهذه المجموعة، مع تنوع واضح في شكل المستعمرات. كما تبين أن جميع السلالات موجبة لصبغة وتنمّع ببنية خيطية عند الفحص المجهرى. أُجري اختبار غربلة أولية لتقييم النشاط المضاد للفطريات، حيث أظهرت سلالة واحدة فقط فعالية ملحوظة ضد أحد الفطريات الممرضة، مما يشير إلى إمكانية واعدة تستحق المتابعة والدراسة المعمقة. كما أُجريت اختبارات كيميائية حيوية من أجل توصيف العزلات بشكل أدق، وقد أظهرت هذه التحاليل قدرة السلالات على إنتاج إنزيمات مختلفة تشارك في تحليل الركائز العضوية، مع تميز كل سلالة بنمط إنزيمي خاص بها. تعكس هذه النتائج التنوع الأيضي والقدرة التكيفية للأكتينوميسيتات البحرية المعزولة.

بشكل عام، تؤكد هذه المعطيات أهمية البيئة البحرية كمخزون غني بالكائنات الدقيقة ذات الإمكانات البيوتكنولوجية. وتبرز الأكتينوميسيتات البحرية من السواحل الجزائرية كمرشحات واعدة في البحث عن جزيئات حيوية نشطة، خصوصاً في مجال مكافحة العدوى الفطرية

الكلمات المفتاحية : الكتينوميسيتات - المضادات الحيوية - الفرز - نشاط مضادات الميكروبات

Résumé

La résistance croissante aux agents antifongiques met en lumière la nécessité urgente d'explorer de nouvelles sources naturelles de composés bioactifs. Les actinomycètes marins, bien connus pour leur capacité à produire des métabolites secondaires à fort potentiel thérapeutique, constituent une voie prometteuse. Cette étude s'est inscrite dans cette démarche en ciblant les sédiments marins prélevés sur la plage El Ouardania (Oulhaça El Gheraba), afin d'isoler et d'évaluer le potentiel biologique de ces bactéries.

Plusieurs souches d'actinomycètes ont été isolées sur un milieu adapté. Elles présentaient les caractéristiques morphologiques typiques de ce groupe, avec une diversité visible entre les colonies. Toutes les souches se sont révélées Gram positives, et ont montré une structure filamenteuse au microscope. Un criblage primaire a été réalisé pour évaluer leur activité antifongique. Parmi les souches testées, une seule a montré un effet notable contre un champignon pathogène, révélant ainsi un potentiel antifongique intéressant à explorer davantage. Des tests biochimiques ont été menés pour mieux caractériser les isolats. Ils ont mis en évidence la capacité des souches à produire diverses enzymes impliquées dans la dégradation de substrats organiques, avec des profils variés d'une souche à l'autre. Ces résultats soulignent la diversité métabolique des actinomycètes marins isolés et leur adaptabilité.

L'ensemble des données obtenues confirme l'intérêt de prospecter les milieux marins comme réservoirs de micro-organismes aux propriétés biotechnologiques. Les actinomycètes marins issus de la côte algérienne apparaissent ainsi comme des candidats prometteurs dans la recherche de nouvelles molécules bioactives, notamment en contexte de lutte contre les infections fongiques.

Mots clés : Actinomycètes - Antibiotique - Criblage - Activité antimicrobienne.

Abstract

The growing resistance to antifungal agents highlights the urgent need to explore new natural sources of bioactive compounds. Marine actinomycetes, well known for their ability to produce secondary metabolites with high therapeutic potential, represent a promising avenue. This study followed that approach by targeting marine sediments collected from El Ouardania Beach (Oulhaça El Gheraba) to isolate and evaluate the biological potential of these bacteria.

Several actinomycete strains were isolated using a suitable culture medium. They displayed typical morphological characteristics of this group, with visible diversity among colonies. All strains were Gram-positive and showed a filamentous structure under the microscope. A primary screening was carried out to assess their antifungal activity. Among the tested strains, only one showed a significant effect against a pathogenic fungus, revealing a promising antifungal potential worth further exploration. Biochemical tests were conducted to better characterize the isolates. These revealed the strains' ability to produce various enzymes involved in the degradation of organic substrates, with each strain displaying a distinct profile. These results highlight the metabolic diversity and adaptability of the marine actinomycetes isolated.

Overall, the data confirm the relevance of exploring marine environments as reservoirs of microorganisms with biotechnological potential. Marine actinomycetes from the Algerian coast thus emerge as promising candidates in the search for new bioactive molecules, particularly in the fight against fungal infections.

Key words: Actinomycetes - Antibiotic - Screening - Antimicrobial activity.

Sommaire

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Synthèse bibliographique

Chapitre I : les Actinomycètes

Généralité sur les Actinomycètes

1. Origine de la nomenclature et historique.....	4
2. Caractéristiques générales des actinomycètes.....	5
3. Morphologie et critères d'identification.....	6
4. Écologie et distribution des actinomycètes dans la nature.....	8
5. Milieux de culture et métabolisme.....	9

Chapitre II : Les Antibiotiques

Généralité sur Les Antibiotiques

1. Découverte du monde microbien	11
2. Métabolites secondaires des micro-organismes.....	11
3. Fonctionnement des antibiotiques.....	12

Matériel et méthodes

1. Le site d'échantillonnage.....	14
2. Caractérisation physico-chimique du sédiments.....	15
3. L'isolement des actinomycètes marins.....	15
4. Préparation des isolats et conservation.....	16
1. Court terme.....	16
2. La cryoconservation	16
5. L'étude morphologique des isolats	16
- L'étude microscopique des isolats	16
6. L'étude des caractéristiques biochimiques.....	17

6.1 Évaluation de l'activité gélatinase des isolats.....	17
6.2 Peptonisation La coagulation et du lait écrémé.....	18
6.3 Utilisation du citrate.....	18
6.4 Évaluation de l'activité de catalase des isolats.....	18
6.5 Évaluation simultanée de l'activité uréase et de la production d'indole.....	19
6.6 Étude des activités métaboliques sur le milieu triple sucre fer (TSI).....	19
7. Criblage initial de l'activité antimicrobienne et identification du milieu optimal pour la biosynthèse antibiotique.....	19
8. L'extraction des biomolécules antifongiques sur milieu solide.....	20
9. Le screening secondaire de l'activité antimicrobienne.....	21
10. Le test de l'ergostérol	22

Résultats

1. Caractéristiques physicochimiques des échantillons.....	23
2. Isolement des actinomycètes.....	23
3. Les caractéristiques culturelles et microscopiques des actinomycètes marins.....	24
4. La coloration de Gram.....	25
5. Les caractéristiques biochimiques et physiologiques des actinobactéries.....	26
5.1 Test de citrate de Simmons.	28
5.2 Test de gélatinas.....	28
5.3 Test de Urée-indole.....	29
5.4 Test de catalase.....	30
5.5 L'action sur le lait écrémé.....	30
5.6 Test de TSI.....	31

6. Le criblage primaire de l'activité antimicrobienne.....	32
7. La recherche de la nature Polyénique/ou non-Polyénique de l'extrait actif	32
8. Le screening secondaire de l'activité.....	34
 Discussion.....	 36

Conclusion & Perspectives

Référence bibliographique

Annexe

Liste des Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATCC : American Type Culture Collection.

BMR : Bactéries multirésistantes.

CIP : Collection de l'Institut Pasteur.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DAP : Acide diaminopimélique.

DDH : Hybridation ADN-ADN.

DO : Densité optique.

FDA : Food and Drug Administration.

GC : Guanine-Cytosine.

GC/MS : Chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse.

Gly : Glycine.

H₂O : Eau.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

ISP : International Streptomyces Project.

MA : Mycélium aérien.

MH : Mueller-Hinton.

MS : Mycélium du substrat.

M2 : Amidon caséine agar.

NaCl : Chlorure de sodium.

nm : Nanomètre.

O₂ : Oxygène.

pH : Potentiel hydrogène.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

Sp.i. : Spores isolées.

Sp.m. : Spores mobiles.

TSI : Triple Sugar Iron.

V : Variable.

µg/ml : Microgramme par millilitre.

µl : Microlitre.

µm : Micromètre.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Paramètres physico-chimiques du site d'échantillonnage (Plage El Ouardania.....	23
Tableau 2 : Résultats Isolement des actinomycètes dans le milieu M2 et la gélose de Gause.....	24
Tableau 3 : Les tests biochimiques et physiologiques effectués dans le cadre de l'étude microbiologique.	27
Tableau 4 : Les résultats du screening primaire de l'activité.....	34
Tableau 5 : Résultats du screening secondaire de l'activité antifongique de la souche S5 contre <i>Aspergillus fumigatus</i>	35

Liste des figures

Figure 1 : Localisation et coordonnées du périmètre de la plage El Ouardania, située à Oulhaça El Gheraba.....	14
Figure 2 : pH-mètres électronique et conductivimètre.....	15
Figure 3 : coloration de Gram.....	17
Figure 4 : Evaporation du solvant par un rota vapeur.	21
Figure 5 : Morphologie typique des colonies d'actinomycètes isolées du sédiment marin.).....	24
Figure 6 : Observation microscopique des isolats d'actinomycètes après coloration de Gram (grossissement $\times 100$ avec ajout de gouttes d'huile..	25
Figure 7 : Résultats de test citrate de Simmons.	28
Figure 8 : Résultats de Test de gélatine.....	29
Figure 9 : Résultats de Test de Urée-indole.....	29
Figure 10 : Résultats de Test de catalase.	30
Figure 11 : Résultats de test de L'action sur le lait écrémé.	30
Figure 12 : Résultats de test de TSI.	31
Figure 13 : Résultats des zones d'inhibition de la souche S5 d'actinomycète isolée).....	33
Figure 14 : Résultats des zones d'inhibition de la souche S5, milieu PDA enrichi en ergostérol.....	33
Figure 15 : Les zones d'inhibition des extraits actifs de la souche S5 sur milieu PDA supplémenté en ergostérol, (A) : extrait d'acétate d'ethyle, (B) : extrait de chloroforme.....	35

Introduction

Introduction

Les actinomycètes représentent un ordre bactérien d'une importance considérable dans le domaine de la biotechnologie, caractérisé par une morphologie filamenteuse rappelant celle des champignons, malgré leur nature procaryotique avérée (**Barka et al., 2016**). Ces microorganismes, appartenant à l'ordre des Actinomycetales, se distinguent par une teneur élevée en guanine-cytosine dans leur ADN, généralement comprise entre 60 et 75%, ce qui constitue un trait génomique distinctif de ce groupe (**Stackebrandt et al., 1997; Venturi et al., 2007; Zhi et al., 2009**). Leur organisation cellulaire, bien que procaryotique, présente une architecture particulière avec un mycélium ramifié et la capacité à former des spores, caractéristiques qui ont longtemps conduit à les confondre avec les champignons filamenteux (**Embley & Stackebrandt, 1994**). L'histoire de leur découverte remonte à 1875, lorsque Cohn isola un parasite des excréments du canal lacrymal humain qu'il nomma *Streptothrix foersteri*, puis en 1877, Hartz identifia *Actinomyces bovis* à partir de la mâchoire bovine (**Williams et al., 1989**). Ce n'est qu'entre 1890 et 1892 que Gasperi établit l'identité de ces deux genres, proposant le terme "actinomycètes" pour désigner ces bactéries capables de former un mycélium et de sporuler dans des conditions défavorables (**Waksman & Henrici, 1943**).

Les actinomycètes présentent une diversité écologique remarquable, occupant des niches environnementales variées allant des sols terrestres aux écosystèmes aquatiques (**Goodfellow & Williams, 1983**). Bien que traditionnellement considérés comme des organismes terrestres, de nombreuses espèces ont été isolées à partir d'environnements marins, démontrant leur capacité d'adaptation à des conditions extrêmement diverses (**Jensen et al., 2005**). Leur présence dans les sédiments marins, à des profondeurs pouvant atteindre 500 mètres, témoigne de leur plasticité adaptative exceptionnelle (**Das et al., 2008**). Les mangroves constituent également un habitat privilégié pour ces bactéries, car ces écosystèmes offrent des conditions uniques favorisant l'évolution de voies métaboliques originales aboutissant à la biosynthèse de métabolites exclusifs (**Thatoi et al., 2013**). Dans ces environnements, les actinomycètes s'associent fréquemment avec divers organismes aquatiques, notamment des invertébrés comme les éponges, les coraux et les échinodermes, ainsi que des vertébrés tels que les poissons-globes, ces interactions pouvant influencer l'évolution de leurs voies métaboliques secondaires (**Jensen et al., 2005 ; Freel et al., 2012**).

L'importance biotechnologique des actinomycètes réside principalement dans leur capacité à produire une vaste gamme de métabolites secondaires bioactifs (**Berdy, 2005**). Près

Introduction

de 80% des antibiotiques utilisés dans le domaine médical proviennent des Actinobactéries, dont 50% sont issus du seul genre *Streptomyces* (Ilic et al., 2007 ; Van der Heul et al., 2018). Chaque souche d'actinobactérie possède le potentiel de produire entre 10 et 20 métabolites secondaires différents, confirmant ainsi la prodigieuse capacité de ce phylum à générer des antibiotiques (Arasu et al., 2009). Les principales classes de molécules produites incluent les aminoglycosides, les β -lactames, les glycopeptides, les macrolides et les tétracyclines, dont plusieurs sont essentielles dans l'arsenal thérapeutique contemporain (Mast & Stegmann, 2019).

Au-delà de leur rôle dans la production d'antibiotiques, les actinomycètes marins se révèlent être des sources précieuses de composés antitumoraux, antifongiques, antihelminthiques et antibiofouling (Fiedler et al., 2008 ; Williams et al., 2005). Des molécules comme la streptochlorine, les actinofuranones, l'auréovercillactame et les cyanosporasides démontrent un potentiel antitumoral significatif, offrant des perspectives prometteuses pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses (Jagannathan et al., 2021). Dans le domaine environnemental, leur capacité à dégrader des composés organiques complexes comme les pesticides, les métaux lourds et même les déchets radioactifs souligne leur importance dans les efforts de bioremédiation (Fuentes et al., 2010; Ghanem et al., 2000).

L'exploration des actinomycètes d'origine marine représente une frontière relativement nouvelle dans la recherche de produits naturels, avec un potentiel considérable pour la découverte de nouvelles molécules bioactives (Fenical & Jensen, 2006). Contrairement aux espèces terrestres largement étudiées, les actinomycètes marins commencent seulement à être caractérisés et exploités, une grande partie de leur diversité demeurant inexplorée (Jagannathan et al., 2021). Les défis associés à leur culture et à l'expression de leurs clusters de gènes biosynthétiques cryptiques nécessitent le développement de nouvelles approches méthodologiques, telles que l'optimisation des conditions de fermentation et l'ingénierie génétique ciblée (Vasavada et al., 2006; Winter et al., 2011).

Les actinomycètes constituent un groupe microbien d'une importance capitale tant pour la découverte de nouveaux agents thérapeutiques que pour les applications environnementales et industrielles (Sharma et al., 2018). Leur ubiquité dans les environnements marins et terrestres, combinée à leur extraordinaire diversité métabolique, en fait des sujets de recherche particulièrement prometteurs dans le contexte actuel de résistance antimicrobienne et de

Introduction

nécessité de développer des solutions durables aux défis environnementaux (**Takahashi & Nakashima, 2018**).

Cependant, la montée continue de la résistance aux antifongiques disponibles, associés à la forte toxicité des molécules polyéniques utilisées en clinique (notamment amphotéricine B et nystatine), limite considérablement leur emploi et soulève d'importantes préoccupations pour la sécurité des patients. Il devient donc impératif de découvrir de nouvelles substances antifongiques à la fois efficaces et mieux tolérées. C'est dans ce contexte que notre étude a été conduite, visant à isoler et caractériser des actinomycètes marins issus des sédiments de la plage El Ouardania, afin d'évaluer leur potentiel de production de composés antifongiques innovants.

Synthèse Bibliographique
Chapitre I : Les actinomycètes

Généralité sur les actinomycètes

1. Origine de la nomenclature et historique

L'histoire de la nomenclature des actinomycètes a débuté en 1875 lorsque Cohn isola un parasite à partir des excréments du canal lacrymal humain qu'il nomma *Streptothrix foersteri* (Williams et al., 1984). Il décrit ce microorganisme comme présentant des ramifications filamenteuses caractéristiques (Willias, 1990). Deux ans plus tard, en 1877, Hartz identifia un microorganisme provenant de la mâchoire bovine qu'il baptisa *Actinomyces bovis* (Waksman & Henrici, 1943). Entre 1890 et 1892, Gasperi réalisa une étude comparative de ces deux genres et conclut à leur identité, proposant alors d'adopter le terme "actinomycètes" pour désigner ce type particulier de bactéries capables de former un mycélium et de sporuler dans des conditions hostiles (Waksman & Henrici, 1943). À cette époque, cette appellation était exclusivement réservée aux espèces pathogènes anaérobies (Breed & Conn, 1919). En 1889, Trevisan utilisa le nom "Nocardia" pour désigner les organismes aérobies saprophytes appartenant à ce genre, refusant l'adoption du terme actinomyces, car cette dénomination avait déjà été attribuée à un champignon (*Actinomyces horkelii*) en 1827 par Gussow (Belyagoubi, 2014). Durant cette période, d'autres chercheurs caractérisèrent indépendamment d'autres espèces pathogènes comme *Oospora scabies*, responsable de la gale de la pomme de terre, et *Nocardia farcinica*, agent du farcin de bœuf (Breed & Conn, 1919). Ces espèces présentaient des similitudes avec celles décrites précédemment, ce qui mena à leur classification dans la même famille des actinomycétales (Baldacci, 1962). Diverses autres appellations proposées telles que *Streptothrix*, *Cladothrix*, *Actinocladothrix*, *Discomyces* et *Oospora* furent finalement considérées comme des synonymes et rejetées (Waksman & Henrici, 1943). L'histoire des actinomycètes peut être divisée en plusieurs périodes distinctes (Baldacci, 1962). Durant la première période (1877-1890), nommée "période médicale", l'intérêt était porté presque exclusivement aux propriétés pathogènes attribuées à ces microorganismes (Baldacci, 1962). La seconde période (1900-1940) correspond à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de nombreux chercheurs comme Rossi-Doria, Gasparini, Krainsky et Waksman (Messaoudi, 2013). Cette période couvre la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des actinomycètes et les premières tentatives pour distinguer les

groupes pathogènes et saprophytes (**Messaoudi, 2013**). La troisième époque est marquée par la découverte des antibiotiques produits par les actinomycètes (**Belyagoubi, 2014**)

2. Caractéristiques générales des actinomycètes

Les actinomycètes, appartenant à la classe des Actinobacteria, représentent un groupe de bactéries Gram-positif caractérisées par un contenu en bases guanine-cytosine se situant généralement entre 60 et 75% (**Stackebrandt, 1997; Ventura, 2007; Zhi, 2009**). Ces micro-organismes jouent un rôle fondamental dans la dégradation de la matière organique, participant activement au recyclage des nutriments dans divers écosystèmes (**Stackebrandt, 1997; Ventura, 2007**). Leur capacité à synthétiser une vaste gamme de métabolites secondaires, dont certains possèdent des propriétés antimicrobiennes et antitumorales, en fait des acteurs incontournables en biotechnologie et en recherche pharmaceutique (**Zhi, 2009**). Sur le plan morphologique, les actinomycètes se distinguent par leur organisation filamenteuse caractéristique (**Theilleux, 1993**). En milieu solide, ils forment des colonies circulaires dont l'architecture repose sur des hyphes qui rayonnent autour du point de départ, illustrant ainsi une croissance centrifuge (**Bouterfa & Ibessaine, 2022**). Le diamètre de ces filaments, généralement compris entre 1 et 2 μm , est nettement inférieur à celui des hyphes fongiques, dont la largeur varie entre 5 et 10 μm (**Theilleux, 1993; Bouterfa & Ibessaine, 2022**). Le développement des actinomycètes se fait en deux temps distincts : d'abord, un mycélium végétatif se déploie dans le substrat afin d'optimiser l'absorption des nutriments (**Larpent et Larpent-Gourgaud, 1997**). Ensuite, un mycélium aérien se forme, moins ramifié et souvent plus épais, chargé de produire des conidies ou conidiospores pour assurer la dissémination de la colonie (**Larpent et Larpent-Gourgaud, 1997**). La différenciation entre ces deux types de mycélium est un critère essentiel utilisé pour la classification des divers genres d'actinomycètes (**Larpent et Larpent-Gourgaud, 1997**). Au niveau cellulaire, ces bactéries ne possèdent pas de membrane nucléaire, confirmant leur nature procaryote (**Lechevalier et Lechevalier, 1985**). Leur cytologie est simple, mais la composition de leur paroi cellulaire présente des caractéristiques distinctives : elle est dépourvue de chitine et de cellulose et se compose d'une glycoprotéine intégrant de la lysine ou de l'acide diaminopimélique (**Lechevalier et Lechevalier, 1985**). Cette composition particulière confère à leur paroi une résistance aux lysozymes et à certains agents antibactériens, ce qui facilite leur identification en laboratoire (**Lechevalier et Lechevalier, 1985**). Du point de vue de la mobilité, la majorité des

actinomycètes est non mobile (**Harir, 2010**). Lorsque la mobilité est observée, elle se limite exclusivement aux spores flagellées, permettant ainsi de réaliser de courts déplacements en réponse à des stimuli environnementaux (**Harir, 2010**). Métaboliquement, les actinomycètes se révèlent être des organismes chimio-organotrophes capables d'exploiter une grande variété de substrats organiques, y compris des polymères complexes tels que l'amidon, la caséine et la gélatine (**Aouar, 2012**). Cette polyvalence métabolique leur permet de s'adapter à des environnements très variés, allant de sols riches en matière organique à des milieux plus pauvres en nutriments (**Aouar, 2012**). Même si la plupart d'entre eux sont saprophytes, certaines espèces, comme *Streptomyces scabies*, peuvent adopter un comportement pathogène à l'égard des plantes (**Bouaziz, 2018**). La croissance des actinomycètes est généralement lente, avec un temps de génération moyen d'environ 2 à 3 heures, ce qui leur permet de mettre en place des stratégies de régulation cellulaire adaptées aux fluctuations environnementales (**Messoudi, 2013**). Leur préférence pour des environnements à pH neutre ou légèrement alcalin est une autre caractéristique notable, bien qu'ils puissent également tolérer des conditions légèrement acides dans certains cas (**Omura, 1992**). En général, ils se comportent comme des mésophiles, mais il existe des espèces capables de résister à des températures élevées, certaines tolérant des températures avoisinant 50°C et allant jusqu'à 60°C (**Omura, 1992**). Face aux conditions défavorables, telles que la chaleur excessive ou la dessiccation, les actinomycètes déclenchent la formation de spores. La septation des extrémités de leurs filaments, souvent induite par ces stress, conduit à la production de spores robustes qui assurent la survie de la colonie dans des environnements hostiles (**Omura, 1992**). Ces spores résistent efficacement à la dessiccation, conférant ainsi aux actinomycètes une valeur adaptative considérable (**Omura, 1992**). Les actinomycètes jouent un rôle écologique majeur en participant activement au cycle des nutriments. Par leur action saprophyte, ils décomposent la matière organique, contribuant ainsi à la fertilisation naturelle des sols et au maintien de la biodiversité (**Stackebrandt, 1997; Ventura, 2007**). Leur capacité à produire des métabolites secondaires, dont certains sont utilisés dans la lutte contre des agents pathogènes, leur confère également une importance dans la protection des plantes et, par extension, dans l'agriculture (**Zhi, 2009**).

3. Morphologie et critères d'identification

La morphologie des actinomycètes se caractérise par une organisation filamenteuse distincte, avec un diamètre d'hyphes généralement compris entre 0,5 et 1 µm, ce qui est significativement

plus petit que celui des champignons qui varie entre 2 et 5 μm (**Gottlieb, 1973; Eunice, 1983**). L'organisation mycélienne présente une grande diversité, allant du mycélium rudimentaire voire inexistant chez certaines *Mycobacterium*, au mycélium fragmentaire chez les *Nocardia*, jusqu'au mycélium développé et persistant chez les *Streptomyces* (**Larpen et Larpen-Gourgaud, 1997**). Le mycélium permanent peut être subdivisé en mycélium végétatif, également appelé mycélium de substrat, et en mycélium aérien (**Theilleux, 1993**). Le premier se développe à l'intérieur ou à la surface du milieu et contient un cytoplasme conocytaire multinucléé, tandis que le second croît à la surface du mycélium végétatif et utilise ce dernier comme substrat (**Theilleux, 1993**). La différenciation entre ces deux types de mycélium constitue un critère taxonomique fondamental (**Larpen et Larpen-Gourgaud, 1997**).

Les spores d'actinomycètes démontrent une remarquable diversité d'arrangements, pouvant être produites isolément chez *Micromonospora*, en paires chez *Microbispora*, en courtes chaînettes chez *Actinomadura*, ou en longues chaînettes chez *Streptomyces* (**Lechevalier et Lechevalier, 1985**). La surface des spores présente également une grande variabilité morphologique, pouvant être lisse, ridée, épineuse ou velue, caractéristique utilisée dans l'identification des genres (**Lechevalier et Lechevalier, 1985**). Les colonies formées sur milieu solide sont très particulières, résultant de l'accumulation d'hyphes ramifiés plutôt que de cellules individuelles, avec un diamètre variant de 1 à 10 mm et un aspect souvent pigmenté (**Perry et al., 2004**). L'identification des actinomycètes repose sur une approche polyphasique combinant des critères morphologiques, biochimiques, physiologiques et moléculaires (**Stackebrandt, 1997**). Les caractéristiques de la paroi cellulaire constituent un critère chimiotaxonomique majeur, notamment la présence d'acide diaminopimélique et la composition en sucres cellulaires totaux (**Lechevalier et Lechevalier, 1985**). Les tests physiologiques et biochimiques incluent l'hydrolyse de la caséine, de l'amidon et de la gélatine, la production de pigments mélanoides, ainsi que la croissance à différentes températures et concentrations de sel (**Theilleux, 1993**). La classification moderne intègre l'analyse moléculaire basée sur le séquençage de l'ARNr 16S, marqueur phylogénétique privilégié en raison de sa structure conservée chez toutes les bactéries et de ses régions variables spécifiques à certains groupes (Ventura, 2007 ; Zhi, 2009), offre une cible idéale pour les approches moléculaires. La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) permet ainsi d'amplifier sélectivement, à partir d'échantillons environnementaux complexes, les gènes ou fragments de gènes codant pour l'ARNr 16S, sans nécessiter d'isolement préalable en culture (Farris & Olson, 2007 ; Schäfer

et al., 2010). Grâce au positionnement des amorces sur les régions strictement conservées, on obtient des fragments de tailles variables (généralement comprises entre 300 et 1 500 paires de bases) qui sont ensuite séquencés et comparés aux bases de données de référence (Ventura, 2007).

Sur le plan morphologique, les actinomycètes ne se limitent pas à la croissance filamenteuse classique : certaines espèces présentent une structure beaucoup plus simple, caractérisée par des cellules arrondies et isolées, à l'instar du genre *Mycobacterium*. Cette diversité de formes souligne la nécessité de combiner observations microscopiques et analyses moléculaires pour une identification fiable des isolats.

4. Écologie et distribution des actinomycètes dans la nature

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires que l'on rencontre sur tous les substrats naturels courants, et en particulier le sol (**Williams et al., 1984**). Dans le sol, de nombreux actinomycètes sont saprophytes et participent à la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus, tout comme les champignons (**Waksman, 1967**). Ils produisent des substances spécifiques telles que la géosmine et le 2-méthyl isobornéol qui sont responsables de l'odeur caractéristique des sols (**Omura, 1992; Zaitlin et al., 2003**). Leurs proportions par rapport aux autres microorganismes oscillent entre 10 et 50% (**Goodfellow & Williams, 1983**). Les genres *Streptomyces*, *Nocardia* et *Micromonospora* sont les plus fréquents, le genre *Streptomyces* couvrant à lui seul 95% des 5000 souches d'actinomycètes isolées à partir de 16 types de sols (**Lechevalier & Lechevalier, 1967**). Le nombre de ces microorganismes atteint est de l'ordre de 10^6 germes par gramme de sol séché (**Goodfellow & Williams, 1983**). Le rapport microorganismes totaux/actinomycètes diminue au fur et à mesure que la profondeur augmente (Waksman, 1967). La couche superficielle contient au moins 80% de bactéries actinomycétales par rapport au nombre total des microorganismes, tandis que la couche située à une profondeur de 80 cm n'en contient plus que 16-40% (**Ouhdouch, 1989**). Les actinomycètes ont été également isolés à partir de nombreux environnements aquatiques : eau de mer et sédiments marins (**Jensen et al., 1991; Ghanem et al., 2000**), eau douce (**Kitouni et al., 2005**), et eau issue de marécages salés (**Al-Zarban et al., 2002; Boughachiche et al., 2005**). Généralement, les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin et sont mésophiles (**Goodfellow & Williams, 1983**). Toutefois, différents

actinomycètes ont été isolés à partir d'écosystèmes extrêmes caractérisés par des conditions physico-chimiques hostiles, telles que des températures extrêmes, une forte salinité, ou un pH élevé. Ces environnements incluent les écosystèmes désertiques, les régions polaires (arctiques et antarctiques), les lacs hypersalés, les lacs alcalins, ainsi que les sols hautement contaminés par des métaux lourds (**Goodfellow & Williams, 1983 ; Pathom-Aree et al., 2006 ; Hamedi et al., 2013**). Les actinomycètes thermophiles tolèrent des températures allant jusqu'à 60°C (**Omura, 1992; Ensign et al., 1993**). Le genre *Streptomyces* a montré une capacité à s'adapter à différentes conditions hostiles sous la forme de spores résistant au froid (psychrophilie), à des teneurs en sels élevées (halophilie) ou à des pressions élevées (barotolérante) (**Zaitlin et al., 2003**). Certains genres d'actinomycètes semblent préférer certains habitats par rapport à d'autres, comme *Thermoactinomyces* qui se trouve fréquemment dans les composts (**Song et al., 2001**), alors que le genre *Streptomyces* est très ubiquitaire (**Lacey, 1997**). En Algérie, la majorité des souches d'actinomycètes isolées et caractérisées proviennent des écosystèmes sahariens, de grottes et du sol tellurique fertile, l'écosystème marin étant peu exploré et documenté (**Meklat et al., 2015; Belyagoubi et al., 2018; Djinni et al., 2019; Benhadj et al., 2019**). Certains actinomycètes sont des symbiotes de plantes (**Larpen & Larpen-Gourgaud, 1985**), notamment le genre *Frankia* qui forme des nodules au niveau des racines des angiospermes, fixe l'azote atmosphérique et confère donc un avantage à la plante pour croître en sol pauvre en azote (**Prescott et al., 2007**).

5. Milieux de culture et métabolisme

Le métabolisme des actinomycètes se divise en deux volets complémentaires, le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire, qui s'inscrivent dans des dynamiques distinctes et essentielles à leur survie et leur adaptation (**Strub, 2008**). Le métabolisme primaire regroupe l'ensemble des réactions anaboliques et cataboliques indispensables à la vie cellulaire, telles que l'assemblage des acides aminés en protéines ou la production d'énergie par le pouvoir réducteur des réactions métaboliques (**Strub, 2008; Hass, 2015**). Ces processus assurent non seulement la croissance, mais également la reproduction des cellules d'actinomycètes (**Strub, 2008**). En parallèle, le métabolisme secondaire se déploie sous forme de voies biosynthétiques produisant une diversité de composés aux structures et activités biologiques remarquables, notamment les antibiotiques et antifongiques, qui ne sont pas directement impliqués dans les

fonctions vitales de la cellule (**Delaunay et al., 2003; Theilleux, 1993; Choulet, 2006**). La croissance des actinomycètes est généralement plus lente que celle d'autres bactéries, avec un temps de génération moyen s'établissant autour de 2 à 3 heures, ce qui permet à ces microorganismes de mettre en place des mécanismes de régulation cellulaire adaptés aux variations environnementales (**Ottow et Glathe, 1968; Larpent et Sanglier, 1989**). Ces bactéries se répartissent en deux groupes physiologiques distincts : le groupe le plus important regroupe les germes à métabolisme oxydatif, majoritairement aérobies, que l'on retrouve principalement dans le sol (**Reponen et al., 1998**). Le genre *Streptomyces* constitue l'archétype de ce groupe, et ces formes oxydatives se distinguent par leur rôle dans la dégradation de la matière organique et le recyclage des nutriments (**Reponen et al., 1998**). En revanche, le second groupe rassemble des bactéries à métabolisme fermentatif, qui se retrouvent en particulier dans les cavités naturelles de l'homme et des animaux (**Mariat et Sebald, 1990**). Le genre *Actinomyces* illustre ces formes fermentatives, strictement ou facultativement anaérobies, et ces microorganismes ne sont pas isolés du sol, car ils sont des saprophytes obligatoires des milieux internes (**Mariat et Sebald, 1990**). De manière générale, les actinomycètes se caractérisent par leur capacité à utiliser une grande variété de sources de carbone et d'énergie (**Mariat et Sebald, 1990**). Ils exploitent des biopolymères complexes tels que la chitine, la cellulose ou la lignine, ce qui témoigne de leur rôle important dans la décomposition de la matière organique (**Mariat et Sebald, 1990**). Fait intéressant, plusieurs espèces présentent également une capacité de croissance chimioautotrophe, utilisant l'oxydation de l'hydrogène pour produire de l'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone, démontrant ainsi une adaptabilité remarquable à des environnements aux ressources limitées (**Mariat et Sebald, 1990**). Pour l'isolement et la culture des actinomycètes, différents milieux sélectifs sont utilisés, notamment le milieu M2, le milieu de Bennett, le milieu Olson, la gélose de Gause, le milieu ISP2, ou encore la gélose Trypticase de Soja (**Hayakawa et Nanomura, 1987; Jones, 1949; Shirling et Gottlieb, 1966; Krishnamurthi et Chakrabarti, 2013**). Ces milieux sont généralement supplémentés avec des antifongiques comme le cycloheximide et la nystatine pour inhiber la croissance des champignons (**Williams et Davies, 1965**). La composition spécifique de ces milieux varie selon les espèces d'actinomycètes ciblées et les objectifs de l'étude, mais ils contiennent généralement des sources de carbone comme l'amidon ou le mannitol, des sources d'azote comme la caséine ou l'extrait de levure, ainsi que divers sels minéraux essentiels à leur croissance (**Hayakawa et Nanomura, 1987; Shirling et Gottlieb, 1966**).

Synthèse Bibliographique
Chapitre II : Les Antibiotiques

Généralité sur Les antibiotiques

1. Découverte du monde microbien

La découverte du monde microbien débute avec Antonie Van Leeuwenhoek (1632-1723), qui observe pour la première fois des “animalcules” à l’aide de microscopes rudimentaires (**Moussard, 2006**). L’existence des micro-organismes est confirmée plus tard par Müller, puis leur rôle dans la fermentation et les maladies est établi par Pasteur en 1857 (**Moussard, 2006 ; Cohen, 2000**). Les travaux de Pasteur et de Robert Koch permettent de développer des méthodes de culture, ouvrant la voie à la microbiologie moderne. **Beijerinck et Winogradsky** fondent ensuite la microbiologie environnementale (**Moussard, 2006**). Ces avancées mènent à la découverte des premiers antibiotiques antibactériens, comme la pénicilline. Toutefois, la progression des infections fongiques résistantes, en particulier chez les patients immunodéprimés, souligne l’importance croissante des antifongiques. Malgré leur intérêt clinique majeur, peu de nouvelles molécules antifongiques ont été découvertes. Cela justifie l’exploration de sources naturelles encore peu étudiées, telles que les actinomycètes marins, potentiellement producteurs de composés antifongiques innovants.

Grâce à ces chercheurs passionnés, les premiers protocoles d’enrichissement de culture et de purification par repiquage ont été mis au point, conduisant à la naissance de la microbiologie moderne (**Whitman et al., 1998**). Ces avancées ont permis de découvrir des microorganismes dans des habitats très divers terrestres, aquatiques, souterrains et aériens ainsi qu’en association avec des plantes et des animaux (**Whitman et al., 1998**). La compréhension progressive du rôle des microorganismes dans les cycles biogéochimiques et dans l’apparition des maladies infectieuses a fondamentalement modifié notre rapport au monde vivant, transformant profondément les pratiques médicales, industrielles et agricoles (**Fair & Tor, 2014**).

2. Métabolites secondaires des micro-organismes

Les métabolites secondaires sont des composés organiques de faible poids moléculaire produits par les micro-organismes, sans rôle direct dans leur croissance ou reproduction (**Bouras et al., 2013**). Contrairement aux métabolites primaires, leur absence n’est pas létale (**Delaunay et al., 2003**). Leur synthèse, souvent déclenchée en phase stationnaire ou en réponse à un stress, reflète un rôle écologique d’adaptation et de compétition (**Strub, 2008**). Les actinomycètes, notamment le genre *Streptomyces*, sont les principaux producteurs de ces composés,

responsables de plus de 70 % des antibiotiques connus (**Genilloud, 2017**). Leur génome contient de nombreux clusters de gènes biosynthétiques régulés selon l'environnement (**Van der Heul et al., 2018**). Parmi ces métabolites, on trouve des antibiotiques comme la streptomycine ou la tétracycline, mais aussi des agents antitumoraux, immunomodulateurs ou antiparasitaires (**Mast & Stegmann, 2019**). Leur diversité structurale est remarquable : polykétides, peptides non ribosomiques, terpènes, alcaloïdes ou aminoglycosides (**Olano et al., 2009**). Face aux résistances croissantes, l'intérêt pour ces molécules s'est accru, motivant la recherche de nouveaux composés bioactifs (**Fair & Tor, 2014**). L'exploration de milieux extrêmes comme les environnements marins ou désertiques représente une voie prometteuse (**Subramani & Aalbersberg, 2013**).

3. Fonctionnement des antibiotiques

Les antibiotiques agissent en ciblant des fonctions cellulaires essentielles des bactéries, perturbant leur croissance ou provoquant leur mort (**Alliouch-Kerboua et al., 2015**). Ceux produits par les actinomycètes incluent diverses classes telles que les aminoglycosides, les glycopeptides, les bêta-lactamines, les macrolides, les tétracyclines, les anthracyclines et les nucléosides (**Okami & Hotta, 1988**). Leur sélectivité repose sur des différences entre cellules bactériennes et eucaryotes, réduisant la toxicité pour l'hôte (**Van Bambeke & Tulkens, 2010**). Les bêta-lactamines inhibent la synthèse du peptidoglycane, provoquant la lyse bactérienne (**Tipper & Strominger, 1965**). Les aminoglycosides et tétracyclines perturbent la traduction en se liant aux ribosomes (**Davies, 1964 ; Chopra et al., 1992**). La vancomycine, un glycopeptide, empêche la polymérisation du peptidoglycane (**Schäfer et al., 1996**). Les quinolones bloquent la synthèse d'ADN (**Drlica & Zhao, 1997**), tandis que les macrolides inhibent l'élongation protéique (**Vester & Douthwaite, 2001**). La rifampicine interfère avec la transcription (**McClure, 1980**). L'efficacité est mesurée par la CMI (**Andrews, 2001**), et dépend de la pharmacocinétique et pharmacodynamie (**Craig, 1998**). Toutefois, des résistances apparaissent via des mécanismes comme la modification des cibles ou la dégradation enzymatique (**Davies & Mazel, 1997 ; Pankey & Sabath, 2004**).

Contrairement aux antibiotiques antibactériens, les antifongiques ciblent des structures spécifiques des champignons, comme la membrane plasmique ou la paroi cellulaire. Les polyènes (amphotéricine B, nystatine) se lient à l'ergostérol, un stérol fongique, provoquant des lésions membranaires irréversibles. Les azolés (fluconazole, itraconazole) inhibent la

biosynthèse de l'ergostérol, perturbant la croissance cellulaire. Les échinocandines inhibent la synthèse du β -1,3-glucane, un composant essentiel de la paroi fongique (**Odds et al., 2003**). Cependant, le nombre de classes antifongiques disponibles reste limité, et leur usage est souvent associé à une toxicité élevée et à l'émergence de résistances.

Matériel & Méthodes

Matériel & Méthodes

1. Le site d'échantillonnage

Le littoral algérien s'étend sur environ 1 622 kilomètres, bordant la mer Méditerranée, et présente une diversité écologique et géomorphologique remarquable. Il se compose de plages sableuses, de falaises rocheuses, de zones humides et d'estuaires, constituant ainsi un environnement propice au développement d'une grande variété d'écosystèmes marins et côtiers. Ce littoral joue un rôle crucial dans la biodiversité marine, l'économie (pêche, tourisme) et la recherche scientifique. Plusieurs études soulignent son importance écologique, notamment en tant que réservoir de micro-organismes d'intérêt biotechnologique, tels que les actinomycètes marins (Zitouni et al., 2005 ; Meddour-Bouderda et al., 2015).

L'échantillonnage a été réalisé sur la plage la plage El Ouardania, située dans la commune de Oulhaça El Gheraba, à l'ouest de la côte algérienne, dans la wilaya d'Aïn Témouchent. Cette plage s'étend sur environ 750 mètres. se caractérise par une zone côtière sableuse. Un seul prélèvement a été effectué sur cette plage, dans une zone proche de l'eau, afin de collecter des échantillons de sédiments marins.



Figure 1 : Localisation et coordonnées du périmètre de la plage El Ouardania, située à Oulhaça El Gheraba.

Matériel & Méthodes

Les échantillons ont été prélevés à une profondeur approximative de 10 cm sous la surface, à l'aide d'une spatule stérile. Les grosses granules et débris rocheux ont été soigneusement écartés pour ne conserver que les sédiments fins. **(Pochon et Tardieux, 1962)**

Pour assurer une bonne conservation des échantillons, ceux-ci ont été transportés dans des sacs stériles spécialement conçus pour ce type de prélèvement. Les échantillons ont été transférés au laboratoire dans les plus brefs délais pour éviter toute contamination.

2. Caractérisation physico-chimique du sédiment

Des analyses de pH, de conductivité électrique et de salinité ont été réalisées au laboratoire sur des suspensions de sédiments marins prélevés à la plage El Ouardania. Pour la mesure du pH, une masse de 20 g de sédiment a été mélangée dans un volume estimé de 50 mL d'eau distillée. Après agitation, le pH de la suspension a été déterminé à l'aide d'un pH-mètre. La conductivité électrique a été mesurée à partir d'une suspension préparée avec 10 g de sédiment dans 50 mL d'eau distillée. Un conductivimètre a été utilisé pour effectuer la lecture. Selon les méthodes standardisées **(Jackson, 1973)**



Figure 2 : pH-mètres électronique et conductivimètre.

3. L'isolement des actinomycètes marins

Pour l'isolement des actinomycètes à partir des échantillons de sédiments marins, deux milieux de culture ont été utilisés. Le milieu M2 et le milieu Gélose de Gause (voir annexes).

Matériel & Méthodes

Les échantillons de sédiments ont été isolés en utilisant la méthode de dilution décimale. Un gramme de sédiment a été mélangé dans 9 ml d'eau de mer stérile, et des dilutions de 10^{-1} à 10^{-9} ont été effectuées pour obtenir des suspensions de concentrations décroissantes.

Après incubation à une température de 30 °C, les premières colonies ont été visibles au bout de 2 à 3 semaines.

4. Préparation des isolats et conservation

4.1 Court terme : Pour la conservation à court terme, des tubes inclinés de milieu M2 ont été préparés, chaque souche a été ensemencée par stries serrées sur la gélose inclinée et incubées pendant une à trois semaines jusqu'à l'apparition des colonies ensuite conserver à 4°C durant une période allant de 3 à 6 mois,

4.2 la cryoconservation : Les souches d'actinomycètes isolées ont été conservées pour un usage ultérieur par congélation à basse température. Pour cela, chaque souche a été repiquée dans un tube contenant le milieu M2 liquide, préalablement supplémenté avec du glycérol stérile à une concentration finale de 20 %. Les tubes ont été directement placés au froid à – 20 °C pour assurer une conservation à long terme. Cette méthode permet de préserver la viabilité et les caractéristiques des souches sans altération notable de leur activité (**Ribeiro et al. 2020**).

5. L'étude morphologique des isolats

Les souches sélectionnées après isolement ont été soumises à une première évaluation basée sur leurs caractéristiques phénotypiques. L'observation visuelle des colonies a permis d'identifier les isolats présentant une apparence typique des actinomycètes, reconnaissables par des colonies d'aspect sec, poudreux ou fermement enraciné dans la gélose. Ces critères morphologiques ont servi de base pour retenir les souches à analyser.

➤ L'étude microscopique des isolats

La micromorphologie des actinomycètes a été analysée à l'aide de la coloration de Gram, une méthode différentielle permettant de distinguer deux grands groupes de bactéries : Gram positif et Gram négatif. Les actinomycètes appartiennent au groupe des bactéries Gram positif, ce qui constitue un critère d'identification important.

Matériel & Méthodes

Après préparation d'un frottis bactérien (voir annexes), la coloration a été réalisée selon le protocole classique. Le frottis a d'abord été traité avec le cristal violet (colorant primaire), puis avec l'iode (un mordant), suivi d'une étape de décoloration à l'éthanol à 95 %. Enfin, un deuxième colorant, la fuchsine, a été appliqué pour révéler les bactéries décolorées. Les lames ont ensuite été observées au microscope optique avec des objectifs à grossissement ($\times 40$) et ($\times 100$). (Delarras, 2007 ; Duraipandiyar et al., 2010).



Figure 3 : coloration de Gram.

6. L'étude des caractéristiques biochimiques

6.1 Évaluation de l'activité gélatinase des isolats

Pour vérifier la capacité des actinomycètes marins à hydrolyser la gélatine, un test basé sur l'utilisation de films photographiques (Pickett et al. 1991) a été mis en œuvre. Des tubes stériles ont été remplis avec 10mL d'eau physiologique, dans lesquels des bandelettes recouvertes de gélatine ont été déposées de manière aseptique. Une suspension dense de chaque souche a ensuite été introduite. Les tubes ont été incubés à 30 °C pendant une semaine. L'activité enzymatique était évaluée par l'apparition de signes de liquéfaction ou de décollement de la couche de gélatine. Des tubes témoins non inoculés ont été maintenus dans les mêmes conditions pour comparaison. Cette approche, largement inspirée de protocoles antérieurement appliqués à des actinomycètes environnementaux, permet une mise en évidence fiable de la gélatinase.

Matériel & Méthodes

6.2 Peptonisation La coagulation et du lait écrémé

Le test de coagulation et de peptonisation du lait a été réalisé pour explorer les capacités protéolytiques des souches isolées (**Williams & Cross, 1971**). Du lait écrémé liquide frais a été utilisé, versé à raison de 20 ml dans des tubes à essai stériles. Chaque tube a été ensemencé aseptiquement avec une suspension dense de l'isolat étudié. Des tubes témoins non inoculés ont été préparés dans les mêmes conditions. L'incubation a été menée à 30 °C pendant une semaine, avec un suivi visuel toutes les 48 heures afin de repérer une éventuelle coagulation et/ou peptonisation du lait écrémé.

6.3 Utilisation du citrate

Pour évaluer si nos isolats pouvaient utiliser le citrate comme seule source de carbone, nous avons choisi le milieu Simmons citrate, un milieu spécifique favorisant la croissance uniquement si le citrate est métabolisé (Marchal *et al*, 1991). Ce test a été réalisé dans des tubes stériles, où les souches d'actinomycètes ont été déposées par stries serrées. Les tubes ont ensuite été incubés à 30 °C pendant une à deux semaines. Le changement de la couleur du milieu indique l'utilisation du citrate par les bactéries, si la couleur reste inchangée cela témoigne un résultat négatif.

6.4 Évaluation de l'activité de catalase des isolats

Ce test a été réalisé dans le but d'évaluer la capacité des souches isolées à produire de la catalase, une enzyme impliquée dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène. Pour chaque souche, une petite quantité de culture fraîche a été déposée sur une lame propre et stérile à l'aide d'une anse. Une goutte d'eau oxygénée a ensuite été ajoutée au contact direct de l'échantillon (**Delarras, 2007**).

La réaction a été observée immédiatement à température ambiante. Une réponse positive se manifeste par l'apparition d'une effervescence, traduisant un dégagement gazeux lié à l'activité de catalase. À l'inverse, l'absence d'un dégagement gazeux est interprétée comme un résultat négatif.

Matériel & Méthodes

6.5 Évaluation simultanée de l'activité uréase et de la production d'indole

Pour explorer la capacité de nos isolats à hydrolyser l'urée et à produire de l'indole, des tubes à essai contenant 4,5mL dans lesquelles nous avons ajouté quelques gouttes de milieu urée-indole (**Marchal et al., 1991**). la présence d'une activité uréase est appréciée par un virage de couleur vers le rouge, l'absence de changement, ou un virage du couleur vers le jaune traduit une activité négative (Marchal et al, 1991) .

L'inoculation a été effectuée à l'aide de pipettes Pasteur stériles, préalablement trempées dans les cultures d'actinomycètes, assurant ainsi un bon transfert du matériel biologique.

6.6 Étude des activités métaboliques sur le milieu TSI

Le test TSI (Triple Sugar Iron) a été mis en œuvre pour évaluer la capacité des isolats à utiliser trois glucides : le glucose, le lactose et le saccharose, ainsi qu'à produire éventuellement du sulfure d'hydrogène (H_2S). Le milieu TSI utilisé était un produit prêt à l'emploi, distribué sous forme de gélose coulée en tubes à essai inclinés, permettant ainsi d'obtenir une pente et un culot nécessaires à l'interprétation du test.

Les isolats ont été inoculés à l'aide de pipettes Pasteur stériles, en introduisant l'inoculum par piqûre dans le culot du milieu puis en striant la surface de la pente. Les tubes ont été incubés à 30°C pendant 15 jours, avec une observation hebdomadaire pour suivre l'évolution du test. Chaque tube a été interprété selon les réactions classiques du test TSI :

- Le jaunissement du culot indique une utilisation du glucose.
- Le jaunissement de la pente signale une utilisation du lactose et/ou du saccharose.

Un culot et une pente rouges indiquent l'absence d'utilisation des trois sucres, la production de H_2S est révélée par un précipité noir au niveau du culot.

7. Criblage initial de l'activité antimicrobienne et identification du milieu optimal pour la biosynthèse antibiotique

La recherche d'une activité antimicrobienne chez les isolats d'actinomycètes a été réalisée par la Technique des cylindres d'agar.

Contre les champignons filamenteux :

Matériel & Méthodes

- *Fusarium oxysporum** MNHN 963917.
- *Aspergillus fumigatus** MNHN 5666.

Contre les levures :

- *Candida albicans* CIP 444.

Les souches d'actinomycètes isolées sont ensemencées en stries serrées sur les milieux M2 et AF et incubées à 30°C pendant 7 jours **(Lee et Hwang, 2002)**.

Des disques d'agar d'un diamètre de 3 mm sont découpés à l'aide d'un emporte-pièce (pipette pasteur), puis déposés sur la surface des milieux AF et M2, qui ont préalablement ensemencés avec les souches fongiques testées. Les boîtes sont ensuite conservées à 4 °C pendant 3 heures afin de favoriser la diffusion des métabolites, puis incubées à 30 °C pendant une période de 18 à 24 heures. À l'issue de l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés. **(Kitouni, 2007)**.

8. L'extraction des biomolécules antifongiques sur milieu solide

Les métabolites secondaires à activité antifongique ont été extraits sur milieu solide **(Elsayed et al. 2023)**, les isolats ayant prouvés une activité prometteuse ont été ensemencé sur le milieu de culture qui a donné la bonne activité lors du screening primaire, après une incubation de 7 jours à 30 °C, les cultures ont été découpées en petits fragments et homogénéiser avec 50ml de deux solvants organiques : l'acétate d'éthyle et le chloroforme **(Elsayed et al. 2023)**, l'extraction s'est poursuivie pendant 3 heures.

Les suspensions ont ensuite été filtrées pour éliminer les résidus solides. Les solvants ont été évaporés à l'aide d'un rota vapeur, à une température de 40 °C. permettant d'obtenir les extraits secs. Ces extraits ont été ensuite solubilisés dans 2mL du solvant correspondant (acétate d'éthyle ou chloroforme) et conservés à 4 °C jusqu'aux tests antifongiques.



Figure 4 : Evaporation du solvant par un rota vapeur.

9. Le screening secondaire de l'activité antimicrobienne

Pour confirmer le potentiel antifongique des extraits bruts obtenus, une méthode de diffusion sur disques a été utilisée. Des disques stériles de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec 20 μ l de chaque extrait (**Lass-Flörl, C., et al. 2010**). (Acétate d'éthyle ou chloroforme), puis laissés à sécher à température ambiante afin d'éviter toute interférence due au solvant résiduel.

Ces disques ont ensuite été déposés soigneusement à la surface de boîtes de Pétri contenant un milieu PDA préalablement ensemencé avec le champignon opportuniste *Aspergillus fumigatus*, utilisé comme souche cible pour cette étape de criblage.

Les boîtes ont été incubées à 30 °C pendant 48 heures. À l'issue de l'incubation, l'efficacité des extraits a été évaluée en mesurant les zones d'inhibition formées autour des disques.

Cette étape visait à identifier les isolats produisant des métabolites secondaires capables d'inhiber la croissance du champignon pathogène, en vue d'une éventuelle valorisation ultérieure.

10. Le test de l'ergostérol :

Afin de déterminer la nature polyénique ou non-polyénique de biomolécules dotées d'une activité antifongique, un test préliminaire a été effectué, le milieu PDA a été supplémenté en ergostérol (50 mg/ml) (**Cabral et al. 2013**). et ensemencé avec les champignons ciblés , après incubation les diamètres d'inhibitions ont été mesurés et comparé avec ceux du test de l'activité antifongique sur milieu PDA exempt d'ergostérol, une diminution de la zone d'inhibition est un trait préliminaire de la nature polyénique des biomolécules antifongiques (**Cabral et al. 2013**).

Résultats

Résultats

1. Caractéristiques physicochimiques des échantillons

Les caractéristiques physico-chimiques du sédiment marin prélevé à la plage El Ouardania sont résumées dans le tableau ci-dessous. L'analyse du pH révèle une valeur de 8,01, indiquant un environnement légèrement alcalin, compatible avec les milieux marins côtiers. La conductivité électrique mesurée à 1749 $\mu\text{S}/\text{cm}$ traduit une présence modérée d'ions dissous dans le sédiment, reflétant une certaine minéralisation de l'environnement. La salinité estimée à 2,0 ‰ confirme la nature faiblement salée du site d'échantillonnage. Ces paramètres physico-chimiques suggèrent que la plage El Ouardania présente un habitat stable, possiblement favorable à la croissance de microorganismes marins.

Tableau 1: Paramètres physico-chimiques du site d'échantillonnage (Plage El Ouardania).

Paramètre analysé	Méthode utilisée	Protocole (quantité de sédiment / volume d'eau)	Résultat obtenu
pH	pH-mètre	20 g / 50 mL d'eau distillée	8,01
Conductivité électrique	Conductivimètre	10 g / 50 mL d'eau distillée	1749 $\mu\text{S}/\text{cm}$

μS : micro siemens (unité)

2. Isolement des actinomycètes

L'isolement des actinomycètes à partir d'un unique échantillon de sédiment marin a permis l'obtention de douze souches distinctes. Deux milieux ont été testés pour favoriser leur croissance : le milieu M2 et la gélose de Gause, tous deux préparés avec 50 % d'eau de mer. Les résultats montrent que toutes les souches ont été isolées exclusivement sur le milieu M2, tandis qu'aucune croissance n'a été observée sur la gélose de Gause, soulignant ainsi l'efficacité supérieure du milieu M2 pour ce type d'échantillon.

Les colonies apparues présentaient une morphologie typique des actinomycètes, avec un aspect sec, poudreux et incrusté dans la gélosé. Une certaine diversité morphologique a été notée entre les différentes souches. La croissance a été visible à partir du 14^e jour d'incubation à 28 °C, confirmant le temps relativement long requis pour l'apparition de ces microorganismes.

Résultats

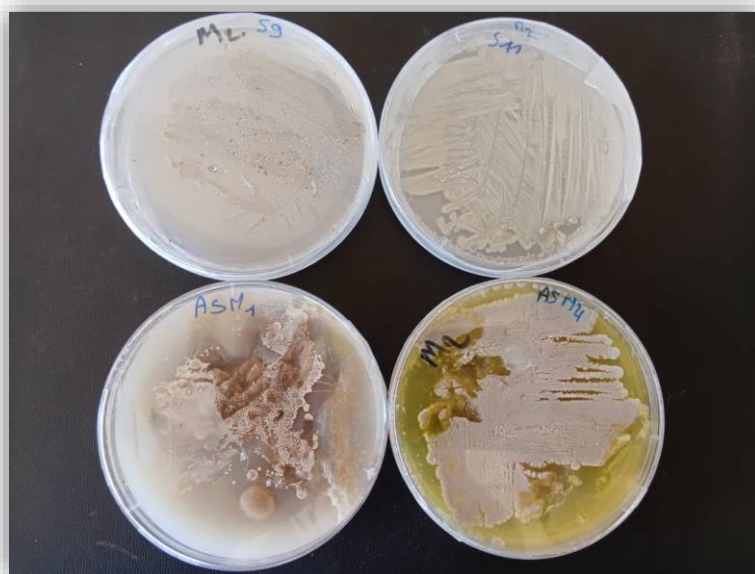


Figure 5 : Morphologie typique des colonies d'actinomycètes isolées du sédiment marin.

Tableau 2 : Résultats Isolement des actinomycètes dans le milieu M2 et la gélose de Gause.

La souche	Milieu		
		M2	Gélose de Gause
S5		+	-
SM11		+	-
ASM4		+	-
S7		+	-
S13		+	-
S6		+	-
S9		+	-
S11		+	-
ASM1		+	-
S14		+	-

3. Les caractéristiques culturelles et microscopiques des actinomycètes marins

Toutes les observations culturelles ont été réalisées sur le milieu M2, qui avait permis l'isolement exclusif de l'ensemble des souches. Après une incubation de 14 jours à 28 °C, les colonies ont présenté une diversité visible dans la coloration du mycélium aérien et végétatif, ainsi que dans leur capacité à produire ou non des pigments diffusibles. Malgré cette variabilité, toutes les souches ont développé un mycélium dense, à la fois végétatif et aérien, signe caractéristique des actinomycètes.

Résultats

Pour l'examen microscopique, les lames ont été préparées après coloration de Gram et observées à l'objectif ($\times 100$) avec l'ajout d'une goutte d'huile à immersion. Les observations ont révélé des filaments ramifiés typiques, ainsi que la présence de spores, confirmant la nature filamenteuse et Gram-positive des isolats. Ces caractéristiques microscopiques sont en accord avec les critères morphologiques décrits pour les genres ayant une structure filamenteuse d'actinomycètes.

4. La coloration de Gram

L'ensemble des isolats observés a révélé une réaction Gram positive. L'examen microscopique, illustré sur la figure, met en évidence la morphologie cellulaire typique de certaines colonies d'actinomycètes après coloration de Gram.

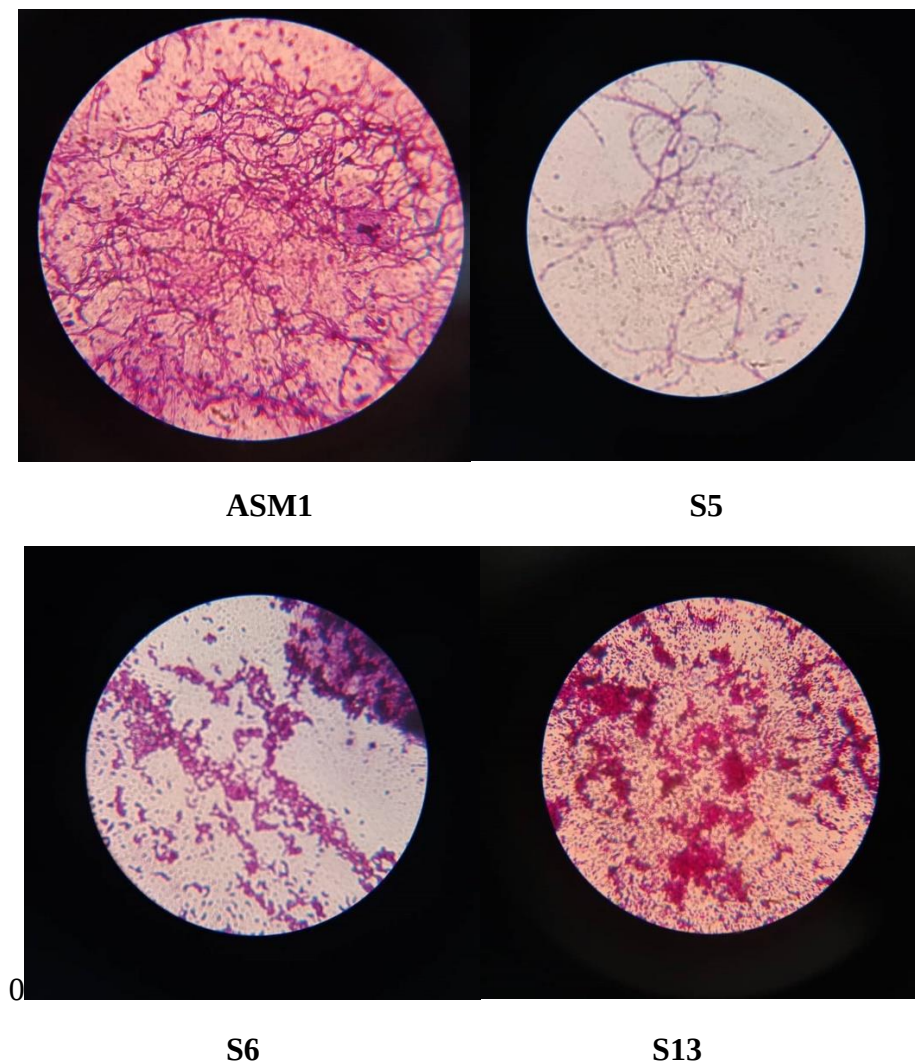


Figure 6 : Observation microscopique des isolats d'actinomycètes après coloration de Gram (grossissement $\times 100$ avec ajout de gouttes d'huile).

Résultats

5. Les caractéristiques biochimiques et physiologiques des actinobactéries

La caractérisation biochimique des souches d'actinomycètes marins actives mettant en œuvre l'aptitude de ces isolats à métaboliser un ensemble de composés (citrate, mannitol, saccharose, glucose, lactose) et leur capacité à métaboliser diverses sources de carbone (citrate, mannitol, saccharose, glucose, lactose) et leur potentiel enzymatique vis-à-vis de substrats spécifiques tels que la caséine, l'urée, la gélatine, ainsi que leur action sur le lait écrémé et le peroxyde d'hydrogène. Sont résumés dans le tableau 3.

Les résultats ont révélé que chaque souche dispose de caractéristiques biochimiques propres, traduisant une diversité métabolique significative. Si toutes les souches ont pu dégrader au moins un des substrats proposés, des différences marquées ont été observées quant à la rapidité de réaction : Certaines enzymes apparaissent dès les premières 24 heures, tandis que d'autres mettent jusqu'à 14 jours pour se manifester. Cette différence de temps montre que chaque enzyme ne s'exprime pas au même moment. Selon nos résultats, il s'est avéré que toutes les souches ont métabolisé au moins un substrat donné, par contre aucune activité catalase n'a été observée, d'autre part aucun isolats marin n'a prouvé une activité uréase avec une absence de production d'indole.

Résultats

Tableau 3 : Les tests biochimiques et physiologiques effectués dans le cadre de l'étude microbiologique

Test	C de S	Le lait écrémé		TSI					Urée-indole	Catalase	La gélatine
Souche		P	C	Saccharose	Lactose	Glucose	Production de Gaz	H ₂ S			
Asm1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+++
S14	-	+	+	+	+	+	+++	-	-	-	++
S13	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+
S6	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+++
S5	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

C.S : citrate de Simmons, TSI : triple sugar iron, - : **croissance absente**, + : **croissance faible**, ++ : **bonne croissance**, +++ : **très bonne croissance**,

P : peptonisation / **C** : coagulation

Résultats

5.1 Test de citrate de Simmons

Le test au citrate de Simmons s'est révélé négatif pour quatre souches (S5, S6, S13 et S14), indiquant leur incapacité à utiliser le citrate comme unique source de carbone. En revanche, la souche Asm1 a montré un résultat positif, ce qui témoigne de sa capacité à métaboliser le citrate efficacement dans ces conditions.

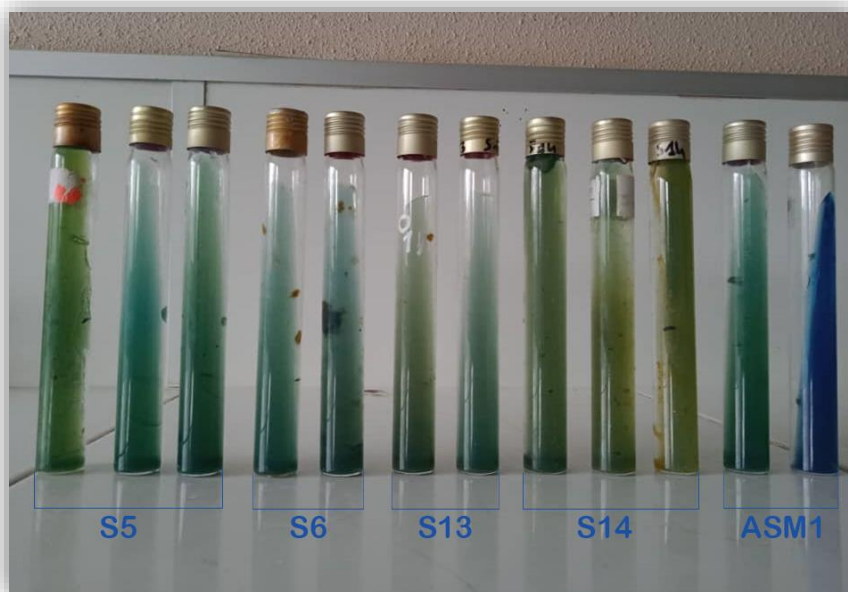


Figure 7 : Résultats de test citrate de Simmons.

5.2 Test de gélatinas

Le test de dégradation de la gélatine a révélé une variabilité notable de l'activité protéolytique parmi les isolats d'actinomycètes étudiés. Trois souches (S6, S14 et Asm1) ont montré une forte activité, traduite par une liquéfaction marquée du milieu, particulièrement prononcée pour les isolats S6 et Asm1. La souche S13 a présenté une activité plus faible, tandis que la souche S5 s'est révélée incapable d'hydrolyser la gélatine, suggérant l'absence ou une très faible expression de gélatinase chez cet isolat. Ces résultats indiquent que certaines souches possèdent des enzymes extracellulaires efficaces pour la dégradation des protéines, ce qui peut représenter un avantage écologique dans des environnements marins riches en matière organique.

Résultats

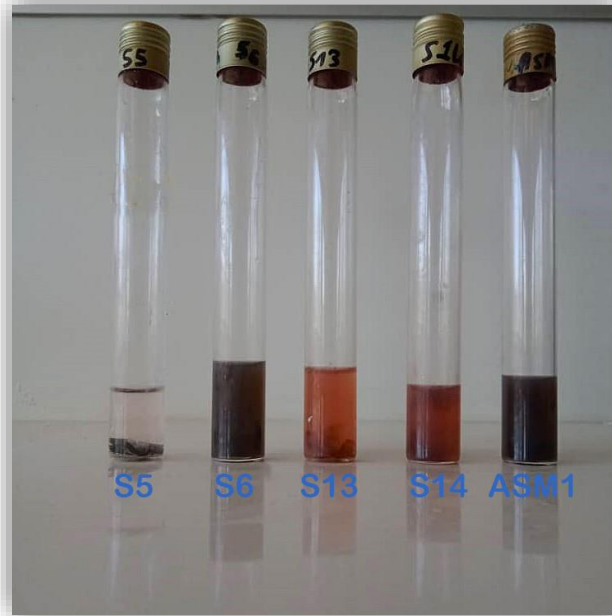


Figure 8 : Résultats de Test de gélatine.

5.3 Test de Urée-indole

Le test de l'urée-indole s'est avéré négatif pour toutes les souches étudiées (S5, S6, S13, S14 et ASM1), indiquant que ces isolats ne possèdent ni l'activité uréase, nécessaire à l'hydrolyse de l'urée en ammoniac, ni la capacité à produire de l'indole à partir du tryptophane.

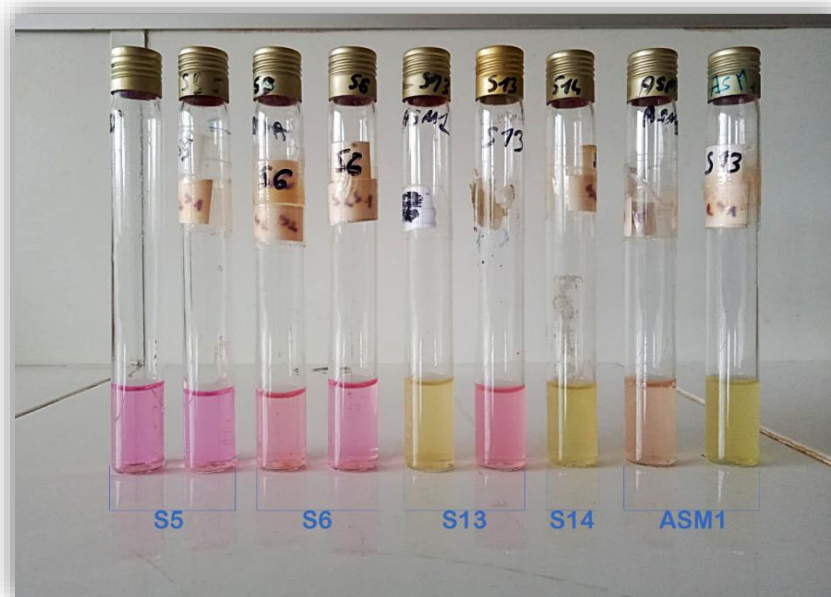


Figure 9 : Résultats de Test de Urée-indole.

Résultats

5.4 Test de catalase

Le test de catalase réalisé sur les cinq isolats (S5, S6, S13, S14 et Asm1) n'a montré aucune formation de bulles après l'ajout de peroxyde d'hydrogène, indiquant l'absence d'activité catalase chez l'ensemble des souches testées. Cette absence suggère que ces actinomycètes ne produisent pas l'enzyme catalase, normalement impliquée dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène.



Figure 10 : Résultats de Test de catalase.

5.5 L'action sur le lait écrémé

L'évaluation de l'activité protéolytique des isolats a été réalisée à l'aide du test sur lait écrémé, permettant de détecter la peptonisation et la coagulation des protéines du lait. Les résultats obtenus révèlent une variabilité notable entre les souches :

Asm1, S5 et S14 présentent à la fois une activité de peptonisation et une capacité à coaguler les protéines du lait, traduisant une forte activité enzymatique protéolytique et glucidolytique. S13 et S6 montrent uniquement une activité de peptonisation sans coagulation, indiquant une action enzymatique glucidolytique uniquement (Marchal et al, 1991).

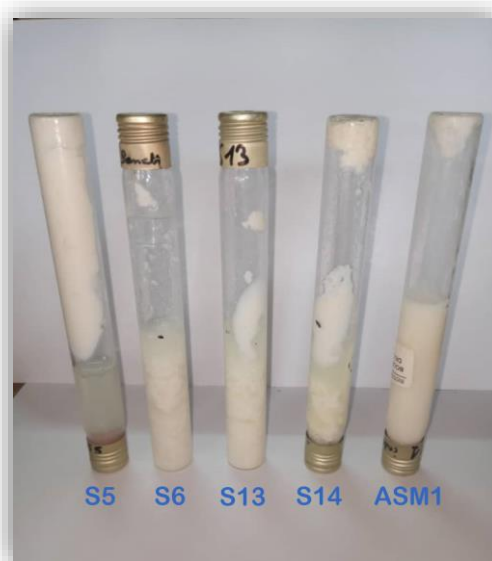


Figure 11 : Résultats de test de L'action sur le lait écrémé.

Résultats

5.6 Test de TSI

Le test TSI (Triple Sugar Iron) a permis d'évaluer les capacités fermentatives des isolats d'actinomycètes en ce qui concerne trois sucres : le glucose, le saccharose et le lactose. Les résultats montrent que toutes les souches testées (ASM1, S5, S6, S13, S14) sont capables d'utiliser ces trois substrats, ce qui révèle une aptitude générale à utiliser différentes sources glucidiques. En revanche, la production de gaz n'a été observée que chez la souche S14 (figure 12). Aucune des souches n'a montré de production de sulfure d'hydrogène (H_2S), ce qui indique l'absence d'activités enzymatiques liées à la réduction du thiosulfate.



Figure 12 : Résultats de test de TSI.

6. Le criblage primaire de l'activité antimicrobienne

Le criblage primaire de l'activité antifongique a été réalisé sur l'ensemble des souches d'actinomycètes isolées à partir du milieu M2. Ces souches ont été testées contre trois micro-organismes fongiques de référence : *Fusarium oxysporum* MNHN 963917, *Aspergillus fumigatus* MNHN 5666, et la levure *Candida albicans* CIP 444. Les essais ont été menés sur gélose PDA pour les champignons filamenteux, et sur milieu Sabouraud pour la levure.

La méthode utilisée est celle de la diffusion des cylindres d'agar. D'une culture de 7 jours d'actinomycètes sur un milieu préalablementensemencé par les germes fongiques tests. Après incubation à 30 °C pendant 48 heures, une seule souche, désignée S5, a montré une activité antifongique significative. Cette activité était spécifiquement dirigée contre *Aspergillus fumigatus*, avec des zones d'inhibition bien visibles mesurant entre 22 et 25mm. Aucune activité n'a été détectée ni contre *Fusarium oxysporum* ni contre *Candida albicans*, ce qui indique un spectre d'action étroit mais ciblé.

7. La recherche de la nature Polyénique/ou non-Polyénique de l'extrait actif :

Le test de l'activité antifongique réalisé sur le milieu M2 préalablement supplémenter par l'ergosterol (50mg/ml) nous a permis de repérer une zone d'inhibition de 15 à 22 mm, cela indique une infime diminution du diamètre d'inhibition par rapport à celui du test de l'activité antifongique sur le milieu de culture PDA exempt de l'ergostérol, il en ressort de ces résultat que la nature de la substance présente dans l'extrait et qui est dotée d'une activité antifongique est probablement de nature non-polyénique,

Résultats

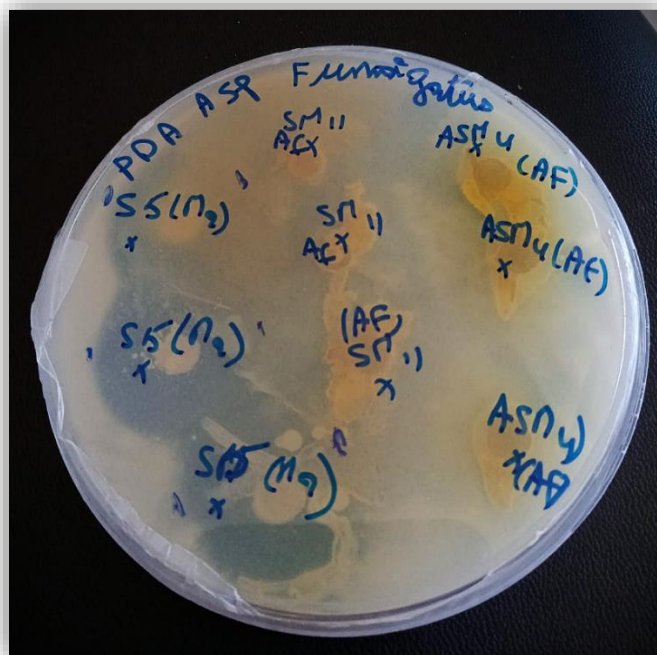


Figure 13 : Résultats des zones d'inhibition de la souche S5 d'actinomycète isolée.



Figure 14 : Résultats des zones d'inhibition de la souche S5, milieu PDA enrichi en ergostérol

Résultats

Tableau 4 : Les résultats du screening primaire de l'activité

	<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Candida albicans</i>
	M2	AF	M2	AF	Sabouraud
S5	+	nt	-	-	-
SM11	nt	-	nt	-	-
ASM4	nt	-	nt	-	-
S7	nt	-	nt	-	-
S13	nt	-	nt	-	-
S6	nt	-	nt	-	-
S9	-	-	-	-	-
S11	-	nt	-	-	-
ASM1	-	-	nt	-	-
S14	nt	-	nt	-	-

nt : n'a pas été testé.

8. Le screening secondaire de l'activité

Suite au test primaire, une seule souche d'actinomycète, désignée S5, semble être prometteuse, et elle a été sélectionnée pour le screening secondaire. Deux extraits ont été préparés à partir de cette souche : l'un à l'acétate d'éthyle et l'autre au chloroforme.

Les essais ont été menés contre *Aspergillus fumigatus* sur milieu PDA, en utilisant la méthode de diffusion sur disques (**Lass-Flörl, C., et al. 2010**). (20 µL/extrait, disques préalablement séchés). Sur le PDA, les deux extraits ont produit des zones d'inhibition nettes : 28 mm pour l'acétate d'éthyle et 30 mm pour le chloroforme. Bien qu'une légère différence soit observée, aucune supériorité nette d'un solvant sur l'autre n'a pu être conclue.

Un second test a été réalisé sur PDA enrichi en ergostérol, Dans ce contexte, la zone d'inhibition était de 20 mm pour l'extrait à l'acétate d'éthyle, et de 27 mm pour celui au chloroforme, les diamètres d'inhibitions mesurés sur le milieu PDA avec et sans l'ergostérol révèlent une légère différence ceci est dû probablement à la nature non-polyénique des extrais actifs dotés d'une activité antifongique.

Résultats

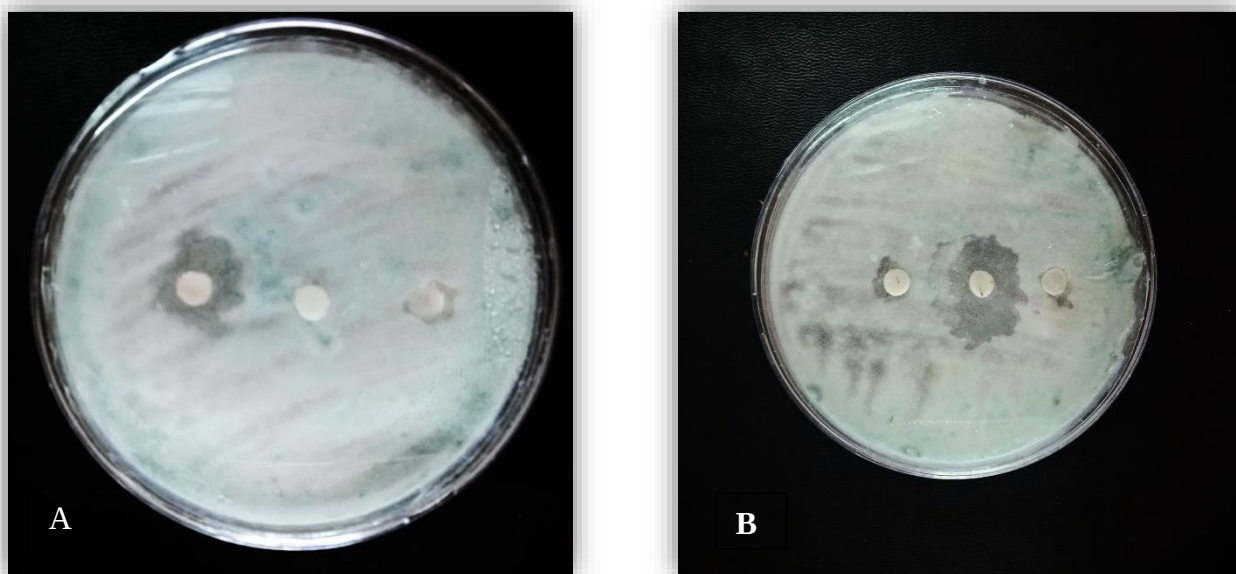


Figure 15 : Les zones d'inhibition des extraits actifs de la souche S5 sur milieu PDA supplémenté en ergostérol, (A) : extrait d'acétate d'éthyle, (B) : extrait de chloroforme

Tableau 5 : Résultats du screening secondaire de l'activité antifongique de la souche S5 contre *Aspergillus fumigatus*

Condition de test	Solvant utilisé	Méthode	Zone d'inhibition (mm)
PDA + <i>Aspergillus fumigatus</i>	Acétate d'éthyle	Disque	28 mm
PDA + <i>Aspergillus fumigatus</i>	Chloroforme	Disque	30 mm
PDA + ergostérol + <i>Aspergillus fumigatus</i>	Acétate d'éthyle	Disque	20 mm
PDA + ergostérol + <i>Aspergillus fumigatus</i>	Chloroforme	Disque	27 mm

Discussion

Discussion

Les infections causées par des champignons opportunistes sont devenues une menace sérieuse pour la santé humaine, en particulier chez les patients immunodéprimés. L'un des exemples les plus préoccupants est *Aspergillus fumigatus*, un pathogène environnemental capable de provoquer des infections systémiques sévères, souvent mortelles. Malgré l'urgence de la situation, le développement de nouveaux traitements antifongiques reste lent et insuffisant. Actuellement, seules quelques classes d'antifongiques — notamment les polyènes, les azolés et les échinocandines — sont disponibles, mais elles présentent des limites importantes en termes de toxicité, d'efficacité ou de résistance (**Denning, 2003 ; Lewis et al., 2012**).

Depuis des siècles, les ressources naturelles ont joué un rôle central dans la découverte de substances thérapeutiques. Par la suite, la découverte d'antibiotiques produits par des micro-organismes terrestres, tels que la pénicilline (1928) et la streptomycine (1943), a profondément transformé la lutte contre les infections.

Cependant, depuis les années 1980, la fréquence d'apparition de nouvelles classes d'agents antimicrobiens a fortement diminué (**Dias et al., 2012**), obligeant les chercheurs à explorer des environnements moins étudiés. Le milieu marin, qui représente plus de 70 % de la surface terrestre, abrite une biodiversité exceptionnelle et reste largement sous-exploité. Il constitue aujourd'hui une source prometteuse de micro-organismes producteurs de métabolites secondaires originaux, notamment les actinomycètes marins.

L'intérêt pour ces bactéries a émergé dès les années 1960, avec l'isolement de composés antibactériens marins. En 1974, un antibiotique d'origine actinomycète a été identifié pour la première fois dans la baie de Sagami au Japon, produit par *Chainia purpuregena*. Depuis, plusieurs molécules issues d'organismes marins ont montré une activité thérapeutique puissante, illustrant le potentiel pharmaceutique de la faune et de la flore marines (**Williams et al., 2008 ; Muñoz-Alonso et al., 2009 ; Schofield, 2015**).

Parmi ces découvertes récentes, la Salinisporamide A (ou Marizomib), issue de *Salinispora pacifica*, représente un exemple remarquable. Cet inhibiteur du protéasome, aujourd'hui en phase avancée d'essais cliniques, présente une activité prometteuse contre plusieurs types de tumeurs solides (**Jensen et al., 2015 ; Lin, 2019**).

Dans cette optique, notre travail s'inscrit dans une démarche d'exploration ciblée de la biodiversité marine algérienne, encore peu étudiée. Le choix de la plage El Ouardania, un site

Discussion

côtier à sédiments riches et influencé à la fois par les apports marins et terrestres, a permis l'isolement de souches d'actinomycètes potentiellement inédites. L'utilisation du milieu M2 s'est révélée particulièrement performante, confirmant des observations antérieures (**Meklat et al., 2011 ; Djinni et al., 2013**), qui indiquent que ce milieu favorise la croissance d'actinomycètes marins. L'absence de croissance sur d'autres milieux confirme la sélectivité du M2 dans ce contexte écologique.

L'analyse biochimique des isolats a mis en évidence des profils métaboliques variés, parfois en décalage avec les données de la littérature. Aucune activité de catalase n'a été détectée, contrairement aux résultats fréquents chez les *Streptomyces* sahariens ou marins (**Zitouni et al., 2005 ; Goodfellow & Williams, 1983**). Ce résultat suggère une adaptation spécifique aux conditions environnementales locales, ou une expression régulée de cette enzyme. De même, le test urée-indole s'est révélé négatif pour toutes les souches, en opposition avec les travaux de **Madheslu et al. (2019)**, qui ont détecté cette activité chez plusieurs souches de *Streptomyces chumphonensis*. Cela témoigne d'une diversité fonctionnelle liée à l'origine écologique. L'activité gélatinase, quant à elle, était présente chez certaines souches (S6, S14, Asm1), illustrant une capacité à hydrolyser les protéines, comme cela a été rapporté dans des isolats d'éponges marines (**Villa & Gerwick, 2010**). Ce pouvoir enzymatique favorise l'accès à des précurseurs essentiels pour la biosynthèse de métabolites secondaires, comme le soulignent **Barreto et al. (2008)**. En parallèle, le test de citrate a montré que seule Asm1 pouvait utiliser le citrate comme source de carbone, à l'image des souches étudiées par **Gopi et al. (2019)**, où cette capacité est associée à une adaptabilité accrue aux ressources carbonées limitées. Pour le test TSI, les résultats (fermentation du glucose sans production de gaz ni H₂S chez trois isolats) concordent avec les observations de **Dharani et al. (2021)**, indiquant un profil énergétique spécifique aux environnements pauvres en sucres complexes.

Sur le plan de l'activité antifongique, la souche S5 s'est révélée particulièrement efficace contre *Aspergillus fumigatus*. Bien que les diamètres d'inhibition ne puissent être directement comparés à ceux rapportés par **Djinni et al. (2013)**, des études comme celles de **Madheslu et al. (2019)** confirment qu'un tel niveau d'activité est représentatif de souches marines prometteuses. Le maintien de cette activité lors du criblage secondaire (extrait brut par acétate d'éthyle et chloroforme) indique que les deux solvants organiques choisis lors de la fermentation sur milieu solide semblent être efficaces dans l'extraction des métabolites dotés d'une activité

Discussion

antifongique, nos résultats corroborent avec ceux des études antérieures **Masi et al, 2019., Kripa et al, 2020., Boublenza et al, 2021)**

L'évaluation de la nature polyénique des composés antifongiques a été explorée à l'aide d'un test de supplémentation en ergostérol, une méthode classique permettant de distinguer les molécules ciblant ce stérol fongique. Les polyènes, comme la nystatine et l'amphotéricine B, perdent leur activité en présence d'ergostérol libre en excès, celui-ci captant les molécules actives et empêchant leur insertion dans la membrane cellulaire.

Dans cette étude, l'activité antifongique observée en présence d'ergostérol a montré une diminution modérée, suggérant que les extraits actifs pourraient ne pas agir via un mécanisme typique des polyènes. Ces observations diffèrent des données rapportées par **Cabral et al. (2013)**, où une réduction significative de l'efficacité de la nystatine a été notée dans des conditions similaires. Cela laisse supposer que l'activité antifongique des extraits testés pourrait être médiée par des composés non polyéniques ou par des interactions indirectes avec la membrane, comme l'ont décrit **Zervos et al. (2008)**.

Ce travail met en évidence l'intérêt de la biodiversité marine algérienne comme source potentielle de nouvelles molécules antifongiques. Les résultats obtenus, fondés sur un isolement ciblé d'actinomycètes, un criblage biologique rigoureux et une analyse comparative basée sur la littérature, apportent des indications encourageantes quant à la capacité de certaines souches à produire des métabolites actifs. Nos résultats suggèrent que la souche S5 pourrait constituer une base prometteuse pour le développement d'agents antifongiques alternatifs, notamment contre *Aspergillus fumigatus*, un pathogène particulièrement préoccupant en milieu hospitalier. Bien que les observations soient prometteuses, l'absence d'identification moléculaire des isolats et de données sur l'innocuité des extraits testés constitue une limite à approfondir. Dans cette optique, la poursuite du travail devra intégrer la purification des composés actifs, leur caractérisation structurale par des techniques analytiques avancées, ainsi que des essais de toxicité *in vitro* sur lignées cellulaires humaines. Ces étapes sont essentielles pour positionner ces molécules candidates dans une démarche de valorisation thérapeutique. Ce projet ouvre ainsi la voie à des approches interdisciplinaires, alliant microbiologie marine, chimie des produits naturels et lutte contre les pathogènes fongiques résistants.

Conclusion & Perspectives

Conclusion & Perspectives

La montée inquiétante de la résistance aux agents antifongiques rend la recherche de nouvelles sources naturelles de composés bioactifs plus urgente que jamais. Dans cette quête, les actinomycètes marins s'imposent comme des candidats prometteurs. Leur étonnante capacité à s'adapter à des environnements extrêmes et variés leur permet de produire une large gamme de métabolites secondaires, dont plusieurs présentent un fort potentiel thérapeutique. Loin d'être de simples micro-organismes, les actinomycètes apparaissent aujourd'hui comme des acteurs clés dans l'avenir de la biotechnologie et de la découverte de nouveaux médicaments.

Le littoral algérien, riche en niches écologiques encore peu explorées, constitue un terrain fertile pour la découverte de ressources microbiennes précieuses. Ce travail s'inscrit dans cette démarche de valorisation, en mettant en lumière le rôle des sédiments marins comme réservoirs potentiels d'actinomycètes. Grâce à des méthodes microbiologiques classiques et à des tests biochimiques ciblés, cette étude ouvre la voie à une meilleure reconnaissance du potentiel biotechnologique de ces micro-organismes, tout en contribuant à la valorisation de la biodiversité marine locale. Il sera indispensable de procéder à l'identification moléculaire des souches isolées, notamment par le séquençage du gène 16S rRNA. Cela permettra non seulement d'affiner leur classification taxonomique, mais aussi de mesurer leur originalité par rapport aux espèces déjà connues.

Les prochaines étapes incluront également l'évaluation du potentiel réel des métabolites produits. Cela passera par des tests de cytotoxicité pour garantir leur sécurité, ainsi que par l'extraction, la purification et éventuellement la production à plus grande échelle des composés d'intérêt. Ce n'est qu'à travers ces démarches que ces produits naturels pourront être considérés comme de véritables candidats pour une application médicale ou industrielle. À plus long terme, l'intégration d'outils modernes tels que la génomique, la métabolomique et la biologie synthétique offrira une compréhension plus approfondie des voies de biosynthèse impliquées. Cela pourrait permettre, à terme, de manipuler ces micro-organismes pour améliorer ou diversifier leur production de métabolites bioactifs.

Cette étude n'est pas qu'un simple travail scientifique : c'est une porte ouverte. Elle nous rappelle que l'innovation se cache parfois dans les profondeurs de nos mers, attendant que la curiosité scientifique et la rigueur méthodologique viennent la révéler. Les

Conclusion & Perspectives

actinomycètes marins de la côte algérienne sont bien plus que des souches isolées : ils sont peut-être les alliés d'un avenir médical plus résiliente.

Référence

Bibliographique

Références

A

- Akkermans, A. D. L., van der Werf, M. J., & de Bont, J. A. M. (2003). Medium optimization for enhanced production of the antibiotic FK506 by *Streptomyces tsukubaensis*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, *30*(2), 57–66.
- Al-Zarban, S. S., Abbas, I., Al-Musallam, A. A., Steiner, U., Stackebrandt, E., & Kroppenstedt, R. M. (2002). *Nocardiopsis halotolerans* sp. nov., isolated from salt marsh soil in Kuwait. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *52*, 525–529.
- Alliouch-Kerboua, C., Kirane, D. G., & La Scola, B. (2015). Activité antimicrobienne d'une Actinomycetale isolée d'une lagune en Algérie. *Annales de Biologie Clinique*, *73*(2), 176–180.
- Álvarez, M., Rodríguez, A., Bermúdez, E., Roncero, E., & Andrade, M. J. (2021). Development of a methodology for estimating the ergosterol in meat product-borne toxigenic moulds to evaluate antifungal agents. *Foods*, *10*(2), 438.
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *48*(Suppl. 1), 5–16.
- Arasu, M. V., Duraipandiyan, V., & Ignacimuthu, S. (2009). Antibiotic production potential of actinomycetes. *Journal of Applied Microbiology*, *107*(4), 1027–1037.

B

- Baldacci, E. (1962). Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, *4*, 633–646.
- Barreto, M. C., et al. (2008). Marine-derived actinomycetes: A source of biologically active compounds. *Natural Product Reports*, *25*(1), 35–52.
- 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*, 189–199.
- Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, *58*(1), 1–26.

Références

- Bérdy, J. (2012). Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *The Journal of Antibiotics*, *65*(8), 385–395.
- Boublenza, I., et al. (2021). Antifungal activity of marine actinomycetes isolated from the Algerian coast. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, *13*(2), 110–117.
- Bouras, N., Merrouche, R., Lamari, L., Mathieu, F., Sabaou, N., & Lebrihi, A. (2013). Les actinobactéries rares productrices de nouveaux métabolites bioactifs. *Annales de Microbiologie, Université Claude Bernard Lyon I*, *4*(2), 25–32.
- Bouterfa, D., & Ibessaine, N. (2022). Activité antibactérienne des actinomycètes isolés à partir du sol (à Boghni) [Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri].

C

- Cabral, M. E., Figueroa, L. I. C., & Fariña, J. I. (2013). Synergistic antifungal activity of statin–azole associations as witnessed by *Saccharomyces cerevisiae*- and *Candida utilis*-bioassays and ergosterol quantification. *Revista Iberoamericana de Micología*, *30*(1), 31–38.
- Cabral, J. P. S., et al. (2013). In vitro interaction of ergosterol with antifungal agents: Effect on the polyene activity. *Mycoses*, *56*(2), 120–128.
- Chaudhary, D. K., Kim, J., & Lee, S. S. (2013). Actinomycetes: A potent source of novel antibiotics. *Microbiological Research*, *168*, 81–95.
- Chopra, I., Hawkey, P. M., & Hinton, M. (1992). Tetracyclines, molecular and clinical aspects. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *29*, 245–277.
- Choulet, F. (2006). Évolution du génome des *Streptomyces* : transferts horizontaux et dynamique chromosomique [Doctoral thesis, Université Paris XI].
- Cohen, C. (2000). La résistance des bactéries aux antibiotiques. *Pour la Science*, *278*, 24–32.
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2005). Biodiversity: A continuing source of novel drug leads. *Pure and Applied Chemistry*, *77*(1), 7–24.
- Craig, W. A. (1998). Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: Rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases*, *26*(1), 1–10.

D

Références

- Das, S., Ward, L. R., & Burke, C. (2008). Diversity of marine actinomycetes in deep-sea sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, *65*(2), 261–270.
- Davies, J. E. (1964). Studies on the ribosomes of streptomycin-sensitive and resistant strains of *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *51*, 659–664.
- Davies, J., & Mazel, D. (1997). Comment la résistance vient aux bactéries. *Biofutur*, *170*, 14–17.
- Delaunay, S., Yon, L., Germain, P., & Engasser, J. M. (2003). Étude de la biosynthèse de métabolites secondaires de *Streptomyces pristinaespiralis* par des approches de génie métabolique. *Récents Progrès en Génie des Procédés*, *89*, 179–186.
- Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques*. Éditions Médicales Internationales.
- Denning, D. W. (2003). Echinocandins: A new class of antifungal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *51*(6), 1351–1353.
- Dharani, G., et al. (2021). Characterization of marine *Streptomyces* species and their metabolic activity in carbohydrate-poor environments. *Microbiology Research Journal International*, *31*(5), 1–11.
- Djinni, I., Chergui, A., & Ez-Zoubi, H. (2019). Biodiversity and bioprospection of Saharan actinomycetes producing bioactive compounds. *Journal of Applied Biology*, *45*, 89–101.
- Djinni, I., et al. (2013). Isolation, characterization and antifungal activity of actinomycetes from Algerian soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *29*(10), 1821–1832.
- Drlica, K., & Zhao, X. (1997). DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *61*(3), 377–392.
- Duraipandiyan, V., Sasi, A. H., Islam, V. I. H., Valanarasu, M., & Ignacimuthu, S. (2010). Antimicrobial properties of actinomycetes from the soil of Himalaya. *Journal de Mycologie Médicale*, *20*(1), 15–20.

Références

- Elsayed, S. S., van der Heul, H. U., Xiao, X., Nuutila, A., Baars, L. R., Wu, C., Metsä-Ketelä, M., & van Wezel, G. P. (2023). Unravelling key enzymatic steps in C ring cleavage during angucycline biosynthesis. *Communications Chemistry*, *6*, 281.
- Embley, T. M., & Stackebrandt, E. (1994). The phylogeny of actinomycetes and related bacteria. *Annual Review of Microbiology*, *48*(1), 257–289.
- Ensign, J. C., Normand, P., Burden, J. P., & Yallop, C. A. (1993). Physiology of some actinomycete genera. *Research in Microbiology*, *144*, 657–660.

F

- Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, *6*, 25–64.
- Fenical, W., & Jensen, P. R. (2006). Developing a new resource for drug discovery: Marine actinomycetes. *Nature Chemical Biology*, *2*(12), 666–673.
- Fiedler, H. P., Bruntner, C., Bull, A. T., Ward, A. C., Goodfellow, M., Potterat, O., ... & Mihm, G. (2008). Marine actinomycetes as a source of novel secondary metabolites. *Antonie van Leeuwenhoek*, *93*(4), 125–136.
- Flärdh, K., & Buttner, M. J. (2009). *Streptomyces* morphogenetics: Dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nature Reviews Microbiology*, *7*, 36–49.
- Fuentes, S., Méndez, V., Aguila, P., & Seeger, M. (2010). Biodegradation of pesticides by actinomycetes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *64*(6), 541–548.

G

- Genilloud, O. (2017). Actinomycetes: Still a source of novel antibiotics. *Natural Product Reports*, *34*, 1203–1232.
- Ghanem, N. B., Sabry, S. A., El-Sherif, Z. M., & Abu El-Ela, G. A. (2000). Heavy metal resistance in actinomycetes. *Environmental Microbiology*, *2*(4), 257–262.
- Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, *37*, 189–216.

Références

- Gopi, R., et al. (2019). Carbon source utilization in marine *Streptomyces*: A strategy for environmental adaptation. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *8*(2), 204–213.

H

- Hass, D. (2015). Impact of antibiotic production by *Pseudomonas protegens* on bacterial fitness. *Conference Proceedings of Genomics in Paris*, 26–28 July 2015.
- Hayakawa, M., & Nonomura, H. (1987). Humic acid–vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *Journal of Fermentation Technology*, *65*, 501–509.
- Hilali, S., Touzani, Y., & Hamdani, A. (2002). Screening of antimicrobial activity of actinomycetes isolated from various Moroccan biotopes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *66*, 1234–1240.

I

- Ilić, S. B., Konstantinović, S. S., Todorović, Z. B., Lazić, M. L., Veljković, V. B., & Joković, N. M. (2007). Antibiotic production by marine actinomycetes. *Marine Biotechnology*, *9*(5), 545–554.

J

- Jackson, M. L. (1973). *Soil chemical analysis* (2nd ed.). Prentice-Hall.
- Jagannathan, S., & Marine, R. S. (2021). Marine actinomycetes as sources of novel anticancer compounds. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 644874.
- Jensen, P. R., Dwight, R., & Fenical, W. (1991). Distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, *57*, 1102–1108.
- Jensen, P. R., Williams, P. G., & Fenical, W. (2005). Marine actinomycetes: An ongoing source of novel bioactive metabolites. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *69*(3), 401–427.

Références

- Jensen, P. R., et al. (2015). Salinispora: Producing marine actinomycetes for drug discovery. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, *42*(3), 247–261.

K

- Kitouni, M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes [Doctoral thesis, Université Mentouri-Constantine, Algérie].
- Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioia, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., ... & Boulahrouf, A. (2005). Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north-east of Algeria. *Journal of Mycology and Medicine*, *15*, 45–51.
- Krishnamurthi, V., & Chakrabarti, T. (2013). Bacterial production of polyols: A comparative study of the taxonomic and fermentative characteristics of new isolates of *Streptomyces*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *40*, 967–974.
- Kripa, K. G., et al. (2020). Antifungal potential of marine actinomycetes from Indian coastal waters. *Indian Journal of Microbiology*, *60*(3), 345–354.

L

- Lacey, J. (1997). Actinomycetes in composts. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, *4*, 113–121.
- Larpent, J. P., & Sanglier, J. J. (1989). *Biotechnologie des antibiotiques*. Masson.
- Lass-Flörl, C., et al. (2010). Agar-based disk diffusion assay for susceptibility testing of dermatophytes. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*(7), 2604–2609.
- Lemriss, S. (2003). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne d'actinomycètes marins du littoral marocain [Doctoral thesis, Université Cadi Ayyad, Marrakech].

M

Références

- Madheslu, K., et al. (2019). Biochemical and antifungal characterization of marine *Streptomyces chumphonensis*. *Journal of Applied Microbiology*, *126*(5), 1328–1339.
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K., & Kim, S. K. (2008). Isolation and characterization of *Streptomyces* PM-32 from marine sediment with antimicrobial activity. *Journal of Microbiology*, *46*, 451–455.
- Mariatt, F., & Sebald, M. (1990). Les actinomycètes. In J. Freney, F. Renaud, W. Hansen, & C. Bollet (Eds.), *Précis de bactériologie clinique* (pp. 1692–1720). Editions Alexandre Lacassagne.
- Mast, Y., & Stegmann, E. (2019). Actinomycetes: The antibiotics producers. *Antibiotics*, *8*(3), 105.
- Mast, Y., & Stegmann, E. (2019). Biosynthesis of antibiotics from actinomycetes. *Natural Product Reports*, *36*(6), 738–750.
- McClure, W. R. (1980). On the mechanism of streptolydigin inhibition of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Journal of Biological Chemistry*, *255*, 1610–1616.
- Meklat, A., Bouras, N., Mokrane, S., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., ... & Sabaou, N. (2015). *Bounagaea algeriensis* gen. nov., sp. nov., an extremely halophilic actinobacterium isolated from a Saharan soil of Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, *108*, 473–482.
- Meklat, A., et al. (2011). Diversity and antimicrobial activity of actinomycetes isolated from Algerian Saharan soils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *27*(12), 2527–2538.
- Messaoudi, O. (2012). Contribution à la caractérisation de souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha de Kenadsa (Bechar).
- Moussa, M., et al. (2019). Antimicrobial secondary metabolites from marine actinomycetes. *Marine Drugs*, *17*(9), 494.

N

- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2016). Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, *79*(3), 629–661.

O

Références

- Okami, Y., & Hotta, K. (1988). Search and discovery of new antibiotics. In M. Goodfellow, S. T. Williams, & M. Mordarski (Eds.), *Actinomycetes in biotechnology* (pp. 33–67). Academic Press.
- Okami, Y., & Okazaki, T. (1974). Studies on marine microorganisms. I. Isolation of actinomycetes from marine sediments. *The Journal of Antibiotics*, *27*, 824–829.
- Olano, C., Méndez, C., & Salas, J. A. (2009). Antitumor compounds from marine actinomycetes. *Marine Drugs*, *7*, 210–248.
- Omura, S. (1992). The expanded horizon for microbial metabolites – a review. *Gene*, *115*, 141–149.
- Ottow, J. C. G., & Glathe, H. (1968). Rose bengal-malt extract-agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Applied Microbiology*, *16*(1), 170–171.

P

- Pankey, G. A., & Sabath, L. D. (2004). Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases*, *38*(6), 864–870.
- Perez, R. J., & Tor, Y. (2014). Advances in understanding of antifungal mechanisms. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, *6*, 25–64.
- Pochon, J., & Tardieux, P. (1962). *Techniques d'analyses en microbiologie du sol*. Éditions de la Tourelle.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2007). *Microbiologie* (3rd ed.). De Boeck Université.

R

- Reponen, T., Gazenko, S. V., Grinshpun, S. A., Willeke, K., & Cole, E. C. (1998). Characteristics of airborne actinomycete spores. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*, 3807–3812.

Références

- Ribeiro, I., Girão, M., Alexandrino, D. A. M., Ribeiro, T., Santos, C., Pereira, F., ... Carvalho, M. F. (2020). Diversity and bioactive potential of Actinobacteria isolated from a coastal marine sediment in Northern Portugal. *Microorganisms*, *8*(11), 1691.

S

- Schäfer, J., Jäckel, U., & Kämpfer, P. (2010). Development of a new PCR primer system for selective amplification of Actinobacteria. *FEMS Microbiology Letters*, *311*(2), 103–112.
- Schäfer, M., Schneider, T. R., & Sheldrick, G. M. (1996). Crystal structure of vancomycin. *Structure*, *4*(12), 1509–1515.
- Schofield, C. J. (2015). Exploring the pharmacological potential of marine organisms. *Nature Reviews Drug Discovery*, *14*(5), 321–322.
- Sharma, A., Singh, V. K., & Mishra, S. K. (2018). Importance of marine actinomycetes in biotechnology. *Critical Reviews in Biotechnology*, *38*(3), 1–19.
- Shirling, E. B., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, *16*(3), 313–340.
- Song, J., Lee, S. C., Kang, J. W., Baek, H. J., & Suh, J. W. (2001). Isolation and characterization of a new *Thermoactinomyces* sp. RAM10 producing thermostable alpha-amylase antagonistic to plant pathogenic fungi from volcanic soil. *Biotechnology Letters*, *23*, 1333–1336.
- Stackebrandt, E., Rainey, F. A., & Ward-Rainey, N. L. (1997). Phylogenetic relationships of the genus *Actinomyces*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, *47*(4), 1134–1140.
- Strub, C. (2008). Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrix algeriensis* [Doctoral thesis, Institut National Polytechnique de Toulouse].

T

Références

- Takahashi, Y., & Nakashima, T. (2018). New perspectives on marine actinomycetes for antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 2421.
- Theilleux, J. (1993). Les actinomycètes. In J. Y. Leveau & M. Bouix (Eds.), *Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel* (p. 590). Lavoisier.
- Tipper, D., & Strominger, J. L. (1965). Mechanism of action of penicillins: A proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *54*, 1133–1141.

V

- Van Bambeke, F., & Tulkens, P. (2010). *Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse*. Syllabus national belge de pharmacologie.
- Van der Heul, H. U., Bilyk, B. L., McDowall, K. J., Seipke, R. F., & van Wezel, G. P. (2018). Regulation of antibiotic production in Actinobacteria: New perspectives from the post-genomic era. *Natural Product Reports*, *35*, 575–604.
- Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., & van Sinderen, D. (2007). Genomics of Actinobacteria: Tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *71*(3), 495–548.
- Vester, B., & Douthwaite, S. (2001). Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *45*(1), 1–12.
- Villa, F. A., & Gerwick, L. (2010). Marine microbial-derived anticancer agents. *Seminars in Cancer Biology*, *20*(3), 197–205.

W

- Waksman, S. A., & Henrici, A. T. (1943). Actinomycetes, the antibiotic producers. *Bacteriological Reviews*, *7*(2), 127–140.
- Whitman, W. B., Coleman, D. C., & Wiebe, W. J. (1998). Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*, 6578–6583.

Références

- Williams, P. G., Panning, J. W., & Fenical, W. (2005). Marine natural products as drug leads. *Current Opinion in Chemical Biology*, *9*(5), 331–336.
- Williams, P. G., et al. (2008). Marine actinomycetes: New sources of bioactive metabolites. *Chemical Society Reviews*, *37*(7), 1363–1370.
- Williams, S. T., & Cross, T. (1983). Actinomycete taxonomy and antibiotic production. *Microbiological Reviews*, *53*(3), 331–356.
- Williams, S. T., Davies, F. L. (1965). Use of antibiotics for selective isolation and enumeration of actinomycetes in soil. *Journal of General Microbiology*, *38*, 251–261.

Z

- Zervos, M. J., et al. (2008). Resistance to polyene antifungal agents. *Medical Mycology*, *46*(2), 113–118.
- Zhi, X. Y., Li, W. J., & Stackebrandt, E. (2009). A taxonomic study of the genus *Streptomyces* by using partial *rpoB* gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *59*, 635–639.
- Zitouni, A., Toumatia, O., & Prépote, M. (2004). *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., a new antibiotic-producing actinomycete isolated from a Saharan soil of Algeria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *54*, 1–7.
- Zitouni, A., et al. (2005). Characterization and antimicrobial activity of *Streptomyces* isolated from Saharan soils. *Research in Microbiology*, *156*(3), 447–453.
- Zotchev, S. B. (2012). Marine actinomycetes as emerging resources for discovery of novel bioactive compounds. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *2012*, 352–734.

ANNEXE

Annexes1

La coloration de Gram

La coloration de Gram est une méthode de base en microbiologie permettant de classer les bactéries en deux grands groupes : Gram positif et Gram négatif. Cette distinction repose sur la structure de la paroi cellulaire. La procédure commence par la préparation d'un frottis bactérien à partir de colonies déposées sur une lame contenant une goutte d'eau physiologique, puis fixé à la chaleur. Ensuite, on applique le violet de cristal, suivi d'un rinçage, puis d'une décoloration à l'éthanol. Cette étape élimine la coloration chez les bactéries Gram négatif, dont la paroi est fine et perméable, tandis que les Gram positif conservent la coloration violette. Une contre-coloration à la fuchsine ou à la safranine est ensuite réalisée, colorant en rose les bactéries décolorées. Enfin, la lame est observée au microscope à immersion (objectif 100×). Cette méthode rapide permet une première identification morphologique des bactéries et oriente les analyses futures.

Annexes 2

La composition des milieux de culture :

Amidon caséine agar (M₂) :

Amidon	10g
Caséine	0,3g
KNO ₃	2g
NaCl	2g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0,05g
CaCO ₃	0,02g
FeSO ₄	0,01g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
pH : 7,4	

Citrate de Simmons

Ammonium dihydrogenophosphate	1g
Phosphate de dipotassique	1g
Chlorure de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Sulfate magnésium	0,2g
Bleu de bromothymol	0,08g
Agar	15g
Eau distillée	1000 mL
pH : 6,8	

Gélose de Gause

Amidon	20g
KNO ₃	1g
NaCl	0,5g
MgSO ₄ ×7 H ₂ O	0,5 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
FeSO ₄	10mg

Agar	15 g
Eau distillée	1000ml
pH : 7,4	

Gélose Sabouraud

Peptone de gélatine	10g
Glucose	20g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
pH : 5,6	

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	0,05 g
Agar	18g
Eau distillée	1000mL
pH 7,2	

Milieu AF

Extrait de malt	10g
Extrait de levure	4g
Glucose	2g
NaCl	2,5g
CaCO ₃	1g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
pH 7,0	

Potato dextrose agar (PDA)

Infusion de pomme de terre	200g
Saccharose	20g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml
pH : 5,6	

Urée- indole

L-tryptophane	3g
Phosphate de dipotassique	1g
Phosphate monopotassique	1g
Chlorure de sodium	5g
Urée	20g
Rouge de phénol	2,5g
Eau distillée	1000 ml
pH 6,8	

ملخص

ظهر المقاومة المتزايدة للعوامل المضادة للفطريات الحاجة الملحة إلى استكشاف مصادر طبيعية جديدة للمركبات الحيوية النشطة. تُعدّ الأكتينوميسيتات البحرية، المعروفة بقدرتها على إنتاج مستقلبات ثانوية ذات إمكانات علاجية عالية، من بين أبرز الكائنات الدقيقة الواعدة في هذا المجال. استهدفت هذه الدراسة الرواسب البحرية المجمعّة من شاطئ الوردانية (ولهاصة الغرابية) لعزل هذه البكتيريا وتقييم إمكاناتها البيولوجية. تم عزل عدة سلالات من الأكتينوميسيتات باستخدام وسط زراعي مناسب، وقد أظهرت خصائص مورفولوجية نموذجية لهذه المجموعة، مع تنوع واضح في شكل المستعمرات. كما تبين أن جميع السلالات موجبة لصبغة وتنمّع ببنية خيطية عند الفحص المجهرى. أجري اختبار غربلة أولية لتقييم النشاط المضاد للفطريات، حيث أظهرت سلالة واحدة فقط فعالية ملحوظة ضد أحد الفطريات الممرضة، مما يشير إلى إمكانية إعادة تستحق المتابعة والدراسة المعمقة. كما أجريت اختبارات كيميائية حيوية من أجل توصيف العزلات بشكل أدق، وقد أظهرت هذه التحاليل قدرة السلالات على إنتاج إنزيمات مختلفة تشارك في تحلل الركائز العضوية، مع تميز كل سلالة بنمط إنزيمي خاص بها. تعكس هذه النتائج التنوع الأيضي والقدرة التكيفية للأكتينوميسيتات البحرية المعزولة.

بشكل عام، تؤكد هذه المعطيات أهمية البيئة البحرية كمخزون غني بالكائنات الدقيقة ذات الإمكانات البيوتكنولوجية. وتبرز الأكتينوميسيتات البحرية من السواحل الجزائرية كمرشحات واعدة في البحث عن جزيئات حيوية نشطة، خصوصاً في مجال مكافحة العدوى الفطرية.

الكلمات المفتاحية : الأكتينوميسيتات - المضادات الحيوية - الفرز - نشاط مضادات الميكروبات

Résumé

La résistance croissante aux agents antifongiques met en lumière la nécessité urgente d'explorer de nouvelles sources naturelles de composés bioactifs. Les actinomycètes marins, bien connus pour leur capacité à produire des métabolites secondaires à fort potentiel thérapeutique, constituent une voie prometteuse. Cette étude s'est inscrite dans cette démarche en ciblant les sédiments marins prélevés sur la plage El Ouardania (Oulhaça El Gheraba), afin d'isoler et d'évaluer le potentiel biologique de ces bactéries.

Plusieurs souches d'actinomycètes ont été isolées sur un milieu adapté. Elles présentaient les caractéristiques morphologiques typiques de ce groupe, avec une diversité visible entre les colonies. Toutes les souches se sont révélées Gram positives, et ont montré une structure filamenteuse au microscope. Un criblage primaire a été réalisé pour évaluer leur activité antifongique. Parmi les souches testées, une seule a montré un effet notable contre un champignon pathogène, révélant ainsi un potentiel antifongique intéressant à explorer davantage. Des tests biochimiques ont été menés pour mieux caractériser les isolats. Ils ont mis en évidence la capacité des souches à produire diverses enzymes impliquées dans la dégradation de substrats organiques, avec des profils variés d'une souche à l'autre. Ces résultats soulignent la diversité métabolique des actinomycètes marins isolés et leur adaptabilité.

L'ensemble des données obtenues confirme l'intérêt de prospector les milieux marins comme réservoirs de micro-organismes aux propriétés biotechnologiques. Les actinomycètes marins issus de la côte algérienne apparaissent ainsi comme des candidats prometteurs dans la recherche de nouvelles molécules bioactives, notamment en contexte de lutte contre les infections fongiques.

Mots clés : Actinomycètes - Antibiotique - Criblage - Activité antimicrobienne.

Abstract

The growing resistance to antifungal agents highlights the urgent need to explore new natural sources of bioactive compounds. Marine actinomycetes, well known for their ability to produce secondary metabolites with high therapeutic potential, represent a promising avenue. This study followed that approach by targeting marine sediments collected from El Ouardania Beach (Oulhaça El Gheraba) to isolate and evaluate the biological potential of these bacteria.

Several actinomycete strains were isolated using a suitable culture medium. They displayed typical morphological characteristics of this group, with visible diversity among colonies. All strains were Gram-positive and showed a filamentous structure under the microscope. A primary screening was carried out to assess their antifungal activity. Among the tested strains, only one showed a significant effect against a pathogenic fungus, revealing a promising antifungal potential worth further exploration. Biochemical tests were conducted to better characterize the isolates. These revealed the strains' ability to produce various enzymes involved in the degradation of organic substrates, with each strain displaying a distinct profile. These results highlight the metabolic diversity and adaptability of the marine actinomycetes isolated.

Overall, the data confirm the relevance of exploring marine environments as reservoirs of microorganisms with biotechnological potential. Marine actinomycetes from the Algerian coast thus emerge as promising candidates in the search for new bioactive molecules, particularly in the fight against fungal infections.

Key words: Actinomycetes - Antibiotic - Screening - Antimicrobial activity.