



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi**  
**Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**



N ° d'ordre : ...

N ° de série : ...

**Mémoire**

Présenté pour l'obtention du diplôme de

**MASTER**

**Filière : Sciences biologiques**

**Option : Microbiologie appliquée**

Thème :

**Isolement d'actinomycètes producteurs de substances  
antibactériennes agissant contre des bactéries pathogènes.**

Présenté par :

**BENSOUICI Rouaida Amira**

**BENDAKIR Chourouk**

Devant le jury :

**Président : M. DEROUICHE K.**

**M.C.A. Univ. Oum El Bouaghi.**

**Rapporteur : M. DJABALLAH C. E.**

**M.C.B. Univ. Oum El Bouaghi.**

**Examineur : M. HAMAMES M.**

**M.A.A. Univ. Oum El Bouaghi.**

**Année universitaire : 2022-2023**

## **Remerciements**

Tout d'abord, nous remercions Dieu « Allah » tout-puissant, qui nous a donné la force et le courage afin d'élaborer ce mémoire.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de l'Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre encadreur, Mr. Djaballah Chamss eddine, Maître de Conférences Classe B à l'université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, pour son précieux encadrement et ses conseils éclairés. Nous sommes honorés d'avoir pu bénéficier de vos vastes connaissances et de votre précieuse expérience.

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude envers le président du jury Mr. DEROUICHE Kamel Maître de Conférences Classe A à l'Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, merci de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Nous souhaitons également exprimer nos remerciements à Mr. HAMAMES Mokhtar, Maître-Assistant Classe A à l'Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, pour l'intérêt qu'il a porté à notre recherche et d'avoir accepté d'examiner notre travail et consacré leur temps pour évaluer ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à tous nos enseignants qui ont croisé notre chemin tout au long de notre parcours universitaire. Leur dévouement, leur expertise et leur passion pour l'enseignement ont été une source d'inspiration et d'apprentissage inestimable.

Nous tenons également à remercier chaleureusement toute la promotion de Microbiologie Appliquée, avec qui nous avons partagé de précieux moments d'étude, d'échange et de soutien mutuel.

Nous adressons également nos remerciements à tous les membres du laboratoire de Microbiologie appliquée SELLOUM Mounira, BARKOU Soumia, BLHOUCAT Ali. Nous mentionnons aussi la très bonne humeur et l'ambiance au sein de ce groupe qui nous ont permis de mener nos travaux pratiques de façon très agréable.

Merci à Dr. BOUSSELAH Meriem et tous ceux qui ont participé, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

## Dédicace

A mon cher père, ton départ laisse un vide immense dans mon cœur. Tes souvenirs précieux et ton amour éternel resteront à jamais gravés en moi.

A ma chère mère, source de vie, d'amour et d'affection, je suis reconnaissant(e) pour ses sacrifices, son amour, sa tendresse, son soutien et ses prières tout au long de mes études.

A mes chers frères, **Ayoub** et **Ihab** et **Islem** pour leur appui et leur encouragement,

A toute ma famille vous êtes le pilier solide qui m'entoure de votre amour et de votre soutien. Chacun de vous apporte une lumière unique à ma vie, et je suis reconnaissant(e) de vous avoir à mes côtés.

À mes chers amis, **Nourhane, Roudaina, Samira, Hiba, Amani, Djihane et Dikra** vous êtes mes compagnons de route et les personnes les plus proches de moi dans ce voyage éducatif. Merci pour votre soutien continu et votre confiance en mes capacités. Vous avez été une source de rire et d'encouragement.

A ma binôme **Chourouk** et toute sa famille

A toute personne qui me connaît de près ou de loin.

**R. AMIRA**

## Dédicace

Du fond de mon cœur, je dédie ce travail :

❖ À ceux que j'aime :

Ma mère, qui a joué un rôle essentiel dans ma réussite. Son amour inconditionnel, son soutien indéfectible, les nombreux sacrifices qu'elle a consentis et ses précieux conseils ont contribué à façonner ma vie. À travers ce modeste travail, je souhaite lui témoigner toute ma reconnaissance et lui exprimer mes sentiments les plus sincères. Sa présence et son assistance précieuse ont été un véritable cadeau dans ma vie. Que Dieu me donne la force et les moyens de lui rendre honneur, de la servir et de la combler en retour.

Mon père, dont je suis sûr qu'il peut être fier en découvrant les résultats de nombreuses années de sacrifices. Sa présence et son soutien constant m'ont aidé à avancer dans la vie. J'espère sincèrement que ce travail porte ses fruits, grâce aux valeurs nobles, à l'éducation et au soutien qu'il m'a inculqué. Que Dieu me donne la force de les honorer, de les servir et de les combler en retour.

❖ À mes proches :

Mes sœurs Douàa et Amina d'où je m'inspire le courage et à

Mon frère Rafik de m'avoir donné le courage et la volonté.

❖ À ma binôme Amira pour son soutien moral, sa compréhension et sa patience tout au long de ce projet.

❖ À tous mes amis, en particulier :

Djihane, Dikra, Djihad, Kahramen, Ikram, Amani, kenza.

❖ À toute la promotion de Microbiologie Appliquée sans exception.

❖ À tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, à tous ceux qui m'aiment.

À vous...Merci.

**Chourouk**

## Liste des abréviations

**dSm<sup>-1</sup>** : décisiemens per mètre.

**ISP** : International Streptomyces Project.

**ISP2** : International Streptomyces Project N°2.

**ISP4** : International Streptomyces Project N°4.

**ISP5** : International Streptomyces Project N°5.

**%H** : Pourcentage d'humidité.

**% C. org.** : Pourcentage du carbone organique.

**C.1/5<sup>ème</sup>** : Conductivité du sol diluée au 1/5<sup>ème</sup>.

**mS**: milliSiemens.

**SPSS** : Statistical Package for the Social Sciences.

**Ddl** : Degré de Liberté.

**H0** : Hypothèse nulle.

**H1** : Hypothèse alternative.

**ATCC** : American Type Culture Collection.

**PLP** : Protéines de Liaison à la Pénicilline.

**PAVM** : La Pneumonie Associée à la Ventilation Mécanique.

**MRSA** : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline.

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Ecologie des actinomycètes (van der Meij <i>et al.</i> , 2017).....	6
<b>Figure 2</b> : Dessins schématiques des différents types de chaînes de spores produites par les actinomycètes (Barka <i>et al.</i> , 2015).....	10
<b>Figure 3</b> : Cibles d'action des antibiotiques (Kassah, 2020).....	17
<b>Figure 4</b> : Principes de la classification des espèces au sein du spectre d'activité antibactérienne d'un antibiotique (Cavallo et Mérens, 2008).....	20
<b>Figure 5</b> : La photo-satellite du site Guerrah Et Tarf (site Internet 1).....	24
<b>Figure 6</b> : Les photographies des prélèvements des trois échantillons de sol à partir du site Et Taref. ....	25
<b>Figure 7</b> : La photographie des zones de prélèvement des échantillons de sol à partir du site Et Taref. ....	25
<b>Figure 8</b> : Le schéma représentatif des tests empruntés lors de l'analyse statistique.....	27
<b>Figure 9</b> : Photographies des résultats du poids sec du sol et du poids des cendres.....	32
<b>Figure 10</b> : Photographie de l'aspect filamenteux des colonies d'actinomycètes souche S7 sous microscope optique (Objectif x 3,2).....	58
<b>Figure 11</b> : L'histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d'actinomycètes croissant sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 ainsi que la qualité de cette croissance. ....	61
<b>Figure 12</b> : L'histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d'actinomycètes croissant sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% ainsi que la qualité de cette croissance. ....	62
<b>Figure 13</b> : L'histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d'actinomycètes sporulant sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 ainsi que la qualité de cette croissance. ....	64
<b>Figure 14</b> : L'histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d'actinomycètes sporulant sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% ainsi que la qualité de cette croissance. ...	65
<b>Figure 15</b> : Production de pigment chez l'isolat S 26, S27 sur le milieu ISP2 de 5% d'NaCl. ....	70

<b>Figure 16</b> : La production de pigment sur le milieu ISP5 5% d'NaCl par la souche S162.....	70
<b>Figure 17</b> : La production de pigment sur le milieu ISP2 10% d'NaCl par les souches S90 S85 et S88.....	70
<b>Figure 18</b> : L'histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d'actinomycètes producteurs de pigment sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. ....	71
<b>Figure 19</b> : L'histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d'actinomycètes producteurs de pigment sur les concentrations 5%, 7,5% et 10%.....	72
<b>Figure 20</b> : Photographie des zones d'inhibition de l'isolat S7 vis-à-vis <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	75
<b>Figure 21</b> : Photographie des zones d'inhibition des isolats S7 et S8 vis-à-vis <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	75
<b>Figure 22</b> : Photographie des zones d'inhibition de l'isolat S8 vis-à-vis <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) à partir des milieux de culture, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	75
<b>Figure 23</b> : Photographie de la zone d'inhibition de l'isolat S161 vis-à-vis <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) à partir le milieu de culture, ISP2 additionnés de 7,5% d'NaCl. ....	76
<b>Figure 24</b> : Photographie des zones d'inhibition de l'isolat S7 vis-à-vis <i>S. aureus</i> à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	78
<b>Figure 25</b> : Photographie des zones d'inhibition des isolats S7 et S8 vis-à-vis <i>S. aureus</i> à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	78
<b>Figure 26</b> : Photographie des zones d'inhibition de l'isolats S8 vis-à-vis <i>S. aureus</i> à partir des milieux de culture ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	79
<b>Figure 27</b> : Photographie de la zone d'inhibition de L'isolat S161 vis-à-vis <i>S. aureus</i> multirésistante à partir le milieu de culture ISP2 additionnés de 7,5% d'NaCl.....	79

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Classement de la salinité des sols (Artiola <i>et al.</i> , 2019).....	4
<b>Tableau 2</b> : La classification des actinomycètes (Goodfellow, 2012).....	12
<b>Tableau 3</b> : Les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques (Nemeth <i>et al.</i> , 2015).....	14
<b>Tableau 4</b> : Exemples d'antibiotiques produits par les actinomycètes. ....	18
<b>Tableau 5</b> : Le profil de résistance des bactéries multirésistantes utilisées dans la technique des cylindres d'agar. ....	28
<b>Tableau 6</b> : Les résultats des différentes analyses physicochimiques. ....	30
<b>Tableau 7</b> : La classification des sols en fonction de leur pH. ....	30
<b>Tableau 8</b> : Les classes de la salinité en fonction de la conductivité électrique de l'extrait aqueux à 25°C.....	31
<b>Tableau 9</b> : La classification des sols en fonction du taux d'humidité. ....	31
<b>Tableau 10</b> : Dénombrement des actinomycètes à partir des échantillons du site Et Taref....	32
<b>Tableau 11</b> : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats de dénombrement d'actinomycètes isolés à partir trois échantillons ET1, ET2 et ET3. ....	34
<b>Tableau 12</b> : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement d'actinomycètes isolés à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3.....	34
<b>Tableau 13</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution d'actinomycètes isolés à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3. ....	35
<b>Tableau 14</b> : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution les charges d'actinomycètes isolés sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.....	36
<b>Tableau 15</b> : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement d'actinomycète isolés sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.....	37
<b>Tableau 16</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution d'actinomycètes isolé sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. ....	37
<b>Tableau 17</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Mann-Whitney sur la distribution d'actinomycètes isolés sur les milieux de culture (ISP2 et ISP4), (ISP2 et ISP5) et (ISP4 et ISP5).....	38

<b>Tableau 18</b> : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats des charges actinomycètes isolés à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	40
<b>Tableau 19</b> : Les rangs moyens des valeurs de résultats de dénombrement d'actinomycètes isolés à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	40
<b>Tableau 20</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution des résultats de dénombrement d'actinomycètes isolés sur 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	41
<b>Tableau 21</b> : Dénombrement de la flore bactérienne non filamenteuse à partir des échantillons du site Et Taref. ....	41
<b>Tableau 22</b> : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats de dénombrement des bactéries isolées à partir trois échantillons ET1, ET2 et ET3.	43
<b>Tableau 23</b> : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement de la flore bactérienne isolées à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3. ....	43
<b>Tableau 24</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution de la flore bactérienne isolée à partir des trois échantillons.....	44
<b>Tableau 25</b> : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats de dénombrement des bactéries isolées sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5.....	45
<b>Tableau 26</b> : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des bactéries isolées depuis les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.....	46
<b>Tableau 27</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution des bactéries isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. ....	46
<b>Tableau 28</b> : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats des charges bactériennes isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	47
<b>Tableau 29</b> : Les rangs moyens des valeurs de résultats de dénombrement de la flore bactérienne à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	48
<b>Tableau 30</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution de résultats de dénombrement de la flore bactérienne isolée à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	48
<b>Tableau 31</b> : Dénombrement des moisissures à partir des échantillons du site Et Taref. ....	49
<b>Tableau 32</b> : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats de dénombrement des moisissures isolées à partir des trois échantillons.....	50

<b>Tableau 33</b> : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des moisissures isolées à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3.....	51
<b>Tableau 34</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution de dénombrement des moisissures isolées à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3. ....	51
<b>Tableau 35</b> : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution des charges des moisissures isolées sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5. ....	53
<b>Tableau 36</b> : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des moisissures isolées sur les trois milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. ....	54
<b>Tableau 37</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution des moisissures isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. ....	54
<b>Tableau 38</b> : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Mann-Whitney de la distribution des moisissures isolées sur les milieux de culture (ISP2 et ISP4), (ISP2 et ISP5) et (ISP4 et ISP5).....	55
<b>Tableau 39</b> : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats les charges des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	56
<b>Tableau 40</b> : Les rangs moyens des valeurs de résultats de dénombrement des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	57
<b>Tableau 41</b> : Les rangs moyens des valeurs de résultats de dénombrement des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	57
<b>Tableau 42</b> : Le code des souches actinomycètes isolées à partir des trois échantillons sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	58
<b>Tableau 43</b> : La croissance des actinomycètes sur les milieux de cultures ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	59
<b>Tableau 44</b> : Sporulation des actinomycètes sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	62
<b>Tableau 45</b> : L'aptitude à la production des pigments à partir les milieux de culture ISP2, ISP4, et ISP5 additionnés de 5%, 7,5 et 10% d'NaCl.....	66
<b>Tableau 46</b> : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycète vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	72

<b>Tableau 47</b> : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycète vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	73
<b>Tableau 48</b> : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycète vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. ....	76
<b>Tableau 49</b> : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycète vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.....	77

## Résumé

Trois échantillons de sols ont été prélevés du site Et-Taref. Les analyses physicochimiques réalisées nous ont permis de conclure que les trois échantillons de sol sont de pH basique, extrêmement salins, ayant un taux d'humidité modéré et un taux de matière organique très élevé. L'ensemble de ces résultats nous a permis de classer le sol du site Et-Taref comme écosystème extrême. Un protocole d'isolement d'actinomycètes basé sur 18 conditions a été appliqué sur ces échantillons. Suite à ce protocole, trois flores microbiennes ont été isolées ; il s'agit d'une flore actinomycète en plus d'une flore bactérienne non filamenteuse et d'une flore fongique. Afin d'étudier l'effet des facteurs échantillons, milieu de culture, et concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des flores actinomycètes, bactériennes non filamenteuses et fongiques, une étude statistique par logiciel SPSS version 23 a été menée. Les résultats des tests de normalité (Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov) nous ont conduits vers les tests non-paramétriques Kruskal Wallis et/ou Mann-Whitney. Le milieu de culture est le seul facteur qui a manifesté un effet significatif sur le nombre des flores actinomycètes et fongiques isolées. Le test d'activité réalisé par la technique des cylindres d'agar a permis de mettre en évidence des zones d'inhibition pour les isolats S7, S8 et S161 contre la souche multirésistante *Staphylococcus aureus*.

**Mots clés** : actinomycètes, écosystème extrême, bactéries multirésistantes, activité antibactérienne.

## **Abstract**

Three soil samples were collected from the Et-Taref site. Based on the physicochemical analyses, we concluded that the three soil samples have a basic pH, highly saline, moderate humidity, and very high organic matter. All these results allowed us to classify the soil of the Et-Taref site as an extreme ecosystem. An actinomycete isolation protocol based on 18 conditions was applied to these samples. Following this protocol, three microbial flora were isolated : it is an actinomycete flora in addition to a non-filamentous bacterial flora and a fungal flora. To study the effect of sample factors, culture medium, and NaCl concentration on counts of actinomycete, non-filamentous bacterial, and fungal flora, a statistical study using SPSS version 23 software was conducted. The results of the normality tests (Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov) led us to the non-parametric tests Kruskal-Wallis and/or Mann-Whitney. The culture medium was the only factor that had a significant effect on the number of isolated actinomycetes and fungal flora. The activity test carried out by the agar cylinder technique revealed inhibition zones for isolates S7, S8, and S161 against the multiresistant strain *Staphylococcus aureus*.

**Keywords** : actinomycetes, extreme ecosystem, multiresistant bacteria, antibacterial activity.

## الملخص

تم جمع ثلاث عينات من التربة من موقع الطارف. بناءً على التحليلات الفيزيائية والكيميائية، توصلنا إلى أن عينات التربة الثلاث من درجة حموضة قاعدية، شديدة الملوحة، مع رطوبة معتدلة ومواد عضوية عالية جدًا. كل هذه النتائج سمحت لنا بتصنيف تربة موقع الطارف على أنها نظام بيئي متطرف. تم تطبيق بروتوكول عزل الأكتينومييسيت بناءً على 18 شرطاً على هذه العينات. اتبعا لهذا البروتوكول، تم عزل ثلاث نباتات بكتيرية؛ وهي نباتات الأكتينومييسيت بالإضافة إلى نباتات بكتيرية غير خيطية ونباتات فطرية. من أجل دراسة تأثير عوامل العينة، وسط الزراعة، وتركيز NaCl على تعداد نباتات الأكتينومييسيت والبكتيريا غير الخيطية والفطريات، تم إجراء دراسة إحصائية باستخدام برنامج SPSS الإصدار 23. قادتنا نتائج اختبارات الخضوع لقانون طبيعي (شابيرو ويلك وكولموغوروف سميرنوف) إلى الاختبارات غير المحورية كروسكال واليس و/أو مان ويتني. الوسط الزراعي هو العامل الوحيد الذي كان له تأثير كبير على عدد الأكتينومييسيت المعزول والنباتات الفطرية. كشف اختبار النشاط من خلال تقنية أسطوانة الأغار عن مناطق تثبيط للعزلات S7 و S8 و S161 ضد السلالة متعددة المقاومة *Staphylococcus aureus*.

**الكلمات المفتاحية :** الأكتينومييسيت، النظام البيئي المتطرف، البكتيريا متعددة المقاومة، النشاط المضاد للبكتيريا.

**Remerciements**

**Dédicace**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Résumé**

## **Table des matières**

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Revue bibliographique</b>	
<b>I. Le sol.....</b>	<b>3</b>
1. Définition.....	3
2. La classification du sol .....	3
2.1. La classification en fonction du pH.....	3
2.1.1. Les sols acides .....	3
2.1.2. Les sols alcalins .....	3
2.2. La classification en fonction de la salinité .....	3
2.3. La classification en fonction de la texture minérale du sol .....	4
<b>II. Les actinomycètes .....</b>	<b>5</b>
1. Définition.....	5
2. Ecologie et distribution dans la nature .....	5
3. Principaux caractères des actinomycètes.....	6
3.1. Morphologie .....	6
3.2. Physiologie de développement .....	6
3.2.1. Oxygène.....	6
3.2.2. pH.....	7
3.2.3. Température.....	7
3.2.4. Activité de l'eau .....	7

3.2.5. Tolérance au NaCl.....	8
4. Caractères cultureux .....	8
5. Développement des actinomycètes.....	8
5.1. Formation de mycélium de substrat et aérien.....	8
5.2. Formation des spores.....	9
5.2.1. Les endospores .....	9
5.2.2. Les exospores .....	9
6. Importance des actinomycètes.....	10
6.1. Dans le domaine pharmaceutique.....	10
6.2. Agriculture.....	10
7. Facteur influençant la croissance des actinomycètes dans le sol salin.....	11
7.1. NaCl.....	11
7.2. pH.....	11
7.3. Humidité.....	11
8. Taxonomie et classification .....	11
<b>III. Métabolite secondaire produit par les actinomycètes .....</b>	<b>12</b>
1. Enzymes .....	12
2. Antifongiques .....	12
3. Antibiotiques .....	13
3.1 Définition.....	13
3.2 Historique .....	13
3.3 Notions générales .....	13
3.3.1 Propriétés.....	13
3.3.1.1 Activité bactériostatique ou bactéricide .....	13
3.3.1.2 Spectre d'activité.....	14
3.3.2 Résistance bactérienne aux antibiotiques .....	14

3.3.2.1	Résistance naturelle .....	15
3.3.2.2	Résistance acquise .....	15
3.3.2.3	Mutations chromosomiques.....	15
3.3.2.4	Transfert des gènes .....	15
3.3.3	Mécanisme d'action de l'antibiotique .....	16
3.3.3.1	Réplication de l'ADN .....	16
3.3.3.2	Synthèse d'ARN.....	16
3.3.3.3	Synthèse de la paroi cellulaire .....	16
3.3.3.4	Synthèse des protéines.....	17
3.3.3.5	Membrane cytoplasmique .....	17
3.4	Production des antibiotiques.....	17
3.4.1	Antibiotiques produits par les actinomycètes.....	17
3.5	Origine des antibiotiques .....	19
3.6	Classification des antibiotiques .....	19
3.6.1	Classification des antibiotiques en fonction de leur spectre d'activité.....	19
3.6.2	Classification en fonction du mode d'action .....	20
3.6.3	Classification des antibiotiques .....	20
3.6.3.1	B-lactamines .....	20
3.6.3.2	Aminosides .....	21
3.6.3.3	Macrolides.....	21
3.6.3.4	Tétracyclines.....	21
3.6.3.5	Quinolones.....	21
3.6.3.6	Glycopeptides .....	22
<b>IV.</b>	<b>Les molécules antibactériennes des actinomycètes à partir des différents écosystèmes.....</b>	<b>22</b>
1.	Actinomycètes isolés à partir des eaux et sédiments marins.....	22

2. Actinomycètes isolés à partir des eaux et des lacs salés.....	22
3. Actinomycètes isolés à partir des eaux douces.....	23
4. Actinomycètes isolés à partir des sols .....	23

## **Matériel et méthodes**

1. Le site de prélèvement.....	24
2. Le prélèvement .....	24
3. Les analyses physicochimiques des échantillons de sol.....	25
3.1 La mesure du pH .....	25
3.2 La mesure de la conductivité électrique (CE 1/5 <sup>ème</sup> ).....	25
3.3 La mesure du pourcentage d'humidité .....	26
3.4 La mesure du pourcentage de la matière organique .....	26
4. Isolement .....	26
4.1 Milieux d'isolement.....	26
4.2 Dilution et ensemencement .....	26
5. Dénombrement .....	27
6. Purification .....	27
7. L'étude statistique .....	27
8. Test d'halophilie et d'halotolérance .....	28
9. L'étude des caractères cultureux .....	28
10. La recherche de l'activité antibactérienne .....	28
10.1 La préparation des souches-test.....	28
10.2 La préparation des isolats actinomycètes .....	29
10.3 Le test d'activité antimicrobienne : méthode des cylindres d'agar .....	29

## **Résultats et discussion**

1. Les résultats des différentes analyses physico-chimiques.....	30
1.1 Le pH des échantillons du sol.....	30

1.2 La conductivité des échantillons du sol.....	30
1.3 Les pourcentages d'humidité et du carbone organique .....	31
2. Le dénombrement des actinomycètes.....	32
2.1 Effet de l'échantillon sol sur les résultats de dénombrement des actinomycètes.....	32
2.1.1 Analyse statistique sur l'effet de l'échantillon du sol .....	33
a. Test de normalité .....	33
b. Test de Kruskal-Wallis .....	34
2.2 Effet de milieu de culture sur les résultats de dénombrement des actinomycètes.....	35
2.2.1 Analyse statistique sur l'effet du milieu de culture .....	36
a. Tests de normalité.....	36
b. Test de Kruskal-Wallis .....	36
c. Test de Mann-Whitney .....	37
2.3 L'effet de concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des actinomycètes ....	39
2.3.1 Analyse statistique sur l'effet de la concentration d'NaCl.....	39
a. Tests de normalité.....	39
b. Test de Kruskal-Wallis .....	40
3. Le dénombrement des bactéries non- filamenteuses .....	41
3.1 L'effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des bactéries .....	41
3.1.1 Analyse statistique sur l'effet de l'échantillon du sol .....	42
a. Tests de normalité.....	42
b. Test de Kruskal-Wallis .....	43
3.2 Effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement des bactéries .....	44
3.2.1 Analyse statistique sur l'effet du milieu de culture .....	45
a. Tests de normalité.....	45
b. Le test de Kruskal-Wallis .....	45
3.3 Effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des bactéries .....	46

3.3.1 Analyse statistique sur l'effet de la concentration d'NaCl.....	47
a. Tests de normalité.....	47
b. Test de Kruskal-Wallis .....	48
4. Le dénombrement des moisissures .....	49
4.1 Effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des moisissures.....	49
4.1.1 Analyse statistique sur l'effet de l'échantillon du sol .....	50
a. Tests de normalité.....	50
b. Le test de Kruskal-Wallis .....	51
4.2 Effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement des moisissures.....	52
4.2.1 Analyse statistique sur l'effet du milieu de culture .....	53
a. Tests de normalité.....	53
b. Le test de Kruskal-Wallis .....	53
c. Test de Mann-Whitney .....	54
4.3 Effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des moisissures.....	55
4.3.1 Analyse statistique sur l'effet de la concentration d'NaCl.....	56
a. Tests de normalité.....	56
b. Test de Kruskal-Wallis .....	57
5. La purification et la conservation .....	58
6. Test d'halophilie et d'halotolérance des isolats actinomycètes.....	59
7. L'aptitude à la croissance .....	59
7.1 L'aptitude à la croissance sur les trois milieux de culture.....	60
7.2 L'aptitude à la croissance sur les différentes concentrations d'NaCl.....	61
8. L'aptitude à la sporulation.....	62
8.1 L'aptitude à la sporulation sur les trois milieux de culture .....	63
8.2 L'aptitude à la sporulation sur les concentrations d'NaCl .....	64
9. L'aptitude à la production des pigments.....	65

9.1 L'aptitude à la pigmentation sur les trois milieux de culture .....	69
9.2 L'aptitude à la pigmentation sur les concentrations d'NaCl .....	71
10. Test d'activité antibactérienne.....	72
10.1 L'activité antibactérienne des isolats actinomycètes contre des bactéries-test (Wild-type ATCC).....	72
10.2 L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes contre des bactéries multirésistantes.....	76
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>80</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>83</b>

**Annexe**

# **INTRODUCTION**

La résistance aux antibiotiques et l'émergence de souches bactériennes multirésistantes constituent un problème clinique majeur qui représente une grave menace pour la santé publique à l'échelle mondiale. Face à la propagation mondiale d'agents pathogènes bactériens multirésistants, il est de plus en plus urgent de trouver de nouveaux antimicrobiens pour traiter les infections potentiellement mortelles. Cependant, le niveau actuel d'investissement dans le développement de ces nouveaux médicaments, en particulier dans les domaines des médicaments dérivés de produits naturels et des petites molécules synthétiques. De nouveaux agents présentant une chimie et des modes d'action innovants sont désespérément nécessaires dans le monde entier pour lutter contre la menace pour la santé publique posée par la résistance aux antimicrobiens (Scarafile, 2016 ; Miethke *et al.*, 2021).

Il a été démontré depuis longtemps que les micro-organismes sont des sources de produits naturels ayant des applications industrielles et médicales. Les micro-organismes du sol, en particulier, ont été largement étudiés pour leur capacité à produire divers composés tels que des enzymes et des métabolites secondaires biologiquement actifs (Daquioag et Penuliar, 2021).

Les actinomycètes sont un groupe de bactéries à forte teneur en guanine-cytosine dans leur ADN génomique et certaines d'entre elles sont filamenteuses avec de vrais mycéliums. Ils sont largement répandus dans différents habitats, y compris le sol (AbdElgawad *et al.*, 2020).

Les actinomycètes constituent l'un des groupes bactériens les plus importants du sol, reconnus comme une source d'enzymes et d'antimicrobiens commercialement importants. Ils sont connus pour être responsables de la production d'environ la moitié des métabolites secondaires biologiquement actifs découverts avec des activités antimicrobiennes (Daquioag et Penuliar, 2021).

Notre travail passe par les étapes suivantes :

- ✓ Prélèvement de trois échantillons de sol du site ET-Taref situé au niveau de la wilaya d'Oum El Bouaghi ;
- ✓ Analyse physicochimique des trois échantillons ;
- ✓ Isolement d'actinomycètes à partir de ces échantillons sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl et dont le pH a été ajusté à 8,0 ;

- ✓ Étude statistique ciblant à déterminer un éventuel effet des facteurs « échantillon », « milieu de culture » et « concentration d'NaCl » sur les flores microbiennes isolées ;
- ✓ Une caractérisation culturale des isolats en déterminant leur aptitude à la croissance, à la production de masse sporale et de pigments ;
- ✓ Et finalement, une étude de l'aptitude de certains isolats à produire des substances antibactériennes ciblant deux bactéries de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *E. coli* ATCC 25922, et deux autres bactéries d'origine clinique considérées comme multi-résistantes aux antibiotiques et identifiées également comme appartenant aux espèces *Staphylococcus aureus* et *E. coli*.

**REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. Le sol

### 1. Définition

Le sol, un fin revêtement de matériau qui s'étend sur une vaste portion de la surface terrestre, est d'une importance capitale pour la vie humaine. Bien que cette fragile couche terrestre ait généralement moins d'un mètre d'épaisseur, elle renferme une abondance de plantes, d'insectes et de microorganismes (Pepper et Gentry, 2015).

Partout dans le monde, nous trouvons différents types de sol avec différentes propriétés résultant de l'interaction des facteurs de formation du sol : matériau d'origine, climat, topographie, organismes et temps (Deyn et Kooistra, 2021).

### 2. La classification du sol

#### 2.1. La classification en fonction du pH

Le pH du sol est l'un des facteurs environnementaux les plus importants qui influencent la diversité, l'interaction, l'activité et la fonction de la communauté microbienne. L'effet sélectif du pH du sol sur les micro-organismes est dû à leurs différentes plages de pH optimums pour la croissance et l'activité (Zhang *et al.*, 2022).

##### 2.1.1. Les sols acides

L'acidification du sol est causée par un certain nombre de facteurs, notamment les précipitations acides et le dépôt de l'atmosphère de gaz ou de particules acidifiants, tels que le dioxyde de soufre et l'acide nitrique. Cependant, les causes les plus importantes de l'acidification des sols sur les terres agricoles sont l'application d'engrais à base d'ammonium et d'urée, de soufre élémentaire et la croissance de légumineuses (Goulding, 2016).

##### 2.1.2. Les sols alcalins

Un pH élevé et un pourcentage de sodium échangeable, une détérioration structurelle due à l'alcalinité et des carences en éléments nutritifs sont des caractéristiques typiques du sol salin-alcalin sodé. De plus, le phosphore est généralement le principal nutriment limitant. Ainsi, des efforts intenses ont été déployés pour contrer la salinité et améliorer la disponibilité du phosphore de ces sols (Li et Li, 2022).

#### 2.2. La classification en fonction de la salinité

La salinité du sol est une mesure des minéraux et des sels qui peuvent être dissous dans l'eau. Dans la plupart des cas, il s'agit de :  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{SO}_4^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{NO}_3^-$ .

L'augmentation de la salinité du sol a des effets progressifs et souvent profonds sur la structure, le mouvement de l'eau et la diversité microbienne et végétale des sols. La salinité du sol est mesurée en utilisant des mesures de conductivité électrique (CE) d'un extrait de pâte de sol saturé d'eau (Artiola *et al.*, 2019). Le classement de la salinité des sols est représenté dans le tableau 1.

**Tableau 1** : Classement de la salinité des sols (Artiola *et al.*, 2019).

Paramètre (dSm <sup>-1</sup> )	Non salin	Légèrement salin	Modérément salin	Salin
Conductivité électrique	<4	4–8	8–16	>16

dSm<sup>-1</sup> :decisiemens per meter.

### 2.3. La classification en fonction de la texture minérale du sol

La texture du sol est l'une des propriétés les plus fondamentales d'un sol. Qualitativement, le terme texture du sol décrit la "sensation" du matériau du sol, qu'il soit grossier et graveleux ou fin et lisse. Quantitativement, cependant, ce terme représente la distribution mesurée des tailles de particules et les proportions relatives des différentes gammes de tailles de particules dans un sol donné. La taille des particules de sol est divisée en quatre groupes : gravier, sable, limon et argile. Les noms des classes de texture du sol sont déterminés par les pourcentages massiques relatifs de particules de sable, de limon et d'argile dans le sol (Yolcubal *et al.*, 2004).

## II. Les actinomycètes

### 1. Définition

Le nom "Actinomycètes" est dérivé du grec "atkis" (une raie) et "mykes" (champignon). Les actinomycètes ont des caractéristiques à la fois de bactéries et de champignons. Cependant, ils sont maintenant largement considérés comme étant plus étroitement liés aux bactéries. La composition chimique de leur paroi cellulaire est similaire à celle des bactéries à Gram positif mais en raison de leurs caractéristiques morphologiques (hyphes) et culturelles bien développées, les actinomycètes ont été considérés comme un groupe bien séparé des autres bactéries communes (Das *et al.*, 2008).

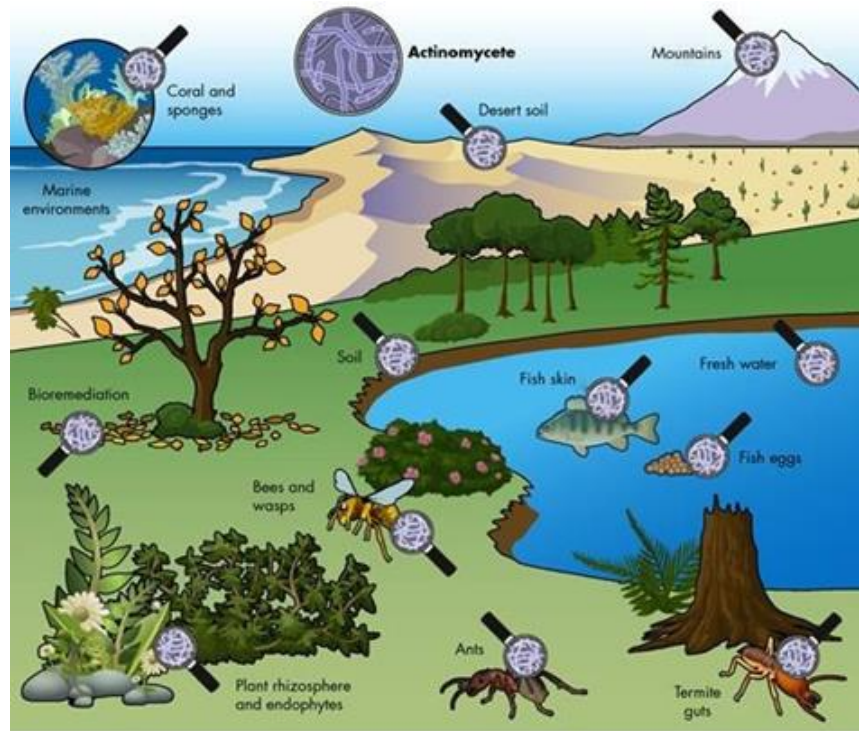
Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positives, généralement sporulées, appartenant à la classe des *Actinobacteria*. Ils sont taxonomiquement connus pour leur teneur élevée en guanine et cytosine (G+C%) de plus de 55 % et leur morphologie de colonie de type fongique (Daquioag et Penuliar, 2021).

### 2. Ecologie et distribution dans la nature

Les actinomycètes sont largement répandus dans la nature (figure 1). Ils peuvent être repérés pratiquement dans tous les substrats naturels ; l'eau, l'air, le sol, les denrées alimentaires, le fumier, les composts et les plantes colonisatrices (Malek *et al.*, 2014 ; Rahman *et al.*, 2011).

Les actinomycètes sont largement distribués dans les écosystèmes terrestres et aquatiques et comprennent d'importants agents pathogènes aux végétaux et aux animaux (Goodfellow et Williams, 1983).

Les actinomycètes peuvent se développer sur les matériaux de construction dans des endroits humides et chauds et répandre leurs spores dans l'air intérieur (Gazenko *et al.*, 1998 ; Reponen *et al.*, 1998).



**Figure 1** : Ecologie des actinomycètes (Van der Meij *et al.*, 2017).

### 3. Principaux caractères des actinomycètes

#### 3.1. Morphologie

Les actinomycètes sont des bactéries capables de former des spores, appartenant à l'ordre des *Actinomycetales* caractérisés par une croissance du mycélium du substrat et du mycélium aérien. Ce sont les organismes filamenteux les plus abondants dans le sol et sont responsables de l'odeur typiquement "terreuse" d'un sol sain fraîchement retourné. Les actinomycètes étaient appelés historiquement les champignons à rayons et on pensait qu'ils étaient apparentés aux vrais champignons car ils formaient des tapis (mycélium) de filaments ramifiés (hyphes). Cependant, contrairement aux vrais champignons, les actinomycètes ont des hyphes minces (0,5 à 1,5 mm de diamètre) avec du matériel génétique enroulé à l'intérieur sous forme d'ADN libre (Bhatti *et al.*, 2017).

#### 3.2. Physiologie de développement

##### 3.2.1. Oxygène

De même qu'il existe de véritables bactéries strictement anaérobies, il existe des actinomycètes strictement anaérobies appartenant aux genres *Actinomyces* et *Micromonospora* (Lechevalier et Lechevalier, 1967).

La plupart des actinomycètes du sol sont des aérobies stricts. Les actinomycètes du sol ont montré une sensibilité accrue aux concentrations élevées de CO<sub>2</sub> et aux concentrations faibles d'O<sub>2</sub> (Goodfellow et Williams, 1983).

### **3.2.2. pH**

La plupart des actinomycètes du sol se comportent comme des neutrophiles se multipliant entre pH 5,0 et 9,0 avec un optimum proche de la neutralité. En revanche, les actinomycètes acidophiles, qui partagent des propriétés chimiotaxonomiques et morphologiques clés avec les streptomycètes neutrophiles, se développent dans la plage d'environ 3,5 à 6,5, avec des taux optimaux à pH 4,5 à 5,5. De même, certains streptomycètes thermophiles, qui forment une sous-clade d'ADNr 16S distincte qui englobe les espèces validement décrites *Streptomyces thermoalcalitolerans* et *Streptomyces thermovulgaris*, se développent dans la plage de pH de 6,0 à 11,5 (Kim *et al.*, 2003).

### **3.2.3. Température**

Les actinobactéries sont majoritairement mésophiles, avec une croissance optimale à des températures comprises entre 25 et 30°C. Cependant, les actinobactéries thermophiles peuvent se développer à des températures allant de 50 à 60°C (Barka *et al.*, 2015). Les psychrophiles se développent à des températures allant de 0 à 20°C, montrant une croissance optimale à une température inférieure à 10°C. Certaines actinobactéries psychrophiles isolées appartiennent aux genres *Arthrobacteria*, *Glaciibacter*, *Brachybacterium*, *Cryobacterium*, *Kocuria*, *Frigoribacterium* et *Modestoacter* (Hazarika et Thakur, 2020).

### **3.2.4. Activité de l'eau**

À une aw 0,86, des microcolonies se sont formées dans la plupart des cultures d'actinomycètes. Dans certains cas, le mycélium aérien a été observé. Alors qu'à une aw 0,98, toutes les cultures étudiées formaient des colonies normales et produisaient des spores. En plus, le taux de colonisation était de trois ordres de grandeur plus élevé qu'à des niveaux d'humidité plus faibles. Aussi, les spores d'actinomycètes peuvent germer à aw 0,50, alors que aw 0,98 est l'humidité optimale pour le développement de tous les actinomycètes. Ce n'est qu'à aw 0,98 que tous les actinomycètes ont terminé leur cycle de développement, y compris la formation de spores (Zvyagintsev *et al.*, 2005).

### 3.2.5. Tolérance au NaCl

Les microorganismes halophiles sont classés en halophiles extrêmes (se développent mieux dans des milieux contenant 2,5 à 5,2 M de sel), halophiles extrêmes (qui se développent préférentiellement dans des milieux contenant 1,5 à 4,0 M de sel) et halophiles modérés (qui se développent préférentiellement dans des milieux contenant 0,5 à 2,5 M de sel). Alors que les halotolérants sont ceux qui ne présentent pas un besoin absolu de sel pour leur croissance mais poussent bien jusqu'à des concentrations de sel souvent très élevées et tolèrent au moins 100 g/l de sel (équivalent à 1,7 M NaCl) (Hamedi *et al.*, 2013).

## 4. Caractères cultureux

Les colonies formées par les actinomycètes dans les cultures de surface peuvent être grossièrement attribuées à l'un des trois types suivants :

- ✓ Le premier type est constitué de colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées du milieu solide. Ceux-ci sont rarement recouverts de mycélium aérien et sont généralement formés par des actinomycètes à phase mycélienne transitoire.
- ✓ Le deuxième type comprend des colonies comme celles de *Sporichthya*, qui sont presque dépourvues de mycélium de substrat et comprennent des hyphes aériens attachés au milieu par des crampons spéciaux.
- ✓ Le troisième type est constitué de colonies compactes portant généralement des hyphes aériennes et fermement attachées au milieu par les hyphes du mycélium de substrat. Ce type se trouvent généralement chez les actinomycètes qui ont un stade mycélien persistant (Kalakoutskii et Agre, 1976).

## 5. Développement des actinomycètes

### 5.1. Formation de mycélium de substrat et aérien

La croissance d'actinomycètes est caractérisée par la formation de fils et de bâtonnets normalement ramifiés, donnant fréquemment naissance à un mycélium typique, surtout pendant les premiers stades de croissance. Généralement non cloisonnés, les hyphes peuvent devenir cloisonnés dans des conditions particulières. Le mycélium peut être végétatif se développe dans le substrat, ou aérien se développant au-dessus de la croissance végétative (Mahajan et Balachandran, 2012).

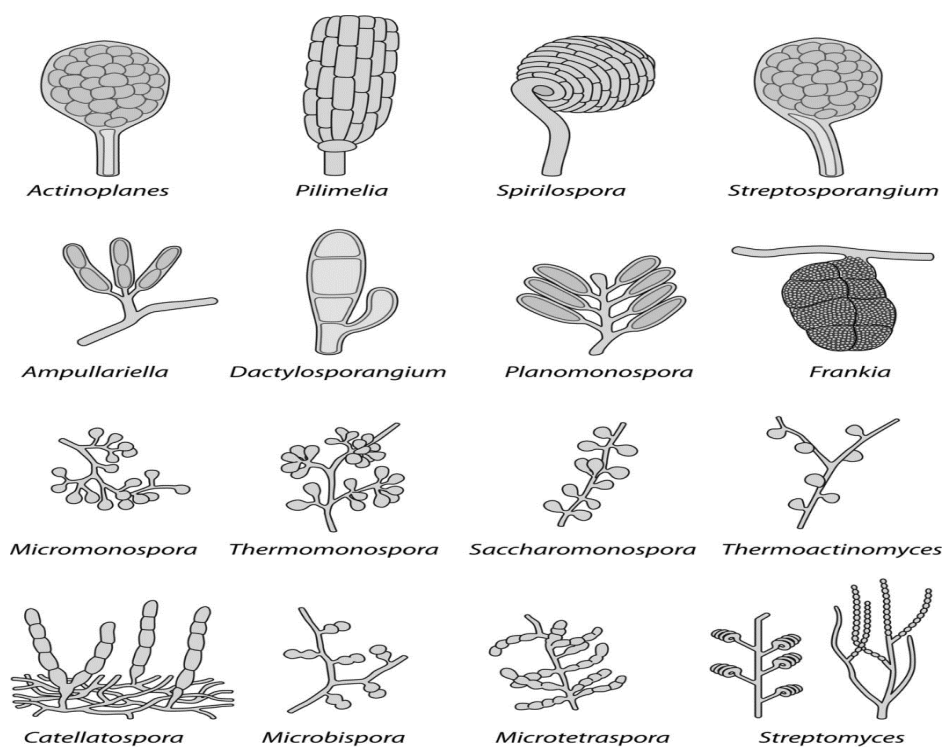
## **5.2. Formation des spores**

### **5.2.1. Les endospores**

Selon leur mode de formation, les spores formées par les actinomycètes peuvent être endogènes (endospores) ou exogènes (exospores). La formation d'endospores thermorésistantes à l'intérieur du cytoplasme des hyphes parents a été étudiée chez les actinomycètes thermophiles *Thermoactinomyces* et *Thermoflavimicrobium*. Structurellement, il suit essentiellement la même séquence décrite pour la formation de spores dans d'autres bactéries à Gram-positives. Certaines différences dans la régulation de la formation des spores existent probablement, à en juger par l'emplacement final des spores sur le mycélium. Chez *T. vulgaris*, les spores résident souvent dans les hyphes et sont partiellement expulsées au cours de la formation et de la maturation (Kalakoutskii et Agre, 1976).

### **5.2.2. Les exospores**

La sporulation chez les actinobactéries se produit par la formation d'exospores : de nouvelles cellules sont produites par division cellulaire, qui subissent ensuite une différenciation morphologique en spores matures. La forme de sporulation la mieux caractérisée au sein des actinobactéries est constituée par les longues chaînes d'exospores produites par les *Streptomyces* vivant dans le sol et l'océan. *Streptomyces* se développe végétativement par extension et ramification de la pointe. Des hyphes aériens s'étendent vers le haut de la surface de la colonie et subissent une division cellulaire synchrone pour convertir les hyphes aériens multinucléées en dizaines de spores unigénomiques (Beskrovnaya *et al.*, 2021). La figure 2 représente des dessins schématiques des différents types de chaînes de spores produites par les actinomycètes.



**Figure 2** : Dessins schématiques des différents types de chaînes de spores produites par les actinomycètes (Barka *et al.*, 2015).

## 6. Importance des actinomycètes

### 6.1. Dans le domaine pharmaceutique

Les actinomycètes sont des bactéries du sol à Gram positif qui produisent des produits naturels pharmaceutiquement importants en tant que métabolites secondaires. Chaque souche contient plus de 30 groupes de gènes biosynthétiques putatifs pour les métabolites secondaires (kato *et al.*, 2022).

Les actinomycètes et les champignons sont utilisés dans une variété de métabolites comme ressource de composés bioactifs uniques dans le domaine médical et les industries. Les actinomycètes, avec leurs métabolismes distincts et leurs capacités enzymatiques et génomiques, peuvent être en mesure de fournir de nouveaux produits chimiques bioactifs antimicrobiens, ainsi que des fragments structuraux uniques que les chimistes peuvent modifier pour fabriquer d'autres composés précieux (Shahbaz *et al.*, 2023).

### 6.2. Agriculture

Les actinomycètes représentent une forte proportion de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une grande variété d'hydrolases extracellulaires qui leur confèrent un rôle important dans la décomposition de la matière organique du sol. En plus

de leur fonction active dans la décomposition, les actinomycètes semblent avoir une importance parmi la flore microbienne de la rhizosphère (Valois *et al.*, 1996).

## **7. Facteur influençant la croissance des actinomycètes dans le sol salin**

### **7.1. NaCl**

La domination des actinomycètes modérément halophiles, alcaliphiles et haloalcaliphiles, qui poussent bien sous 5% de NaCl et pH 8–9, est une caractéristique spécifique des complexes actinomycètes dans les sols salins. Des représentants des genres *Streptomyces* et *Micromonospora* ont été trouvés parmi les actinomycètes haloalcaliphiles. Les *Micromonospora* ont démontré une capacité d'adaptation plus faible que les *Streptomyces* aux fortes concentrations de sel (Zvyagintsev *et al.*, 2009).

### **7.2. pH**

Le pH est un facteur environnemental majeur déterminant la distribution et l'activité des actinomycètes du sol. Les neutrophiles sont moins nombreux dans les sols acides en dessous de pH 5,0, tandis que les streptomycètes acidophiles et acidoduriques sont nombreux dans les sols acides. (Dilip *et al.*, 2013). Le nombre de bactéries mycéliennes isolées des sols salins sur le milieu à pH 9,0 était supérieur à celui sur le neutre (pH 7,2) (Zenova *et al.*, 2011).

### **7.3. Humidité**

Les actinomycètes sont connus pour être plus résistants à l'assèchement du sol que les autres bactéries. Les exospores des streptomycètes restent viables après séchage complet. Les spores des sporanges des *Actinoplanes* peuvent être maintenues pendant de longues périodes dans des échantillons de sol et de feuilles séchés. Dans les régions arides, les actinomycètes représentent 25 % de toutes les bactéries du complexe des procaryotes du sol (Zviagintsev *et al.*, 2007).

## **8. Taxonomie et classification**

L'application généralisée de la taxonomie polyphasique a conduit à des changements radicaux dans la classification des procaryotes, y compris les actinomycètes, comme l'illustre la classification actuelle du phylum des actinobactéries, comme indiqué dans le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Nouioui *et al.*, 2018). Le tableau 2 présente la classification des actinomycètes.

**Tableau 2** : La classification des actinomycètes (Goodfellow, 2012).

<b>Domaine</b>	<i>Bacteria</i>
<b>Phylum</b>	<i>Actinobacteria</i>
<b>Classes</b>	<i>Actinobacteria, Acidimicrobiia, Coriobacteriia, Nitriliruptoria, Rubrobacteria, Thermoleophilia</i>
<b>Ordres</b>	<i>Actinomycetales, Streptomycetales, Actinopolysporales, Bifidobacteriales, Catenulisporales, Corynebacteriales, Frankiales, Glycomycetales, Jiangellales, Kineosporiales, Micrococcales, Micromonosporales, Propionibacteriales, Pseudonocardiales, Streptosporangiales</i>
<b>Familles</b>	<i>Actinomycetaceae, Streptomycetaceae</i>
<b>Genres</b>	<i>Actinomyces, Mobiluncus, Actinobaculum, Trueperella, Arcanobacterium, Varibaculum, streptomyces, kitasatospora, streptovercillium</i>

### III. Métabolite secondaire produit par les actinomycètes

#### 1. Enzymes

Les enzymes catalysent des réactions biochimiques dans les cellules. Elles peuvent être classées en plusieurs groupes en fonction des réactions biochimiques qu'elles effectuent. L'importance de la fonction enzymatique se reflète dans le fait que même les organismes les plus simples possèdent des centaines d'enzymes dans une cellule vivante catalysant des réactions clés qui sont essentielles à la vie (Mohan et Prasad, 2017).

#### 2. Antifongiques

Les substances antifongiques sont actuellement utilisées principalement dans trois domaines : la thérapeutique humaine et vétérinaire (agents antifongiques systémiques ou topiques), l'industrie alimentaire (conservateurs) et l'alimentation animale pour la prévention et le traitement des attaques fongiques sur les végétaux, les structures en bois ou d'autres matériaux. Ces substances antifongiques proviennent de deux sources : il s'agit soit de métabolites secondaires de divers microorganismes, soit de synthèse chimique. Les antifongiques d'origine microbiologique actuellement utilisés en clinique sont principalement de structure polyénique, en particulier l'amphotéricine B et la nystatine (Bastide *et al.*, 1986).

### **3. Antibiotiques**

#### **3.1 Définition**

Un antibiotique est une substance biologique qui peut être produite par des microorganismes ou synthétisée chimiquement, utilisée pour tuer les bactéries. Il peut également empêcher la croissance de certains types d'organismes. Le terme « antibiotique » est utilisé pour son action contre les bactéries (Kassah, 2020).

#### **3.2 Historique**

Les premiers antibiotiques aient été identifiés pour la première fois dans des laboratoires universitaires tels que ceux d'Alexander Fleming (pénicilline) et Selman Waksman (streptomycine) (Bush, 2004).

Les antibiotiques ont été découverts avant les sulfamides, mais pendant 12 ans, ils ont suscité peu d'intérêt. En 1928, Alexander Fleming, un bactériologiste écossais réservé, a laissé une culture de staphylocoques exposée dans son laboratoire du *St Mary's Hospital* de Londres pendant ses vacances. À son retour, Fleming a remarqué de la moisissure dans la boîte de Pétri, ainsi qu'un espace important entre les staphylocoques et la moisissure bleue, verte et tachetée ; il a constaté que quelque chose dans la moisissure attaquait les bactéries. Fleming a identifié la moisissure comme *Penicillium notatum*. Il a cultivé la moisissure dans un bouillon, l'a filtrée et a découvert dans le filtrat une substance étonnante qui détruisait les bactéries. Il a nommé cette découverte la pénicilline. Fleming n'a pas pu purifier lui-même la pénicilline, et il n'a pas reçu beaucoup d'aide de la part des autres. Un autre grand scientifique, Selman A. Waksman, a donné le nom "antibiotiques" aux produits chimiques produits par les micro-organismes du sol, y compris les champignons, et qui détruisent ou ralentissent la croissance d'autres microbes. Inspiré par le potentiel de la pénicilline, Waksman a continué à explorer et à développer les antibiotiques (Hoel et Williams, 1997).

#### **3.3 Notions générales**

##### **3.3.1 Propriétés**

###### **3.3.1.1 Activité bactériostatique ou bactéricide**

Les activités bactériostatiques (capacité du biomatériau à inhiber la croissance des bactéries) et bactéricides (capacité à tuer plus de 99,9 % des bactéries) (Kazimierczak *et al.*, 2022). Les antibiotiques ont été définis comme bactéricides et bactériostatiques selon une classification tirée d'un grand manuel de maladies infectieuses. La distinction entre les antibiotiques bactéricides et bactériostatiques est un concept efficace pour discriminer les

antibiotiques qui tuent les bactéries « bactéricides » des antibiotiques qui inhibent la croissance bactérienne, c'est-à-dire « bactériostatiques ». Le concept intuitivement compréhensible entre les deux groupes d'antibiotiques suggère que les médicaments bactéricides ont une action antibactérienne plus puissante et sont capables de tuer les bactéries. En revanche, les antibiotiques bactériostatiques sont supposés nécessiter des cellules phagocytaires pour éliminer définitivement les bactéries et sont donc considérés comme moins efficaces sans une réponse immunitaire efficace (Nemeth *et al.*, 2015). Le tableau 3 présente les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques.

**Tableau 3** : Les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques (Nemeth *et al.*, 2015).

<b>Bactéricide</b>	<b>Bactériostatique</b>
Aminoglycosides	Glycylcyclines
B-lactamines	Lincosamides
Fluoroquinolones	Macrolides
Glycopeptides	Oxazolidinones
Lipopeptides	Streptogramines
Nitroimidazoles et nitrofuranes	Sulfamides

### 3.3.1.2 Spectre d'activité

Le spectre antibactérien d'un antibiotique est conçu à caractériser l'activité microbiologique d'un antibiotique sur une espèce bactérienne en tenant compte des résistances naturelles et acquises. L'établissement de ce spectre est une étape essentielle des études préalables à la mise sur le marché d'un antibiotique. L'activité microbiologique d'un antibiotique sur une espèce bactérienne est évaluée principalement par la mesure in vitro de sa concentration minimale inhibitrice (CMI). La distribution des CMI dans un panel représentatif des souches sauvages d'une espèce bactérienne permet d'évaluer l'activité de base d'un antibiotique sur cette espèce. Cette activité dépend de la présence ou de l'absence de mécanismes naturels de résistance et de leur niveau d'expression. Cette résistance naturelle, présente dans toutes les souches d'une espèce bactérienne donnée peut s'ajouter de résistances acquises dont le dépistage est la principale justification de l'antibiogramme (Cavallo et Mérens, 2008).

### 3.3.2 Résistance bactérienne aux antibiotiques

Une souche microbienne ou une bactérie sont dites résistantes lorsqu'elles supportent une concentration d'antibiotique remarquablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la plupart des autres souches de la même espèce ou des individus de la même culture (Guillot, 1989). Il existe deux origines fondamentales de résistance bactérienne aux antibiotiques, naturelle et acquise (Bouyahya *et al.*, 2018).

### 3.3.2.1 Résistance naturelle

C'est une résistance intrinsèque, courante dans la population, principalement due à la présence de gènes spécifiques. Elle se caractérise par des modifications structurales, dans le cas de la membrane externe des bactéries à Gram négative, et métabolique, dans le cas du bacille de la tuberculose résistante à un grand nombre d'antibiotiques en s'opposant à l'action des antibiotiques par le biais de son métabolisme original. Les gènes de résistance sont exprimés soit d'une manière constitutive ou bien induite (Bouyahya *et al.*, 2018).

### 3.3.2.2 Résistance acquise

Elle est due à des changements du profil d'expression du gène par le biais de mutations ponctuelles ou acquises. Grâce à ce processus, les bactéries partagent des informations génétiques les unes avec les autres, ce qui leur donne une grande capacité d'adaptation aux milieux environnementaux dans lesquels elles vivent (Bouyahya *et al.*, 2018).

### 3.3.2.3 Mutations chromosomiques

Elles peuvent se produire spontanément lorsque l'ADN est dupliqué (en l'absence d'un véritable système de réparation). Cette marque génétique est à l'origine de protéines biochimiquement modifiées (Bouyahya *et al.*, 2018).

La résistance est habituellement due à une mutation de l'ADN qui affecte en particulier le mécanisme d'action d'un antibiotique ou d'une famille d'antibiotiques (Guillot, 1990).

### 3.3.2.4 Transfert des gènes

Les espèces microbiennes partagent des éléments génétiques les unes aux autres de façon perpétuelle. Cet échange est désigné sous le terme de transfert horizontal de matériel génétique. Ce transfert est généralement réalisé grâce à trois phénomènes essentiels :

- ✓ Transduction : transfert des gènes par bactériophage.
- ✓ Transformation : intégration par une bactérie de fragments d'ADN libérés par d'autres bactéries.
- ✓ Conjugaison : transfert des fragments par plasmides conjugatifs.

Le transfert horizontal de gènes a entraîné une résistance à différentes classes d'antibiotiques tels que les aminoglycosides, les céphalosporines et les fluoroquinolones (Bouyahya *et al.*, 2018).

### **3.3.3 Mécanisme d'action de l'antibiotique**

Les antibiotiques sont classés en fonction de leur interaction avec les fonctions cellulaires essentielles, ce qui constitue le principe fondamental pour inhiber la croissance bactérienne. Ils agissent sur diverses cibles cellulaires, notamment : la réplication de l'ADN, la synthèse de l'ARN, la synthèse de la paroi cellulaire et la synthèse des protéines. Un processus complexe qui commence par l'interaction physique de la molécule et ses cibles spécifiques et implique des changements biochimiques, moléculaires et structurels (Procópio *et al.*, 2012).

#### **3.3.3.1 Réplication de l'ADN**

La mort cellulaire provoquée par les antibiotiques est associée à la formation de ruptures d'ADN double brin après un traitement avec des inhibiteurs de l'ADN gyrase. Le traitement par les quinolones génère des ruptures d'ADN double brin qui sont piégées par des topoisomérases liées de manière covalente, ce qui compromet leurs fonctions (mais de manière réversible). Lorsqu'un complexe quinolone-topoisomérase-ADN se forme, la machinerie de réplication de l'ADN est arrêtée au niveau des fourches de réplication, ce qui entraîne une inhibition de la synthèse de l'ADN (Kohanski *et al.*, 2010).

#### **3.3.3.2 Synthèse d'ARN**

L'ARN polymérase ADN-dépendante joue un rôle essentiel dans la régulation de l'expression des gènes des organismes procaryotes en facilitant le processus de transcription. Cette enzyme, constituée de plusieurs sous-unités, est non seulement indispensable, mais présente également d'autres caractéristiques qui en font une cible attrayante pour le développement d'inhibiteurs antibactériens (Chopra *et al.*, 2002).

#### **3.3.3.3 Synthèse de la paroi cellulaire**

La paroi cellulaire bactérienne est constituée de peptidoglycane, qui aide à maintenir la pression osmotique, conférant la capacité de survivre dans divers environnements. La biosynthèse du peptidoglycane comporte trois étapes : la première étape se produit dans le cytoplasme, où des précurseurs de faible poids moléculaire sont synthétisés. Dans la deuxième étape, la synthèse de la paroi cellulaire est catalysée par des enzymes liées à la membrane. Dans la troisième étape, l'antibiotique agit en empêchant la polymérisation des glycanes nécessaires à la synthèse de la paroi cellulaire. Plus spécifiquement, les antibiotiques bêta-lactamines se lient aux transpeptidases, empêchant leur activité normale

et perturbant ainsi la formation adéquate de la paroi cellulaire bactérienne (Procópio *et al.*, 2012).

### 3.3.3.4 Synthèse des protéines

Les médicaments inhibant la synthèse des protéines appartiennent à deux classes principales : les inhibiteurs de la sous-unité 50S et les inhibiteurs de la sous-unité 30S. Les inhibiteurs de la sous-unité 50S agissent en bloquant physiquement soit l'initiation de la traduction des protéines, soit la translocation des peptidyl-ARNt. Les inhibiteurs de la sous-unité 30S incluent des familles d'antibiotiques tels que les tétracyclines et les aminocyclitols (spectinomycine). Les tétracyclines agissent en bloquant l'accès des aminoacyl-ARNt au ribosome. La spectinomycine, quant à elle, perturbe la stabilité de la liaison du peptidyl-ARNt au ribosome en inhibant la translocation catalysée par le facteur d'élongation, mais n'entraîne pas d'erreur de traduction des protéines (Kohanski *et al.*, 2010).

### 3.3.3.5 Membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique agit comme une barrière de diffusion à l'eau, aux ions et aux nutriments. Les systèmes de transport sont composés principalement de lipides, de protéines et de lipoprotéines. La daptomycine s'insère dans la membrane cytoplasmique des bactéries de manière dépendante du calcium, formant des canaux ioniques, déclenchant la libération du potassium intracellulaire. Plusieurs antibiotiques peuvent provoquer une rupture de la membrane. Ces agents peuvent être divisés en agents cationiques, anioniques et neutres (Procópio *et al.*, 2012). La figure 3 présente les cibles d'action des antibiotiques.

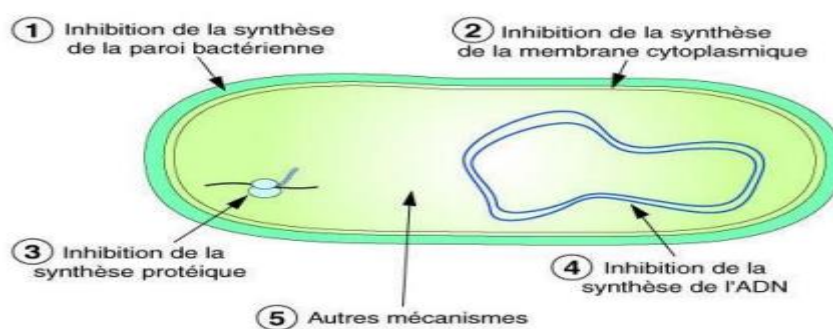


Figure 3 : Cibles d'action des antibiotiques (Kassah, 2020).

## 3.4 Production des antibiotiques

### 3.4.1 Antibiotiques produits par les actinomycètes

Les actinomycètes ont été l'une des sources les plus prolifiques de nouveaux antibiotiques, y compris les classes de médicaments antimicrobiens les plus importantes

telles que les b-lactamines, les tétracyclines, les rifamycines, les aminoglycosides, les macrolides et les glycopeptides (Genilloud, 2017).

Parmi les actinomycètes, le groupe des streptomycètes est considéré comme économiquement important car sur environ plus de 10 000 antibiotiques connus, 50 à 55 % sont produits par ce genre (Subramani et Aalbersberg, 2012).

Les espèces appartiennent au genre *Streptomyces* constituent 50% de la population totale d'actinomycètes du sol et sont bien connues pour produire une variété de métabolites secondaires bioactifs, notamment des antibiotiques, des immunomodulateurs, des médicaments anticancéreux, des médicaments antiviraux, des herbicides et des insecticides (Rahman *et al.*, 2011).

Plusieurs antibiotiques sont produits par les actinomycètes à savoir dans le tableau 4.

**Tableau 4** : Exemples d'antibiotiques produits par les actinomycètes.

Antibiotiques	Espèces productrice	Référence
Les rifamycines	<i>Amycolatopsis mediterranei</i>	(Tiwari et Gupta, 2012)
L'érythromycine	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	
La teicoplanine	<i>Actinoplanes teichomyceticus</i>	
La vancomycine	<i>Amycolatopsis orientalis</i>	
La gentamicine	<i>Micromonospora purpurea</i>	
L'actinorhizien (Act), l'undécylprodigiosine (Red), calcium (Cda) et le méthylénomycine codée par plasmide (Mmy)	<i>Streptomyces coelicolor</i>	(Zhu <i>et al.</i> , 2014)
La streptothricine	<i>Streptomyces roseolilacinus</i>	(Terekhova <i>et al.</i> , 1991)
La streptomycine	<i>Streptomyces griseus</i>	(Ohnishi <i>et al.</i> , 2008)
Le chloramphénicol	<i>Streptomyces venezuelae</i>	(Płachetka <i>et al.</i> , 2021)
Les tétracyclines	<i>Streptomyces viridifaciens</i>	(Girard <i>et al.</i> , 2014)
Les érythromycines	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	(Lü <i>et al.</i> , 2020)
La néomycine	<i>Micromonospora chalcea</i> et <i>Streptomyces fradiae</i>	(Salauze <i>et al.</i> , 1991)
La novobiocine	<i>Streptomyces niveus</i>	(Mitchell <i>et al.</i> , 1990)
L'oléandomycine	<i>Streptomyces antibioticus</i>	(Zhuravleva <i>et al.</i> , 1982)
La nystatine	<i>Streptomyces noursei</i>	(Jonsbu <i>et al.</i> , 2001)
La daptomycine	<i>Streptomyces roseosporus</i>	(Chu <i>et al.</i> , 2022)

### 3.5 Origine des antibiotiques

Les antibiotiques étaient à l'origine plutôt d'origine naturelle (pénicilline, macrolides, synergistines, aminoglycosides, tétracyclines), c'est-à-dire produits par des bactéries ou des champignons, la plupart sont désormais semi-synthétiques ou synthétiques. Quoi qu'il en soit, même les antibiotiques naturels ne sont normalement destinés qu'à des effets très locaux et ne sont pas indemnes de toxicité. Il est donc intéressant de savoir si l'on peut trouver des antibiotiques dans l'environnement, sachant que 100 000 tonnes d'antibiotiques sont utilisées chaque année à l'échelle mondiale (Misery, 2019).

### 3.6 Classification des antibiotiques

#### 3.6.1 Classification des antibiotiques en fonction de leur spectre d'activité

Les antibiotiques sont classés en fonction de leur spectre d'action notamment en : antibiotiques à spectre étroit et antibiotiques à large spectre (Lipsett *et al.*, 2021).

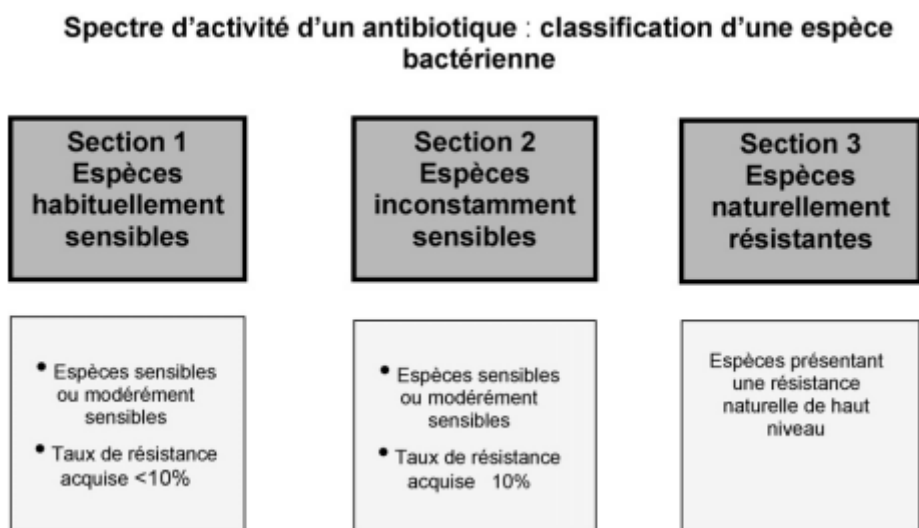
Les antibiotiques à large spectre ont été utilisés pour lutter contre un large éventail d'infections bactériennes (amoxicilline/acide clavulanique, céphalosporines). Parmi les antibiotiques à spectre étroit, on compte : l'azithromycine, la doxycycline, le sulfaméthoxazole/triméthoprim ou l'aminopénicilline (Hajiahmadi *et al.*, 2019 ; Joyner *et al.*, 2022).

La sensibilité et la résistance chez les espèces bactériennes à un antibiotique, représenté dans la figure 4, est réparti en trois sections :

➤ Les « espèces habituellement sensibles » comprennent les espèces naturellement sensibles et les espèces modérément sensibles qui ont moins de 10 % de résistance acquise. Les espèces modérément sensibles (ou naturellement intermédiaires), du fait de l'expression à bas niveau d'un mécanisme de résistance naturel, sont désignées par un sigle spécifique permettant de les identifier au sein du groupe ;

➤ Les « espèces inconstamment sensibles » comprennent les espèces dont la résistance acquise peut être un problème thérapeutique. Elle regroupe toutes les espèces sensibles ou modérément sensibles dont le taux de résistance acquis est supérieur ou égal à 10 % ;

➤ Les « espèces naturellement résistantes » comprennent les espèces ayant des CMI de souches sauvages supérieures à la concentration critique élevée (Cavallo et Mérens, 2008).



**Figure 4** : Principes de la classification des espèces au sein du spectre d'activité antibactérienne d'un antibiotique (Cavallo et Mérens, 2008).

### 3.6.2 Classification en fonction du mode d'action

La famille des aminoglycosides, à l'exception de la spectinomycine, est la seule classe d'inhibiteurs de ribosomes connus pour provoquer une mauvaise traduction des protéines. En ce qui concerne les autres classes d'antibiotiques bactéricides, les quinolones ciblent la réplication et la réparation de l'ADN en liant l'ADN gyrase complexée à l'ADN, ce qui entraîne la formation de cassures d'ADN double brin et la mort cellulaire. Les inhibiteurs de la synthèse de la paroi cellulaire, tels que les bêta-lactames qui se lient sur des protéines cibles de la membrane cytoplasmique appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP). En effet, les PLP possèdent des activités enzymatiques vitales (exemple : transpeptidases) nécessaire à la synthèse du peptidoglycane. La liaison des bêta-lactames à ces PLP perturbe la synthèse de la paroi cellulaire et entraîne la lyse et la mort cellulaire. Un autre type d'inhibiteur, la rifamycine, agit en tant qu'inhibiteur de l'ARN polymérase (Kohanski, 2007).

### 3.6.3 Classification des antibiotiques

Les principales familles des antibiotiques sont : Les b-lactamines, les aminosides, les macrolides, les tétracyclines, les quinolones et les glycopeptides.

#### 3.6.3.1 B-lactamines

Les b-lactamines sont la classe d'antibiotiques la plus largement utilisée. Depuis la découverte de la benzylpénicilline dans les années 1920, des milliers de nouveaux dérivés de la pénicilline. Des bêta-lactamines similaires, notamment les céphalosporines, les céphamycines, les monobactames et les carbapénèmes, ont été identifiés, totalisant ainsi un nombre considérable de découvertes. Chaque nouvelle classe de b-lactamines a été

développée soit pour augmenter le spectre d'activité afin d'inclure des espèces bactériennes supplémentaires, soit pour traiter des mécanismes de résistance spécifiques apparus dans la population bactérienne ciblée. La résistance aux b-lactames est principalement due aux enzymes b-lactamases produites par des bactéries qui hydrolysent le cycle b-lactame, inactivant ainsi le médicament (Bush et Bradford, 2016).

### **3.6.3.2 Aminosides**

Les aminosides sont les principaux antibiotiques indiqués en particulier dans le traitement des infections à bacilles à Gram négatif. Elles ont une grande efficacité clinique, mais leur toxicité n'est pas négligeable. Les différents aminosides disponibles en thérapeutique sont la gentamicine, l'amikacine, la tobramycine et la netilmicine. La streptomycine est également toujours utilisée dans le traitement de la tuberculose (Venisse et Boulamery, 2011).

### **3.6.3.3 Macrolides**

Les macrolides sont une classe d'antibiotiques bactériostatiques qui inhibent la synthèse des protéines en se liant au ribosome bactérien, avec un large spectre d'activité contre de nombreuses bactéries à Gram-positives et certaines bactéries à Gram-négatives (Reijnders *et al.*, 2020).

De nombreux macrolides ont été découverts qui présente des propriétés pharmaceutiques, leur donnant un potentiel en tant que médicaments antibiotiques, antiviraux, antiparasitaires, antimycosiques ou immunosuppresseurs (Lenz *et al.*, 2021).

### **3.6.3.4 Tétracyclines**

Les premiers médicaments de la classe des tétracyclines ont été découverts à la fin des années 1940, isolés de *Streptomyces* spp. Trois nouveaux antibiotiques de la classe des tétracyclines, l'éravacycline, l'omadacycline et la tigécycline, ont été approuvés au cours des 15 dernières années. Ces médicaments présentent un large spectre d'activité in vitro contre les pathogènes à Gram-positifs et à Gram-négatifs, y compris de nombreuses souches résistantes aux médicaments (Laplante *et al.*, 2022).

### **3.6.3.5 Quinolones**

Les quinolones possèdent de fortes propriétés bactéricides en raison de leur capacité à dérouler l'ADN bactérien. Le déroulement de l'ADN bactérien se produit par l'attaque des quinolones sur les enzymes topoisomérases (Ali *et al.*, 2017). Les quinolones inhibent la

synthèse d'ADN des bactéries en perturbant la topoisomérase bactérienne de type II, inhibant l'activité catalytique de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV (Pham *et al.*, 2019). Elles possèdent un large éventail d'activités pharmacologiques anticancéreuses, antibactériennes, antifongique, antiprotozoaire, antivirale et anti-inflammatoire (Dhiman *et al.*, 2019).

### 3.6.3.6 Glycopeptides

Les glycopeptides sont un groupe de produits naturels et de peptides glycosylés semi-synthétiques qui présentent une activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positifs par inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire (Zeng *et al.*, 2016).

Les glycopeptides actuellement connus sont la vancomycine, la ristocétine ou l'avoparcine. Bien que tous les glycopeptides partagent une structure heptapeptidique similaire (Parenti, 1988).

## IV. Les molécules antibactériennes des actinomycètes à partir des différents écosystèmes

### 1. Actinomycètes isolés à partir des eaux et sédiments marins

Un groupe diversifié de souches d'actinomycètes a été isolé dans des régions inexploitées de sédiments de mangrove. Différents isolats appartenant au genre *Streptomyces* ont révélé une activité antibactérienne à large spectre contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) et les bactéries à Gram négatif *Klebsiella pneumoniae* (Govindarajan *et al.*, 2021). D'autres souches de *Streptomyces* isolées de sédiments marins ont montré des activités antibactériennes significatives contre des souches multirésistantes appartenant *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes* et *Escherichia coli* (Skariyachan *et al.*, 2017).

Des actinomycètes halotolérants et halophiles ont été isolés à partir d'échantillons de sédiments produisant des métabolites antibactériens ont été étudiés à partir de sédiments d'étangs au niveau de saline. Le groupe dominant était composé de *Streptomyces* spp. D'autres étant des actinomycètes rares, à savoir : *Nocardiopsis*, *Micromonospora* et *Kocuria* spp. Plus de 50 % des isolats ont montré une activité antibactérienne contre un ou plusieurs agents pathogènes humains tels que : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus citreus* et *Vibrio cholerae* (Ballav *et al.*, 2015).

### 2. Actinomycètes isolés à partir des eaux et des lacs salés

Durant une étude, une collection de quarante actinomycètes halophiles isolés à partir d'échantillons d'eau et de boue du lac salé de Kalar Kahar, chaîne de sel, au Pakistan, a été

examinée pour étudier leur potentiel antimicrobien contre des agents pathogènes bactériens multi-résistants responsables de la pneumonie associée à la ventilation mécanique (PAVM). Les résultats indiquent que la plupart des isolats (90 %) font partie du genre *Streptomyces*. La plupart des isolats ont montré une activité antimicrobienne remarquable contre les bactéries responsables de la PAVM, notamment contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* et *Acinetobacter* spp. Selon l'étude, ces actinomycètes halophiles sont une source prometteuse de composés bioactifs (Aslam et Sajid, 2016).

### 3. Actinomycètes isolés à partir des eaux douces

Des études sur des souches d'actinomycètes d'eau douce appartenant aux genres *Saccharopolyspora* et *Actinosynnema* ont révélé un immense potentiel en tant que source de nouveaux composés antibactériens ciblant plusieurs souches bactériennes : *Bacillus pumilus*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, et *Pseudomonas aeruginosa* (Sibanda *et al.*, 2010).

Une autre étude faite sur des actinomycètes, appartenant principalement au genre *Streptomyces*, isolés à partir d'échantillons de sédiments des rivières et des lacs, a montré leur aptitude à produire des molécules bioactives ayant une activité antimicrobienne contre *Bacillus subtilis* et *Candida albicans* (Leiva *et al.*, 2004).

### 4. Actinomycètes isolés à partir des sols

Les actinomycètes peuplent différent type de sol ; en particulier le sol rhizosphérique. Plusieurs souches appartenant aux genres *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Pseudonocardia*, *Actinomadura* et *Nocardia* ont été isolées à partir de différents sols rhizosphériques d'écorce, de palmier, d'olivier et de forêts côtières (Trabelsi *et al.*, 2016).

Une étude visant à isoler les actinomycètes halophiles rares des sols hypersalins et à explorer leurs capacités à produire des molécules antibactériennes d'intérêt. Les actinomycètes isolés appartiennent aux genres rares *Actinopolyspora* et *Nocardiosis* dont une activité antibactérienne élevée a été observée contre *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus* (Menasria *et al.*, 2022).

**MATÉRIEL  
ET  
MÉTHODES**

## 1. Le site de prélèvement

Guerrah et Tarf (Guerrah et Tarf) est un/une sebkha (s) (class H - hydrographique) en Wilaya d'Oum el Bouaghi (figure 5), Algérie (Africa), Guerrah et Tarf est situé à 858 mètres d'altitude. Les coordonnées géographiques sont 35°40'0" N et 7°7'60" E en DMS (degrés, minutes, secondes) ou 35.6667 et 7.13333 (en degrés décimaux) (site Internet 1).



Figure 5 : La photo-satellite du site Guerrah Et Tarf (site Internet 1).

## 2. Le prélèvement

L'échantillonnage a été fait selon la méthode de Ponchon et Tardieux, (1962). Trois échantillons ont été prélevés à partir du site Guerrah Et Tarf. Après avoir écarté les cinq premiers centimètres du sol en surface, les prélèvements sont réalisés à une profondeur de 5 à 15 centimètres. Sur une feuille aluminium stérile, un premier tri est réalisé permettant d'écarter les gros débris et les petites pierres et les racines. Environ 500 à 600 g de sol sont collectés puis déposés à l'aide d'une spatule stérile dans un bocal en verre préalablement stérilisé et correctement étiquetés (Djaballah, 2021).

Les échantillons ET1, ET2 et ET3 prélevés ainsi que le site de prélèvement Et Taref sont représentés par la figure 6 et la figure 7.



**Figure 6** : Les photographies des prélèvements des trois échantillons de sol à partir du site Et Taref.



**Figure 7** : La photographie des zones de prélèvement des échantillons de sol à partir du site Et Taref.

### 3. Les analyses physicochimiques des échantillons de sol

#### 3.1 La mesure du pH

Le pH a été mesurés sur des suspensions sol-eau au rapport (1/2,5 ; P/V) est préparée en mélangeant dix grammes de sol dans 25 ml d'eau distillée. Après 30 minutes d'agitation suivis de 20 minutes de repos, la mesure du pH est effectuée avec un pH-mètre (Nijimbere *et al.*, 2020 ; El Oumlouki, 2014).

#### 3.2 La mesure de la conductivité électrique (CE 1/5<sup>ème</sup>)

La conductivité électrique 1/5<sup>ème</sup> (CE), elle est déterminée par conductimètre et elle est exprimée en (mS/cm). La conductivité électrique a été mesurée sur des suspensions sol-eau au rapport 1/5 (P/V). Les suspensions ont été préparées en mélangeant vingt grammes (20g) de dans 100 ml d'eau distillée. Après une période d'agitation (une heure) suivie d'une période de repos durant 30 min, les suspensions sont décantées dans un bécher pour être analysées (Nijimbere *et al.*, 2020).

### 3.3 La mesure du pourcentage d'humidité

Cinq à dix grammes de sol sont séchés dans un four Pasteur réglé à une température de 105 °C jusqu'à obtention d'un poids constant (Lee et Hwang, 2002).

L'humidité du sol sera définie selon l'équation suivante :

$$\% H = \frac{PH - PS}{PH} \times 100$$

PH : poids humide du sol ; PS : poids sec du sol ; % H : pourcentage d'humidité.

### 3.4 La mesure du pourcentage de la matière organique

Pour déterminer la teneur en matière organique, les échantillons de sol séchés sont incinérés à 450°C pendant 16 h. La teneur en matière organique a été calculée comme la différence moyenne entre le poids sec et le poids des cendres par rapport au poids sec pour chaque échantillon de sol (Lee et Hwang, 2002).

## 4. Isolement

### 4.1 Milieux d'isolement

Trois milieux différents ISP2 (International Streptomyces Project 2), ISP4 et ISP5 additionnés chacun de 5, 7,5 et 10% d'NaCl sont utilisés dans l'isolement des actinomycètes à partir des échantillons de sol du site Guerrah Et Tarf (Djaballah, 2021).

Notez que le NaCl utilisé dans toutes nos manipulations est brute et qui nous a été fourni par l'ENASEL (Entreprise Nationale des Sels / Salins Ouled Zouai).

### 4.2 Dilution et ensemencement

La méthode d'ensemencement utilisée est celle des suspensions-dilutions (Reynaud et Laloë, 1985).

Les suspensions-mères sont préparées en mélangeant 2 g de sol dans 18 ml d'eau physiologie stérile. Après agitation vigoureuse à l'aide un vortex pendant 5 min, une série de dilution est réalisée jusqu'à  $10^{-3}$ . Un volume de 0,1 ml de chaque dilution est étalé en surface par râteau sur les trois milieux des cultures additionnés chacun de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. Les boîtes ensemencées sont incubées à 30 °C pendant 21 jours. Des observations régulières sont effectuées chaque jour.

## 5. Dénombrement

Toutes les colonies se rapprochant par leur aspect macroscopique aux actinomycètes sont observées au microscope à l'objectif  $\times 3,2$  puis comptées. Un dénombrement des actinomycètes, des moisissures et des bactéries non filamenteuses est réalisé selon l'équation suivante :

$$N(\text{UFC/g}) = N_c \times \frac{1}{V_e} \times \frac{1}{D}$$

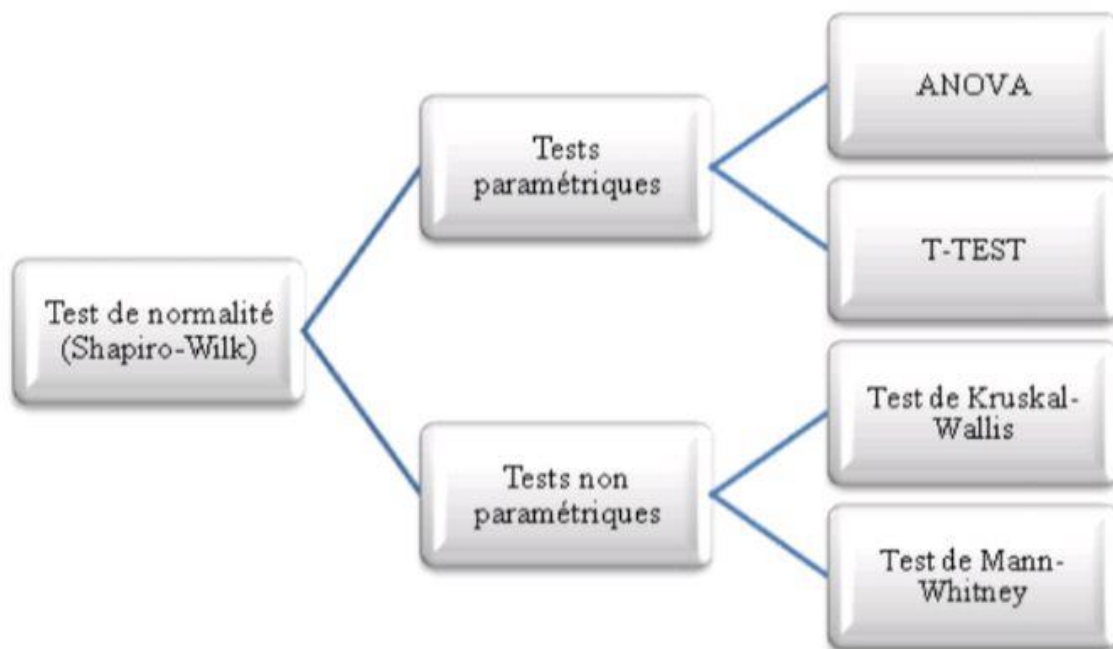
$N_c$  : Nombre de colonie.  $D$  : Dilution.  $V_e$  : Volume d'ensemencement.

## 6. Purification

Les colonies d'actinomycètes sont prélevées délicatement et purifiées par épuisement sur des boîtes de Pétri contenant le milieu d'isolement selon la méthode des quatre quadrants. Les boîtes sont incubées à 30 °C pendant trois jours jusqu'à croissance.

## 7. L'étude statistique

Cette analyse a été effectuée grâce à la version 23.0 du logiciel *IBM SPSS Statistics Premium Grad Pack*. Elle doit passer par le test de normalité de la distribution. Ce test est considéré comme une étape carrefour qui nous permettra de discerner la nature des tests statistiques à utiliser (figure 8) : paramétriques ( $p > 0,05$ ) ou non-paramétriques ( $p \leq 0,05$ ). Notons que les échantillons ont été prélevés de manière aléatoire, et sont indépendants (Djaballah, 2021).



**Figure 8** : Le schéma représentatif des tests empruntés lors de l'analyse statistique.

## 8. Test d'halophilie et d'halotolérance

Cette étape permet de sélectionner les souches d'actinomycètes halophiles et halotolérantes. Les cultures pures d'actinomycètes sont prélevées et ensemencées en surface sur les milieux d'isolement respectif exempté d'NaCl. Celles qui ont la capacité de croître en absence d'NaCl sont considérées comme des halotolérantes alors que celles qui ne croissent pas sont des halophiles (Djaballah, 2021).

## 9. L'étude des caractères cultureux

Cette étude s'attache à décrire, après une incubation à 30 °C aux 7<sup>ème</sup> et 14<sup>ème</sup> jour, la croissance des souches, l'aspect et la couleur des mycélium aérien et du substrat, la forme et la taille des colonies, la production de la masse sporale, la production de la couleur des pigments diffusibles sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 (Shirling et Gottlieb, 1966).

## 10. La recherche de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des souches actinomycétales isolées est recherchée contre deux bactéries sauvage référencées (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922) et deux bactéries multirésistantes. Les souches nous ont été fournies par l'EPH de Mohamed Boudiaf El-Khroub dont le profil de résistance est représenté dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Le profil de résistance des bactéries multirésistantes utilisées dans la technique des cylindres d'agar.

Bactéries multirésistantes	Profil de résistance
<i>Staphylococcus aureus</i>	Erythromycine R Levofloxacin R Kanamycine R Ofloxacin R Ciprofloxacin R Pefloxacin R Sulfaméthoxazol +Triméthoprim R
<i>Escherichia coli</i>	Amoxiciline + acide clavulanique R Ceftazidime R Cefixime R Cefazoline R Azteroname R Imipenem R

R : Résistance.

### 10.1 La préparation des souches-test

Afin d'obtenir des cultures jeunes, chaque souche-test est ensemencée sur le milieu gélose nutritif puis est incubée à 37 °C pendant 12 à 18 heures. Pour chaque bactérie test, une suspension bactérienne est préparée dans l'eau physiologique stérile puis comparée au standard

(0,5 McFarland). Chaque suspension estensemencée sur une gélose Mueller Hinton par un écouvillon stérile trempé dans la suspension bactérienne (Djaballah, 2021).

### **10.2 La préparation des isolats actinomycètes**

Les souches d'actinomycètesensemencées en surface par stries très serrés sur les milieux ISP2, ISP4, ISP5 additionné de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl, puis incubés à 30 °C pendant 14 jours afin d'étudier leur activité antibactérienne.

### **10.3 Le test d'activité antimicrobienne : méthode des cylindres d'agar**

La technique des cylindres d'agar pour les actinomycètes en déposant des cylindres de gélose contenant les actinomycètes sur des boîtes de gélose Mueller Hintonensemencées avec des souches bactériennes par écouvillonnage, Les boites de Pétri sont ensuite placées à 4 °C pendant trois heures pour permettre une diffusion des substances dans la gélose, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures (Barakate *et al.*, 2002).

**RÉSULTATS  
ET  
DISCUSSION**

## 1. Les résultats des différentes analyses physico-chimiques

Les résultats de l'analyse physicochimique des échantillons sont représentés dans le Tableau 6.

**Tableau 6** : Les résultats des différentes analyses physicochimiques.

Échantillon	pH	C.1/5 <sup>ème</sup> (mS/cm)	% H	% C. org.
ET1	7,69	9,15	9,26	15,02
ET2	7,72	10,59	10,53	15,07
ET3	7,92	9,94	9,49	15,70

C.1/5<sup>ème</sup> : La conductivité du sol diluée au 1/5<sup>ème</sup> ; %H : Le pourcentage d'humidité ; % C. org. : Le pourcentage du carbone organique.

### 1.1 Le pH des échantillons du sol

Selon Baize (2000), le « Référentiel Pédologique » propose sept domaines de pH avec leurs qualificatifs correspondants du sol qui sont représenté dans le tableau 7.

**Tableau 7** : La classification des sols en fonction de leur pH.

Intervalle du pH	Horizon du sol
pH inférieur à 3,5	Hyper-acide
pH entre 3,5 et 4,2	Très acide
pH entre 4,2 et 5,0	Acide
pH entre 5,0 et 6,5	Peu acide
pH entre 6,5 et 7,5	Neutre
pH entre 7,5 et 8,7	Basique
pH supérieur à 8,7	Très basique

À partir des résultats présentés dans le tableau 6 et en se basant sur la classification des sols présentées en tableau 7, nous remarquons que le pH des trois échantillons ET1, ET2 et ET3 sont compris entre 7,5 et 8,7, ce qui nous permet de classer le sol du site comme basique.

### 1.2 La conductivité des échantillons du sol

Selon Mathieu et Pieltain (2003), les sols peuvent être classés sur la base de leur conductivité. Cette classification est représentée dans le tableau 8.

**Tableau 8** : Les classes de la salinité en fonction de la conductivité électrique de l'extrait aqueux à 25°C.

	Type de sol				
	Non salé	Peu salé	Salé	Très salé	Extrêmement salé
<b>C. ex 1/5 (mS/cm)</b>	< 0,6	0,6 – 1,2	1,2 – 2,4	2,4 – 6	> 6
<b>Salure (méq / 100 g de sol)</b>	< 3	3 – 6	6 – 12	12 – 30	> 30

C. ex 1/5 : conductivité de l'extrait aqueux 1/5ème ; mS : milli Siemens.

D'après cette classification, nous constatons que les conductivités électriques 1/5<sup>ème</sup> des trois échantillons sont supérieures à 6mS/cm, ce qui nous permet de conclure que les échantillons de sol sont extrêmement salins. À noter que le sol d'Et Taref possède de conductivités largement supérieures à la limite (6mS/cm) pour laquelle un sol donné peut être considéré comme extrêmement salin, ce qui reflète son très haute salinité.

À cause des valeurs de pH et de conductivité retrouvées lors de l'analyse des échantillons de sols, nous prévoyons non seulement la présence des halophiles et des halotolérants mais aussi des microorganismes alcalophiles et alcalotolérants. Pour cette raison, nous avons ajusté le pH des milieux de culture à 8,0, et additionné différentes concentrations d'NaCl (5%, 7,5% et 10%) aux milieux d'isolement.

### 1.3 Les pourcentages d'humidité et du carbone organique

Le tableau 9 représente la classification des sols en fonction des taux d'humidité et du carbone organique.

**Tableau 9** : La classification des sols en fonction du taux d'humidité.

Taux D'humidité	Intervalle du pourcentage d'humidité (%)	Intervalle du pourcentage du carbone organique
<b>Faible</b>	2,00 – 9,00	4,00 – 7,00
<b>Modéré</b>	9,10 – 13,00	7,10 – 9,00
<b>Élevé</b>	13,10 – 20,00	9,10 – 11,00

En se basant sur cette classification, nous constatons que les taux d'humidité des échantillons sont tous compris entre 9,10% et 13,00%. Par conséquent, le sol des trois échantillons a un taux d'humidité modéré.

Les résultats obtenus nous permettent également de conclure que les taux du carbone organique des trois échantillons sont très élevés vue qu'ils dépassent tous la limite supérieure 11,00%. Ceci pourrait s'expliquer par une accumulation de la matière organique au cours du

temps accompagnée d'une faible dégradation de cette dernière à cause de la très haute salinité qui ralentie à la fois la croissance et les activités de biodégradation microbiennes (Djaballah, 2021). La figure 9 présente les résultats du poids sec du sol et du poids des cendres.



**Figure 9** : Photographies des résultats du poids sec du sol et du poids des cendres.

## 2. Le dénombrement des actinomycètes

Les résultats du dénombrement de la flore actinomycètes à partir des échantillons du site Et Taref sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl sont représentés dans le tableau 10.

**Tableau 10** : Dénombrement des actinomycètes à partir des échantillons du site Et Taref.

Échantillon	Charge actinomycète (x 10 <sup>3</sup> UFC/g)								
	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
<b>ET1</b>	10	0	13	180	20	12	2.5	1.4	2.4
<b>ET2</b>	0.7	0	5	1.9	16	12	6	60	1.4
<b>ET3</b>	0	1.9	12	125	195	17	430	1.6	6

À partir des résultats présentés dans le tableau 10, nous remarquons la présence d'une charge actinomycètes dans les trois échantillons. Sur l'ensemble des conditions d'isolement utilisées (27 conditions), nous avons pu isoler cette flore dans 88,9% des cas.

### 2.1 Effet de l'échantillon sol sur les résultats de dénombrement des actinomycètes

Les résultats présentés dans le tableau 10 montrent des différences entre les charges actinomycètes isolés à partir des trois échantillons :

- Dans le cas du milieu ISP2 additionné de 5% d'NaCl, la charge actinomycète isolée à partir de l'échantillon ET1 ce qui est plus que 14 fois supérieure à celle isolé de l'échantillon ET2.
- Dans le cas du milieu ISP4 additionné de 5% d'NaCl :

- La charge actinomycète ètes isolé à partir de l'échantillon ET1 ce qui est plus que 94 fois supérieure à celle isolé de l'échantillon ET2 ;
  - La charge actinomycète isolée à partir de l'échantillon ET3 ce qui est plus que 65 fois supérieure à celle isolé de l'échantillon ET2.
- Dans le cas du milieu ISP4 additionné de 7,5% d'NaCl, la charge actinomycète isolée à partir de l'échantillon ET3 ce qui est plus que 9 fois supérieure à celle isolé de l'échantillon ET1 et plus que 12 fois supérieure à celle isolé de l'échantillon ET2 ;
- Dans le cas du milieu ISP5 additionné de 5% d'NaCl, la charge actinomycète isolée à partir de l'échantillon ET3 ce qui est plus que 71 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET2 et plus que 172 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET1 ;
- Dans le cas du milieu ISP5 additionné de 7,5% d'NaCl, la charge actinomycète isolée à partir de l'échantillon ET2 ce qui est 37,5 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET3 et plus que 42 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET1.

L'ensemble de ses observations nous permettent de supposer la présence d'un effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des actinomycètes.

De ce fait, nous allons procéder à une analyse statistique pour confirmer ou infirmer l'effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des actinomycètes.

### 2.1.1 Analyse statistique sur l'effet de l'échantillon du sol

#### a. Test de normalité

##### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les variables suivent une loi normale.

$H_1$  : les variables ne suivent pas une loi normale.

##### ❖ La règle de décision

$p > 0,05$  :  $H_0$  est acceptée

$p \leq 0,05$  :  $H_0$  est rejetée

Deux tests de normalité, présentés dans le tableau 11, ont été réalisés sur les résultats de dénombrement des actinomycètes isolés à partir de trois échantillons ET1, ET2 et ET3. Il s'agit des tests de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk pour lesquels les seuils de signification respectifs sont de 0,200 et 0,05.

**Tableau 11** : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats de dénombrement d'actinomycètes isolés à partir trois échantillons ET1, ET2 et ET3.

Échantillon	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
ET1	,436	9	,000	,494	9	,000
ET2	,294	9	,024	,633	9	,000
ET3	,353	9	,002	,685	9	,001

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

Selon les résultats présentés dans le tableau 11, il apparaît que les valeurs de significations, obtenues pour la distribution les charges des actinomycètes isolés à partir des trois échantillons ET1, ET2 et ET3 sont inférieures aux seuils de significations de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk. De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$  ; le test paramétrique ANOVA ne peut être appliqué pour étudier l'effet de l'échantillon sur la charge actinomycète isolées. Il sera remplacé par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

#### b. Test de Kruskal-Wallis

Les rangs moyens des valeurs de dénombrement d'actinomycètes isolés à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3 sont représentés dans le tableau 12. Ce test est appliqué sur les rangs moyens, calculés par ce même test, des valeurs de dénombrement d'actinomycètes isolés sur les trois échantillons.

**Tableau 12** : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement d'actinomycètes isolés à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3.

Échantillon	N	Rang moyen
ET1	9	14,06
ET2	9	11,72
ET3	9	16,22
Total	27	

#### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les trois rangs moyens sont égaux ( $r_{m1} = r_{m2} = r_{m3}$ ).

$H_1$  : il existe au moins deux rangs moyens différents.

Les résultats du test de Kruskal Wallis appliqué sur les rangs moyens d'actinomycètes isolés à partir des échantillons de sol ET1, ET2 et ET3 sont représentés dans le tableau 13.

**Tableau 13** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution d'actinomycètes isolés à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3.

	Actinomycète
Khi-deux	1,452
ddl	2
Sig. Asymptotique	,484

ddl : degré de liberté.

D'après les résultats représentés dans le tableau 13, nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue est supérieure au seuil de signification 0,05, ce qui nous permet d'accepter l'hypothèse  $H_0$  qui stipulée que les trois rangs moyens sont égaux. Nous concluons qu'il n'y a pas des différences significatives entre les charges actinomycètes isolés à partir des trois échantillons. Donc, l'échantillon n'a pas un effet quantitativement significatif sur le nombre d'actinomycètes isolés à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3.

### 2.2 Effet de milieu de culture sur les résultats de dénombrement des actinomycètes

Les résultats de dénombrement de la flore actinomycètes sur les trois milieux de culture représentés par le tableau 10, montrent certaines différences :

- ✓ À partir de l'échantillon ET1 :
  - La charge actinomycète isolée sur le milieu ISP4 additionné de 5% d'NaCl est 18 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP2 additionné de 5% d'NaCl et 72 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP5 additionné de 5% d'NaCl ;
  - La charge actinomycète isolée sur le milieu ISP4 additionné de 7,5% d'NaCl est plus que 14 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP5 additionné de 7,5% d'NaCl.
- ✓ À partir de l'échantillon ET3, la charge actinomycète isolée sur le milieu ISP4 additionné de 7,5% d'NaCl est plus que 102 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP2 additionné de 7,5% d'NaCl et plus que 121 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP5 additionné de 7,5% d'NaCl.

L'ensemble de ses observations nous permettent de supposer la présence d'un effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement des actinomycètes.

De ce fait, nous allons procéder à une analyse statistique pour confirmer ou infirmer l'effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement des actinomycètes.

### 2.2.1 Analyse statistique sur l'effet du milieu de culture

#### a. Tests de normalité

##### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les variables sont distribuées selon la loi normale.

$H_1$  : les variables ne sont pas distribuées selon la loi normale.

##### ❖ La règle de décision

$p > 0,05$  :  $H_0$  est acceptée

$p \leq 0,05$  :  $H_0$  est rejetée

Deux tests de normalité, présentés dans le tableau 14, ont été réalisés sur les résultats de dénombrement des actinomycètes isolés sur les trois milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. Il s'agit des tests de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk pour lesquels les seuils de signification respectifs sont de 0,200 et 0,05.

**Tableau 14** : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution les charges d'actinomycètes isolés sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.

Milieu de culture	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
ISP2	,253	9	,101	,808	9	,025
ISP4	,379	9	,001	,728	9	,003
ISP5	,418	9	,000	,465	9	,000

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

Selon les résultats présentés dans le tableau 14, il apparaît que les valeurs de significations, obtenues pour la distribution les charges d'actinomycètes isolés sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 sont inférieures aux seuils de significations de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk. De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$  ; le test Paramétrique ANOVA ne peut être appliqué pour étudier l'effet de l'échantillon sur la charge d'actinomycètes isolés. Il sera remplacé par le test non paramétrique de Kruskal Wallis.

#### b. Test de Kruskal-Wallis

Les rangs moyens des valeurs de dénombrement d'actinomycètes isolés sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 sont représentés dans le tableau 15. Ce test est appliqué sur les rangs moyens, calculés par ce même test, des valeurs de dénombrement d'actinomycètes isolés sur les trois milieux de culture.

**Tableau 15** : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement d'actinomyète isolés sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.

Milieu de culture	N	Rang moyen
ISP2	9	9,06
ISP4	9	20,06
ISP5	9	12,89
Total	27	

❖ **Les hypothèses**

$H_0$  : les trois rangs moyens sont égaux ( $r_{m1} = r_{m2} = r_{m3}$ ).

$H_1$  : il existe au moins deux rangs moyens sont différents.

Les résultats du test de Kruskal Wallis appliqué sur les rangs moyens des actinomyètes isolés sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 sont représentés dans tableau 16.

**Tableau 16** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution d'actinomyètes isolé sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.

	Actinomyètes
Khi-deux	8,937
ddl	2
Signification asymptotique	,011

ddl : degré de liberté.

D'après les résultats représentés dans le tableau 16, nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue est inférieure au seuil de signification 0,05, ce qui nous permet de rejeter l'hypothèse  $H_0$  qui stipulée que les trois rangs moyens sont égaux.

Nous concluons à l'existence de différences significatives entre les charges d'actinomyètes isolés sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.

Donc, il existe un effet du milieu de culture sur le nombre des charges actinomyètes. Une comparaison deux-à-deux devient donc nécessaire afin de déterminer le ou les milieux de culture le plus favorable à l'isolement des actinomyètes. Pour cela, nous devons appliquer le test non paramétrique de Mann-Whitney.

**c. Test de Mann-Whitney**

Ce test est appliqué sur les rangs moyens des valeurs de dénombrement d'actinomyètes isolés sur chaque milieu de culture. Les résultats de ce test sont représentés dans le tableau 17.

**Tableau 17** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Mann-Whitney sur la distribution d'actinomycètes isolés sur les milieux de culture (ISP2 et ISP4), (ISP2 et ISP5) et (ISP4 et ISP5).

	ISP2 / ISP4	ISP2 / ISP5	ISP4 / ISP5
U de Mann-Whitney	7,500	29,000	19,000
W de Wilcoxon	52,500	74,000	64,000
Z	-2,928	-1,019	-1,901
Sig. asymptotique (bilatérale)	,003	,308	,057

D'après les résultats représentés dans le tableau 17, il apparaît que :

- ✓ La valeur de signification asymptotique obtenue pour la comparaison ISP2/ISP4 (0.003) est inférieure au seuil de signification 0,05. De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$ . Nous concluons que les rangs moyens obtenus sur les milieux ISP2 et ISP4 sont significativement différents. La charge d'actinomycètes isolés sur le milieu de culture ISP4 est significativement supérieure à celle isolée sur le milieu de culture ISP2. Donc, le milieu de culture ISP4 est quantitativement plus favorable à l'isolement des actinomycètes que le milieu de culture ISP2.
- ✓ La valeur de signification asymptotique obtenue pour la comparaison ISP4/ISP5 (0,057) est légèrement supérieure au seuil 0,05. De ce fait, nous acceptons l'hypothèse  $H_0$ . Toutefois, nous sommes très proche d'une différence significative entre les rangs moyens des charges actinomycètes isolés entre le milieu ISP4 et ISP5. Nous pouvons conclure que la charge d'actinomycètes isolés sur le milieu de culture ISP4 est presque significativement supérieure à celle isolée sur le milieu de culture ISP5.

La valeur de signification asymptotique obtenue pour la comparaison ISP2/ISP5 (0,308) est supérieure au seuil 0,05. De ce fait, nous acceptons l'hypothèse  $H_0$ . Il n'existe pas de différence significative entre les rangs moyens des charges actinomycètes isolés entre le milieu ISP2 et ISP5.

En effet, lorsque les milieux deviennent pauvres en nutriments, la compétition des bactéries diminue, favorisant ainsi le développement des actinomycètes. Par conséquent, la charge des actinomycètes diminue progressivement à mesure que le milieu d'isolement devient plus riche en nutriments.

### 2.3 L'effet de concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des actinomycètes

À partir des résultats présentés dans le tableau 10, nous remarquons :

- À partir de l'échantillon ET2 et sur le milieu ISP2, la charge d'actinomycètes isolée à 10% d'NaCl est plus que 7 fois supérieure à celle isolée sur 5% d'NaCl ;
- À partir de l'échantillon ET1 et sur le milieu ISP4, la charge d'actinomycètes isolée à 5% d'NaCl est 15 fois supérieure à celle isolée sur 10% d'NaCl ;
- À partir de l'échantillon ET3 et sur le milieu ISP5 :
  - La charge d'actinomycètes isolée à 5% d'NaCl est plus que 71 fois supérieure à celle isolée sur 10% d'NaCl ;
  - La charge d'actinomycètes isolée à 5% d'NaCl est plus que 268 fois supérieure à celle isolée sur 7,5% d'NaCl.

L'ensemble de ses observations nous permettent de supposer la présence d'un effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des actinomycètes.

De ce fait, nous allons procéder à une analyse statistique pour confirmer ou infirmer l'effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement de la flore actinomycètes.

#### 2.3.1 Analyse statistique sur l'effet de la concentration d'NaCl

##### a. Tests de normalité

##### ❖ Les hypothèses :

$H_0$  : les variables sont distribuées selon la loi normale.

$H_1$  : les variables ne sont pas distribuées selon la loi normale.

##### ❖ La règle de décision

$p > 0,05$  :  $H_0$  est acceptée

$p \leq 0,05$  :  $H_0$  est rejetée

Deux tests de normalité, présentés dans le tableau 18, ont été réalisés sur les résultats de dénombrement d'actinomycète isolés à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. Il s'agit des tests de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk pour lesquels les seuils de signification respectifs sont de 0,200 et 0,05.

**Tableau 18** : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats des charges actinomycètes isolés à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

NaCl	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
5%	,361	9	,001	,667	9	,001
7,5%	,358	9	,001	,596	9	,000
10%	,268	9	,062	,911	9	,322

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

Selon les résultats présentés dans le tableau 18. Il apparaît que les valeurs de significations, obtenues pour la distribution des charges d'actinomycètes isolés à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl, sont généralement inférieures aux seuils de significations de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk. De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$  ; le test paramétrique ANOVA ne peut être appliqué pour étudier l'effet d'NaCl sur la charge actinomycètes. Il sera remplacé par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

**b. Test de Kruskal-Wallis**

Les rangs moyens des valeurs de dénombrement d'actinomycètes isolés sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% d'NaCl sont représentés dans le tableau 19. Ce test est appliqué sur les rangs moyens, calculés par ce même test, des valeurs de dénombrement d'actinomycète sur chaque concentration.

**Tableau 19** : Les rangs moyens des valeurs de résultats de dénombrement d'actinomycètes isolés à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

NaCl	N	Rang moyen :
5%	9	14,44
7,5%	9	12,89
10%	9	14,67
Total	27	

❖ **Les hypothèses**

$H_0$  : les trois rangs moyens sont égaux ( $r_{m1} = r_{m2} = r_{m3}$ ).

$H_1$  : il existe au moins deux rangs moyens sont différents.

Les résultats du test de Kruskal Wallis appliqué sur les rangs moyens des actinomycètes isolés sur 5%, 7,5% et 10% sont représentés dans le tableau 20.

**Tableau 20** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution des résultats de dénombrement d'actinomycètes isolés sur 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

	Actinomycète
Khi-deux	,269
ddl	2
Sig. asymptotique	,874

ddl : degré de liberté.

D'après les résultats représentés dans le tableau 20, Nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue (0,874) est supérieure au seuil de signification 0,05, ce qui nous permet d'accepter l'hypothèse  $H_0$  qui stipulée que les trois rangs moyens sont égaux.

Nous concluons qu'il n'y a pas des différences significatives entre les charges des actinomycètes isolés sur 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. Donc, le NaCl n'a pas un effet quantitativement significatif sur le nombre d'actinomycètes isolés.

### 3. Le dénombrement des bactéries non-filamenteuses

Les résultats du dénombrement de la flore bactérienne isolée à partir des échantillons du site Et Taref sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl sont représentés dans le tableau 21.

**Tableau 21** : Dénombrement de la flore bactérienne non filamenteuse à partir des échantillons du site Et Taref.

Échantillon	Charge bactérienne (x 10 <sup>4</sup> UFC/g)								
	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
<b>ET1</b>	0,02	76	26	115	21,5	189	22	169	22
<b>ET2</b>	210	0,32	16	148	5,4	8,9	270	64	159
<b>ET3</b>	220	23	8,9	95	28	34	30	2,9	2

À partir des résultats présentés dans le tableau 21, nous remarquons la présence d'une charge bactérienne dans les trois échantillons. Toutes les conditions d'isolement utilisées sont favorables à l'isolement de la flore bactérienne.

#### 3.1 L'effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des bactéries

Les résultats mettent également en évidence la présence d'une flore bactérienne riche dans les trois échantillons de sol qui a pu croître sur les trois milieux de culture.

À partir des résultats présentés dans le tableau 21, nous remarquons que :

- Dans le cas du milieu ISP2 additionné de 5% d'NaCl :
  - La flore bactérienne isolée à partir de l'échantillon ET3 est 11000 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET1 ;
  - La flore bactérienne isolée à partir de l'échantillon ET2 est 10500 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET1.
- Dans le cas du milieu ISP2 additionné de 7,5% d'NaCl, la flore bactérienne isolée à partir de l'échantillon ET1 est 237,5 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET2 ;
- Dans le cas du milieu ISP4 additionné de 10% d'NaCl, la flore bactérienne isolée à partir de l'échantillon ET1 est 21 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET2 ;
- Dans le cas du milieu ISP5 additionné de 7,5% d'NaCl, la flore bactérienne isolée à partir de l'échantillon ET1 est 58 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET3 ;
- Dans le cas du milieu ISP5 de 10% d'NaCl, la flore bactérienne isolée à partir de l'échantillon ET3 est 77,5 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET1, et 79,5 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET2.

L'ensemble de ses observations nous permettent de supposer la présence d'un effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des bactéries non filamenteuses.

De ce fait, nous allons procéder à une analyse statistique pour confirmer ou infirmer l'effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des bactéries.

### 3.1.1 Analyse statistique sur l'effet de l'échantillon du sol

#### a. Tests de normalité

##### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les variables suivent une loi normale.

$H_1$  : les variables ne suivent pas une loi normale.

##### ❖ La règle de décision

$p > 0,05$  :  $H_0$  est acceptée

$p \leq 0,05$  :  $H_0$  est rejetée

Deux tests de normalité, présentés dans le tableau 22 ont été réalisés sur les résultats de dénombrement des bactéries isolées à partir de trois échantillons. Il s'agit des tests de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk pour lesquels les seuils de signification respectifs sont de 0,200 et 0,05.

**Tableau 22** : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats de dénombrement des bactéries isolées à partir trois échantillons ET1, ET2 et ET3.

Échantillon	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
TE 1	,295	9	,024	,838	9	,055
TE 2	,235	9	,164	,869	9	,120
TE 3	,365	9	,001	,688	9	,001

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

Selon les résultats présentés dans le tableau 22, il apparaît que les valeurs de significations, obtenues pour la distribution des charges des bactéries isolées à partir l'échantillon TE3, sont inférieures aux seuils de significations de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk. De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$  ; le test paramétrique ANOVA ne peut être appliqué pour étudier l'effet de l'échantillon sur la charge bactérienne isolée. Il sera remplacé par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

#### b. Test de Kruskal-Wallis

Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des bactéries isolées à partir les échantillons ET1, ET2 et ET3 sont représentés dans le tableau 23. Ce test est appliqué sur les rangs moyens, calculés par ce même test, des valeurs de dénombrement d'actinomycètes sur les trois échantillons.

**Tableau 23** : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement de la flore bactérienne isolées à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3.

Échantillon	N	Rang moyen
ET1	9	14,33
ET2	9	14,83
ET3	9	12,83
Total	27	

#### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les trois rangs moyens sont égaux ( $r_{m1} = r_{m2} = r_{m3}$ ).

$H_1$  : il existe au moins deux rangs moyens sont différents.

Les résultats du test de Kruskal Wallis appliqué sur les rangs moyens de la flore bactérienne isolée à partir des échantillons de sol ET1, ET2 et ET3 sont représentés dans le tableau 24.

**Tableau 24** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution de la flore bactérienne isolée à partir des trois échantillons.

	Bactéries
Khi-deux	,310
ddl	2
Sig. asymptotique	,857

ddl : degré de liberté.

D'après les résultats représentés dans le tableau 24, nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue est supérieure au seuil de signification 0,05, ce qui nous permet d'accepter l'hypothèse  $H_0$  qui stipulée que les trois rangs moyens sont égaux. Nous concluons qu'il n'y a pas des différences significatives entre les charges bactériennes isolées sur les trois échantillons. Donc, l'échantillon n'a pas un effet quantitativement significatif sur le nombre des bactéries isolées.

### 3.2 Effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement des bactéries

Les résultats de dénombrement de la flore bactérienne sur les trois milieux de culture représentés par le tableau 21 montrent certaines différences :

- ✓ À partir de l'échantillon ET1, la charge bactérienne isolée sur le milieu ISP4 additionné de 5% d'NaCl est 5750 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP2 additionné de 5% d'NaCl ;
- ✓ À partir de l'échantillon ET2, la charge bactérienne isolée sur le milieu ISP5 additionné de 7,5% d'NaCl est 200 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP2 additionné de 10% d'NaCl ;
- ✓ À partir de l'échantillon ET3, la charge bactérienne isolée sur le milieu ISP4 additionné de 10% d'NaCl est 17 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP5 additionné de 10% d'NaCl.

L'ensemble de ses observations nous permettent de supposer la présence d'un effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement des bactéries non filamenteuses.

De ce fait, nous allons procéder à une analyse statistique pour confirmer ou infirmer l'effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement des bactéries non filamenteuses.

### 3.2.1 Analyse statistique sur l'effet du milieu de culture

#### a. Tests de normalité

##### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les variables suivent une loi normale.

$H_1$  : les variables ne suivent pas une loi normale.

##### ❖ La règle de décision

$p > 0,05$  :  $H_0$  est acceptée

$p \leq 0,05$  :  $H_0$  est rejetée

Deux tests de normalité, présentés dans le tableau 25, ont été réalisés sur les résultats de dénombrement des bactéries isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. Il s'agit des tests de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk pour lesquels les seuils de signification respectifs sont de 0,200 et 0,05.

**Tableau 25** : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats de dénombrement des bactéries isolées sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5.

Milieu de culture	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
ISP2	,335	9	,004	,718	9	,002
ISP4	,268	9	,062	,876	9	,144
ISP5	,265	9	,067	,822	9	,036

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

Selon les résultats présentés dans le tableau 25, il apparaît que les valeurs de significations, obtenues pour la distribution des charges bactérienne isolées sur les milieux de culture ISP2 et ISP5 sont inférieures aux seuils de significations de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk. De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$  ; le test Paramétrique ANOVA ne peut être appliqué pour étudier l'effet de l'échantillon sur la charge bactérienne isolées. Il sera remplacé par le test non paramétrique de Kruskal Wallis.

#### b. Le test de Kruskal-Wallis

Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des bactéries isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 sont représentés dans le tableau 26. Ce test est appliqué sur les rangs moyens, calculés par ce même test, des valeurs de dénombrement des bactéries sur chaque milieu de culture.

**Tableau 26** : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des bactéries isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.

Milieu de culture	N	Rang moyen
ISP2	9	12,39
ISP4	9	14,94
ISP5	9	14,67
Total	27	

❖ **Les hypothèses**

$H_0$  : les trois rangs moyens sont égaux ( $r_{m1} = r_{m2} = r_{m3}$ ).

$H_1$  : il existe au moins deux rangs moyens sont différents.

Les résultats du test de Kruskal Wallis appliqué sur les rangs moyens des bactéries isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 sont représentés dans le tableau 27.

**Tableau 27** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution des bactéries isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.

	Bactéries
Khi-deux	,562
ddl	2
Sig. asymptotique	,755

ddl : degré de liberté.

D'après les résultats représentés dans le tableau 27, nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue est supérieure au seuil de signification 0,05, ce qui nous permet d'accepter l'hypothèse  $H_0$  qui stipulée que les trois rangs moyens sont égaux.

Nous concluons qu'il n'y a pas des différences significatives entre les charges bactériennes isolées sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5. Donc, les milieux de culture utilisés n'ont pas un effet quantitativement significatif sur le nombre des bactéries.

**3.3 Effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des bactéries**

À partir des résultats présentés dans le tableau 21, nous remarquons que :

- À partir de l'échantillon ET1 et sur le milieu ISP5, la charge bactérienne isolée à 7,5% d'NaCl est 7,68 fois supérieure à celle isolée sur 10% d'NaCl ;
- À partir de l'échantillon ET2 et sur le milieu ISP2, la charge bactérienne isolée à 5% d'NaCl est 656,25 fois supérieure à celle isolée sur 7,5% d'NaCl ;

- À partir de l'échantillon ET3 et sur le milieu ISP2, la charge bactérienne isolée à 5% d'NaCl est 24,7 fois supérieure à celle isolée sur 10% d'NaCl.

L'ensemble de ses observations nous permettent de supposer la présence d'un effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des bactéries non filamenteuses.

De ce fait, nous allons procéder à une analyse statistique pour confirmer ou infirmer l'effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des bactéries non filamenteuses.

### 3.3.1 Analyse statistique sur l'effet de la concentration d'NaCl

#### a. Tests de normalité

##### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les variables suivent une loi normale.

$H_1$  : les variables ne suivent pas une loi normale.

##### ❖ La règle de décision

$p > 0,05$  :  $H_0$  est acceptée

$p \leq 0,05$  :  $H_0$  est rejetée

Deux tests de normalité, présentés dans le tableau 28, ont été réalisés sur les résultats de dénombrement de la flore bactérienne isolée à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. Il s'agit des tests de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk pour lesquels les seuils de signification respectifs sont de 0,200 et 0,05.

**Tableau 28** : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats des charges bactériennes isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

NaCl	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
5%	,167	9	,200	,940	9	,585
7,5%	,279	9	,043	,784	9	,013
10%	,377	9	,001	,684	9	,001

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

Selon les résultats présentés dans le tableau 28, Il apparaît que les valeurs de significations, obtenues pour la distribution des charges bactériennes isolées à 7,5% et 10% d'NaCl, sont inférieures aux seuils de significations de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro Wilk. De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$  ; le test paramétrique ANOVA ne peut être appliqué pour étudier l'effet du NaCl sur les charges bactériennes. Il sera remplacé par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

**b. Test de Kruskal-Wallis**

Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des bactéries isolées sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% d'NaCl sont représentés dans le tableau 29. Ce test est appliqué sur les rangs moyens, calculés par ce même test, des valeurs de dénombrement des bactéries sur chaque concentration.

**Tableau 29** : Les rangs moyens des valeurs de résultats de dénombrement de la flore bactérienne à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

NaCl	N	Rang moyen
5%	9	18,28
7,5%	9	11,56
10%	9	12,17
Total	27	

❖ **Les hypothèses**

$H_0$  : les trois rangs moyens sont égaux ( $r_1 = r_2 = r_3$ ).

$H_1$  : il existe au moins deux rangs moyens sont différents.

Les résultats du test de Kruskal Wallis appliqué sur les rangs moyens des bactéries isolées sur 5%, 7,5% et 10% sont représentés dans le tableau 30.

**Tableau 30** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution de résultats de dénombrement de la flore bactérienne isolée à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

	Bactéries
Khi-deux	3,950
ddl	2
Sig. asymptotique	,139

ddl : degré de liberté.

D'après les résultats représentés dans le tableau 30, nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue est supérieure au seuil de signification 0,05, ce qui nous permet d'accepter l'hypothèse  $H_0$  qui stipulée que les trois rangs moyens sont égaux.

Nous concluons qu'il n'y a pas des différences significatives entre les charges des bactérienne isolées sur 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. Donc, le NaCl n'a pas un effet quantitativement significatif sur le nombre des bactéries isolées.

#### 4. Le dénombrement des moisissures

Les résultats du dénombrement des moisissures à partir des échantillons du site Et Taref sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl sont représentés dans le tableau 31.

**Tableau 31** : Dénombrement des moisissures à partir des échantillons du site Et Taref.

Échantillon	Charge des moisissures (x 10 <sup>3</sup> UFC/g)								
	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
<b>ET1</b>	200	115	7	5	1.7	3	12	2.4	2.6
<b>ET2</b>	11	0.8	2.1	15	4	0	185	1.4	275
<b>ET3</b>	50	75	4	0.8	0.6	0.4	3	4	3

À partir des résultats présentés dans le tableau 31, nous remarquons la présence d'une charge des moisissures dans les trois échantillons. Sur un ensemble de 27 conditions d'isolement utilisées, une seule condition était défavorable à l'isolement de cette charge.

##### 4.1 Effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des moisissures

Les résultats présentés dans le tableau 31, montrent des différences entre les charges des moisissures isolées à partir des trois échantillons :

- Dans le cas du milieu ISP2 additionné de 5% d'NaCl, la charge des moisissures isolée à partir de l'échantillon ET1 est 18,18 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET2.
- Dans le cas du milieu ISP2 additionné de 7,5% d'NaCl :
  - La charge des moisissures isolée à partir de l'échantillon ET1 est 143,75 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET2 ;
  - La charge des moisissures isolée à partir de l'échantillon ET3 est 93,75 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET2.
- Dans le cas du milieu ISP4 additionné de 5% d'NaCl, la charge des moisissures isolée à partir de l'échantillon ET2 est 18,75 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET3 ;
- Dans le cas du milieu ISP5 additionné de 5% d'NaCl, la charge des moisissures isolée à partir de l'échantillon ET2 est 15,41 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET1 et 61,66 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET3.

- Dans le cas du milieu ISP5 additionné de 10% d'NaCl, la charge des moisissures isolée à partir de l'échantillon ET2 est 91,66 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET3 et 105,76 fois supérieure à celle isolée de l'échantillon ET1.

L'ensemble de ses observations nous permettent de supposer la présence d'un effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des moisissures.

De ce fait, nous allons procéder à une analyse statistique pour confirmer ou infirmer l'effet de l'échantillon sur les résultats de dénombrement des moisissures.

#### 4.1.1 Analyse statistique sur l'effet de l'échantillon du sol

##### a. Tests de normalité

##### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les variables suivent une loi normale.

$H_1$  : les variables ne suivent pas une loi normale.

##### ❖ La règle de décision

$p > 0,05$  :  $H_0$  est acceptée

$p \leq 0,05$  :  $H_0$  est rejetée

Deux tests de normalité, présentés dans le tableau 32, ont été réalisés sur les résultats de dénombrement des moisissures isolées à partir de trois échantillons. Il s'agit des tests de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk pour lesquels les seuils de signification respectifs sont de 0,200 et 0,05.

**Tableau 32** : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats de dénombrement des moisissures isolées à partir des trois échantillons.

Échantillon	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
TE 1	,425	9	,000	,605	9	,000
TE 2	,430	9	,000	,610	9	,000
TE 3	,443	9	,000	,616	9	,000

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

Selon les résultats présentés dans le tableau 32, il apparaît que les valeurs de significations, obtenues pour la distribution des charges des moisissures isolées à partir des trois échantillons ET1, ET2 et ET3 sont inférieures aux seuils de significations de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk. De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$  ; le test paramétrique ANOVA ne peut être appliqué pour étudier l'effet de l'échantillon sur les

charges des moisissures isolées. Il sera remplacé par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

**b. Le test de Kruskal-Wallis**

Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des moisissures isolées sur les échantillons ET1, ET2 et ET3 sont représentés dans le tableau 33. Ce test est appliqué sur les rangs moyens, calculés par ce même test, des valeurs de dénombrement des moisissures à partir des trois échantillons.

**Tableau 33** : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des moisissures isolées à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3.

Échantillon	N	Rang moyen
TE 1	9	15,89
TE 2	9	14,06
TE 3	9	12,06
Total	27	

❖ **Les hypothèses**

$H_0$  : les trois rangs moyens sont égaux ( $r_{m1} = r_{m2} = r_{m3}$ ).

$H_1$  : les trois rangs moyens sont différents.

Les résultats du test de Kruskal Wallis appliqué sur les rangs moyens de dénombrement des moisissures isolées à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3 sont représentés dans le tableau 34.

**Tableau 34** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution de dénombrement des moisissures isolées à partir des échantillons ET1, ET2 et ET3.

	Moisissures
Khi-deux	1,053
ddl	2
Sig. asymptotique	,591

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

D'après les résultats représentés dans le tableau 34, nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue est supérieure au seuil de signification 0,05, ce qui nous permet d'accepter l'hypothèse  $H_0$  qui stipulée que les trois rangs moyens sont égaux. Nous concluons qu'il n'y a pas des différences significatives entre les charges des moisissures isolées sur les échantillons ET1, ET2 et ET3.

Donc, l'échantillon n'a pas un effet quantitativement significatif sur le nombre de moisissures isolées.

### **4.2 Effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement des moisissures**

Les résultats de dénombrement des moisissures sur les trois milieux de culture représentés par le tableau 31 montrent certaines différences :

- ✓ À partir de l'échantillon ET1 :
  - La charge des moisissures isolée sur le milieu ISP2 additionné de 5% d'NaCl est plus que 16 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP5 additionné de 5% d'NaCl et 40 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP4 additionné de 5% d'NaCl ;
  - La charge des moisissures isolée sur le milieu ISP2 additionné de 7,5% d'NaCl est 47,91 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP5 additionné de 7,5% d'NaCl et 67,64 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP4 additionné de 7,5% d'NaCl.
- ✓ À partir de l'échantillon ET2, la charge des moisissures isolée sur le milieu ISP5 additionné de 5% d'NaCl est 12,33 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP4 additionné de 5% d'NaCl et 16,82 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP2 additionné de 5% d'NaCl ;
- ✓ À partir de l'échantillon ET3 :
  - La charge des moisissures isolée sur le milieu ISP2 additionné de 5% d'NaCl est 16,66 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP5 additionné de 5% d'NaCl et 62,5 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP4 additionné de 5% d'NaCl ;
  - La charge des moisissures isolée sur le milieu ISP2 additionné de 7,5% d'NaCl est 18,75 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP5 additionné de 7,5% d'NaCl et 125 fois supérieure à celle obtenue sur le milieu ISP4 additionné de 7,5% d'NaCl.

L'ensemble de ses observations nous permettent de supposer la présence d'un effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement des moisissures.

De ce fait, nous allons procéder à une analyse statistique pour confirmer ou infirmer l'effet du milieu de culture sur les résultats de dénombrement moisissures.

#### 4.2.1 Analyse statistique sur l'effet du milieu de culture

##### a. Tests de normalité

###### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les variables suivent une loi normale.

$H_1$  : les variables ne suivent pas une loi normale.

###### ❖ La règle de décision

$p > 0,05$  :  $H_0$  est acceptée

$p \leq 0,05$  :  $H_0$  est rejetée

Deux tests de normalité, présentés dans le tableau 35, ont été réalisés sur les résultats de dénombrement des moisissures isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. Il s'agit des tests de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk pour lesquels les seuils de signification respectifs sont de 0,200 et 0,05.

**Tableau 35** : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution des charges des moisissures isolées sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5.

Milieu de culture	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
ISP2	,279	9	,042	,789	9	,015
ISP4	,254	9	,096	,715	9	,002
ISP5	,438	9	,000	,591	9	,000

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

Selon les résultats présentés dans le tableau 35, il apparaît que les valeurs de significations, obtenues pour la distribution des charges des moisissures isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 sont inférieures aux seuils de significations de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk.

De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$  ; le test Paramétrique ANOVA ne peut être appliqué pour étudier l'effet de milieu de culture sur la charge des moisissures isolées. Il sera remplacé par le test non paramétrique de Kruskal Wallis.

##### b. Le test de Kruskal-Wallis

Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des moisissures isolées sur les trois milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 sont représentés dans le tableau 36. Ce test est appliqué sur les rangs moyens, calculés par ce même test, des valeurs de dénombrement des moisissures sur chaque milieu de culture.

**Tableau 36** : Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des moisissures isolées sur les trois milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.

Milieu de culture	N	Rang moyen
ISP2	9	17,72
ISP4	9	9,17
ISP5	9	15,11
Total	27	

❖ **Les hypothèses**

$H_0$  : les trois rangs moyens sont égaux ( $r_{m1} = r_{m2} = r_{m3}$ ).

$H_1$  : il existe au moins deux rangs moyens sont différents.

Les résultats du test de Kruskal Wallis appliqué sur les rangs moyens des moisissures isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 sont représentés dans le tableau 37.

**Tableau 37** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Kruskal Wallis sur la distribution des moisissures isolées sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.

	Moisissure
Khi-deux	5,508
ddl	2
Sig. asymptotique	,064

ddl : degré de liberté.

D'après les résultats représentés dans le tableau 37, nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue (0,064) est légèrement supérieure au seuil 0,05, ce qui nous permet de rejeter l'hypothèse  $H_0$  qui stipulée que les trois rangs moyens sont égaux. Malgré cela, nous allons procéder à une comparaison deux-à-deux entre les rangs moyens obtenus sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. Pour cela, nous devons appliquer le test non paramétrique de Mann-Whitney.

**c. Test de Mann-Whitney**

Ce test est appliqué sur les rangs moyens des valeurs de dénombrement des moisissures isolées sur les trois milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5. Les résultats de ce test sont représentés dans le tableau 38.

**Tableau 38** : Valeurs de significations asymptotiques bilatérales obtenues de l'application du test Mann-Whitney de la distribution des moisissures isolées sur les milieux de culture (ISP2 et ISP4), (ISP2 et ISP5) et (ISP4 et ISP5).

	ISP2/ISP4	ISP2/ISP5	ISP4/ISP5
U de Mann-Whitney	14,000	33,500	23,500
W de Wilcoxon	59,000	78,500	68,500
Z	-2,342	-,619	-1,505
Sig. asymptotique (bilatérale)	,019	,536	,132

D'après les résultats représentés dans le tableau 38, nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue pour la comparaison ISP2/ISP4 (0,019) est inférieure au seuil de signification 0,05. De ce fait, nous concluons que les rangs moyens obtenus sur les milieux ISP2 et ISP4 sont significativement différents. La charge des moisissures isolées sur le milieu de culture ISP2 est significativement supérieure à celle isolée sur le milieu de culture ISP4.

Donc, le milieu de culture ISP2 est plus favorable à l'isolement des moisissures que le milieu de culture ISP4 ; ce qui est l'opposé de ce qui a été constaté par rapport à la flore actinomycétale.

Les autres valeurs de signification asymptotique obtenues sont supérieures au seuil de signification 0,05.

Il devient donc évident que le nombre de moisissures isolées augmente à mesure que le milieu d'isolement devient plus riche en substances nutritives. On peut constater que lorsque les milieux sont pauvres en nutriments, la compétition entre les moisissures diminue, ce qui permet aux actinomycètes de se développer. Par conséquent, on observe une diminution progressive de la population des actinomycètes à mesure que le milieu d'isolement devient plus riche, Le milieu de culture ISP2 se révèle être plus riche que les deux autres milieux. En effet, il est raisonnable de supposer que plus le milieu d'isolement est riche en sources nutritionnelles, plus il favorise la croissance des microorganismes à croissance rapide par rapport aux actinomycètes.

#### **4.3 Effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des moisissures**

À partir des résultats présentés dans le tableau 31, nous remarquons que :

- À partir de l'échantillon ET3 et sur le milieu ISP2, la charge des moisissures isolées à 7,5% d'NaCl est 18,75 fois supérieure à celle isolée sur 10% d'NaCl ;

- À partir de l'échantillon ET2 et sur le milieu ISP4, la charge des moisissures isolées à 5% d'NaCl est 3,75 fois supérieure à celle isolée sur 7,5% d'NaCl ;
- À partir de l'échantillon ET1 et sur le milieu ISP5 :
  - La charge des moisissures isolées à 5% d'NaCl est 4,62 fois supérieure à celle isolée sur 10% d'NaCl ;
  - La charge des moisissures isolées à 5% d'NaCl est 5 fois supérieure à celle isolée sur 7,5% d'NaCl.

L'ensemble de ses observations nous permettent de supposer la présence d'un effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des moisissures.

De ce fait, nous allons procéder à une analyse statistique pour confirmer ou infirmer l'effet de la concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement moisissures.

#### 4.3.1 Analyse statistique sur l'effet de la concentration d'NaCl

##### a. Tests de normalité

##### ❖ Les hypothèses

$H_0$  : les variables suivent une loi normale.

$H_1$  : les variables ne suivent pas une loi normale.

##### ❖ La règle de décision

$p > 0,05$  :  $H_0$  est acceptée

$p \leq 0,05$  :  $H_0$  est rejetée

Deux tests de normalité, présentés dans le tableau 39, ont été réalisés sur les résultats de dénombrement des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. Il s'agit des tests de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk pour lesquels les seuils de signification respectifs sont de 0,200 et 0,05.

**Tableau 39** : Tests de normalité Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov de la distribution de résultats les charges des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

NaCl	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistiques	ddl	Sig.	Statistiques	ddl	Sig.
5%	,351	9	,002	,669	9	,001
7,5%	,450	9	,000	,597	9	,000
10%	,502	9	,000	,410	9	,000

Sig : Signification ; ddl : degré de liberté.

Selon les résultats présentés dans le tableau 39, il apparaît que les valeurs de significations, obtenues pour la distribution des dénombrements des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl, sont inférieures aux seuils de significations de Kolmogorov-Smirnov et Shapiro-Wilk.

De ce fait, nous rejetons l'hypothèse  $H_0$  ; le test paramétrique ANOVA ne peut être appliqué pour étudier l'effet de l'échantillon sur la charge moisissure isolée. Il sera remplacé par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

**b. Test de Kruskal-Wallis**

Les rangs moyens des valeurs de dénombrement des moisissures isolées sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% d'NaCl sont représentés dans le tableau 40. Ce test est appliqué sur les rangs moyens, calculés par ce même test, des valeurs de dénombrement des moisissures sur chaque concentration.

**Tableau 40** : Les rangs moyens des valeurs de résultats de dénombrement des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

NaCl	N	Rang moyen
5%	9	18,50
7,5%	9	11,83
10%	9	11,67
Total	27	

❖ **Les hypothèses**

$H_0$  : les trois rangs moyens sont égaux ( $r_{m1} = r_{m2} = r_{m3}$ ).

$H_1$  : les trois rangs moyens sont différents.

Les résultats du test de Kruskal Wallis appliqué sur les rangs moyens des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl, sont représentés dans le tableau 41.

**Tableau 41** : Les rangs moyens des valeurs de résultats de dénombrement des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

	Moisissure
Khi-deux	4,353
ddl	2
Sig. Asymptotique	,113

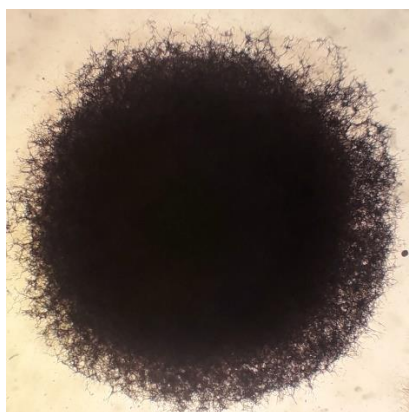
ddl : degré de liberté.

D'après les résultats représentés dans le tableau 41, nous constatons que la valeur de signification asymptotique obtenue est supérieure au seuil de signification 0,05, ce qui nous

permet d'accepter l'hypothèse  $H_0$  qui stipulée que les trois rangs moyens sont égaux. Nous concluons qu'il n'y a pas des différences significatives entre les charges des moisissures isolées à 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. Donc, le NaCl n'a pas un effet quantitativement significatif sur le nombre de moisissures isolées.

### 5. La purification et la conservation

La photographie de l'aspect filamenteux des colonies actinomycètes sous microscopes optique représente dans figure 10.



**Figure 10** : Photographie de l'aspect filamenteux des colonies d'actinomycètes souche S7 sous microscope optique (Objectif x 3,2).

Les codes donnés aux souches isolées à partir des trois échantillons sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl sont présentés dans le tableau 42.

**Tableau 42** : Le code des souches actinomycètes isolées à partir des trois échantillons sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
<b>ET1</b>				S85, S86, S87, S88, S89, S90			S7, S8		
<b>ET2</b>				S25, S26, S27	S46	S111	S61, S62, S63, S64		S65, S66, S67, S110
<b>ET3</b>			S129				S154, S155, S156, S157, S158, S159, S161, S162, S163, S169	S175, S176, S177, S178	

## 6. Test d'halophilie et d'halotolérance des isolats actinomycètes

Les résultats de ce test ont révélé que, à l'exception des isolats S46 et S111, tous les autres isolats ont montré une croissance en absence d'NaCl sur leur milieu d'isolement. Par conséquent, nous avons conclu que seuls les isolats S46 et S111, sont halophiles, tandis que tous les autres isolats sont halotolérants.

## 7. L'aptitude à la croissance

Les résultats de l'aptitude à la croissance de 36 souches isolées sur les milieux de cultures ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl sont présentés dans le tableau 43.

**Tableau 43** : La croissance des actinomycètes sur les milieux de cultures ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

Souche	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S7	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++
S8	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++
S25	+++	+++	+++	+++	++	+	++	++	+
S26	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++
S27	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++
S46	+	+	+	+	+	-	+	+	+
S61	++	++	++	+++	+++	++	+++	+++	+
S62	+++	+	+++	++	+++	+++	+++	+++	++
S63	+++	+	+++	++	+++	+++	+++	+++	++
S64	+++	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+
S65	+++	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++
S66	+++	+++	++	++	++	+	+++	+++	+++
S67	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++
S85	+++	+++	++	+	+++	++	+++	+++	+
S86	+++	+++	++	+	++	++	+++	+++	+
S87	+++	+++	++	+	++	++	+++	+++	+
S88	+++	+++	++	++	+++	+	+	++	+

+++ : Bonne croissance. ++ : Croissance modérée. + : Croissance faible. - : Absence de croissance.

**Tableau 43 (suite) :** La croissance des actinomycètes sur les milieux de cultures ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

Souche	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S89	+	+	+	+	+	-	+++	++	+
S90	++	++	++	+	++	+	++	+++	+++
S110	+++	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++
S111	-	-	-	-	-	+	+	++	+
S129	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
S154	++	+++	-	+	-	-	++	-	-
S155	++	+++	-	+	-	-	++	-	-
S156	++	+++	-	+	+	-	++	-	-
S157	++	+++	-	+	-	-	++	-	-
S158	++	++	-	+	-	+	++	-	-
S159	++	++	-	+	-	+	++	-	-
S161	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
S162	+++	++	+	+	+	++	+++	++	+
S163	+++	++	+	+	+	+	+	++	+
S169	+++	+	-	-	+	+	+	++	+
S175	+++	+	+	+	++	-	++	+	-
S176	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
S177	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
S178	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

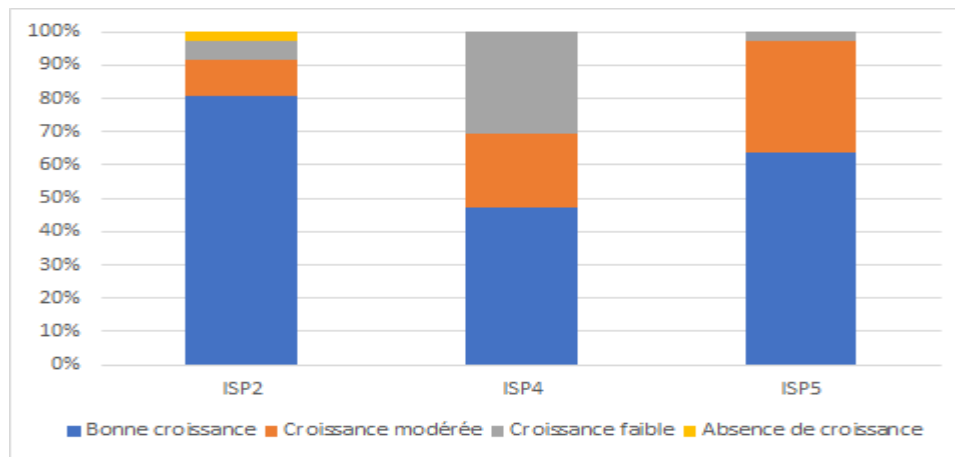
+++ : Bonne croissance. ++ : Croissance modérée. + : Croissance faible. - : Absence de croissance.

### 7.1 L'aptitude à la croissance sur les trois milieux de culture

D'après les résultats présentés dans tableau 43, nous remarquons que 35 souches actinomycètes sont capables de croître sur les trois milieux de culture, ce qui représente 97,22% de l'ensemble de tous les souches étudiées ; la souche S111 peut croître sur deux milieux de culture seulement (ISP4 et ISP5).

La figure 11 représente un histogramme empilé des pourcentages des isolats d'actinomycètes croissant sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 ainsi que la qualité de cette croissance.

Nous remarquons d'après la figure 11 que 80,55% des souches étudiées ont une bonne croissance sur le milieu de culture ISP2. 63,88% des souches actinomycètes ont une bonne croissance sur le milieu de culture ISP5 alors que le milieu ISP4 favorise une bonne croissance de 47,22% des souches seulement.



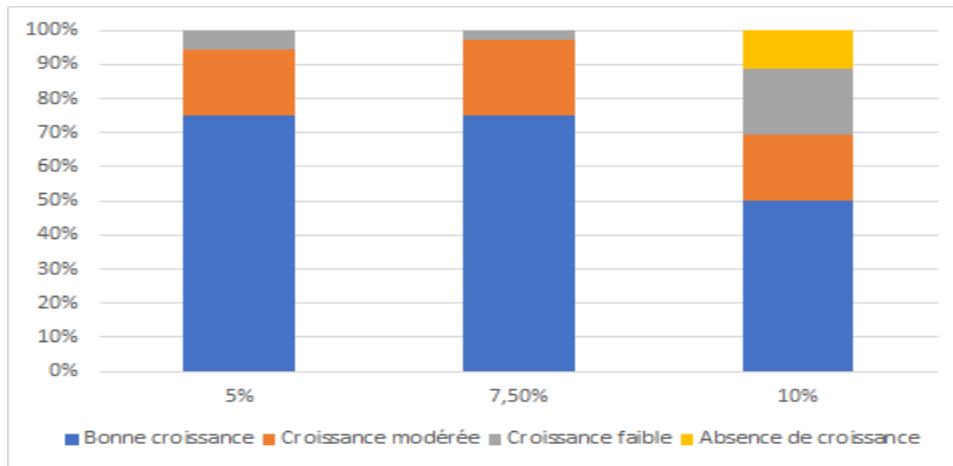
**Figure 11** : L’histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d’actinomycètes croissant sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 ainsi que la qualité de cette croissance.

La croissance sélective des actinomycètes sur ISP2 par rapport à ISP4 et ISP5 peut être expliquée par la composition spécifique du milieu de culture. L’ISP2 contient des composants spécifiques qui répondent aux besoins nutritionnels particuliers des actinomycètes, favorisant ainsi leur bonne croissance. Ces composants comprennent des sources de carbone, d’azote et d’autres nutriments essentiels qui sont mieux adaptés aux exigences spécifiques des actinomycètes.

### 7.2 L’aptitude à la croissance sur les différentes concentrations d’NaCl

D’après les résultats présentés dans tableau 43, nous remarquons que 32 souches actinomycètes sont capables de croître sur les trois concentrations d’NaCl, ce qui représente 88,88% de l’ensemble des souches étudiées ; les souches S154, S155, S156 et S157 sont aptes à croître seulement sur les concentrations de 5% et 7,5% d’NaCl. Donc, une absence de croissance a été constatée uniquement sur la concentration 10% d’NaCl.

La figure 12 représente un histogramme empilé des pourcentages des isolats d’actinomycètes croissant sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% ainsi que la qualité de cette croissance.



**Figure 12** : L’histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d’actinomycètes croissant sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% ainsi que la qualité de cette croissance.

Nous remarquons d’après la figure 12 que 75% des souches actinomycètes (27) ont une bonne croissance sur les concentrations 5% et 7,5% d’NaCl. Cependant, 50% des souches étudiées ont une bonne croissance sur la concentration de 10% d’NaCl.

La concentration 7,5% d’NaCl offre une sélectivité accrue par rapport à la concentration de 5% ; ce qui permet de réduire les contaminants et d’obtenir des cultures pures d’actinomycètes.

## 8. L’aptitude à la sporulation

Les résultats de la sporulation des actinomycètes sur les milieux ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d’NaCl sont présentés dans le tableau 44.

**Tableau 44** : Sporulation des actinomycètes sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d’NaCl.

Souche	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S7	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++
S8	+++	+++	+++	+	+++	+	+++	+++	++
S25	+++	++	-	++	+	-	++	-	-
S26	+++	+	+	++	++	+	+++	+++	+
S27	+++	+	+	++	++	+	+++	+++	+
S46	++	+	-	+	+	/	+	-	-
S61	+++	++	+	+++	+	++	+++	+++	-
S62	+++	-	++	++	++	++	+++	+++	++

+++ : Bonne Sporulation. ++ : Sporulation modérée. + : Sporulation faible. - : Absence de sporulation. / : Absence de croissance.

**Tableau 44 (suite) :** Sporulation des actinomycètes sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

Souche	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S63	+++	-	++	++	+++	+++	+++	+++	++
S64	+++	-	++	++	+++	+++	+++	+++	++
S65	+++	+++	+++	++	++	-	+++	+++	+++
S66	+	+	-	+	+	-	+	+	+
S67	+++	+++	+++	++	+++	-	+++	+++	+++
S85	+++	++	++	+	+++	+	+++	+++	+
S86	+++	+++	++	+	-	+	+++	+++	-
S87	+++	+++	-	+	-	++	+++	+++	+
S88	+++	+	-	+	++	-	-	-	-
S89	-	-	-	-	-	/	+++	+	-
S90	++	++	++	-	-	-	++	+++	+++
S110	+	+	+	+	+	-	+	+	+
S111	/	/	/	/	/	+	-	+	-
S129	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++
S154	++	+++	/	+	/	/	+	/	/
S155	++	+++	/	+	/	/	+	/	/
S156	++	+++	/	+	-	/	+	/	/
S157	++	+++	/	+	/	/	+	/	/
S158	++	++	/	+	/	+	+	/	/
S159	++	++	/	+	/	+	+	/	/
S161	+++	+++	+++	++	++	+++	+	+++	++
S162	++	++	-	+	+	+	+++	+	+
S163	+++	-	-	+	+	+	+	+	+
S169	++	/	/	-	+	+	+	-	-
S175	++	-	-	+	+	/	+	-	/
S176	+++	-	+	+++	++	+++	+++	+++	++
S177	+++	-	-	+++	++	+++	+++	+++	++
S178	+++	-	+++	+++	++	+++	+++	+++	++

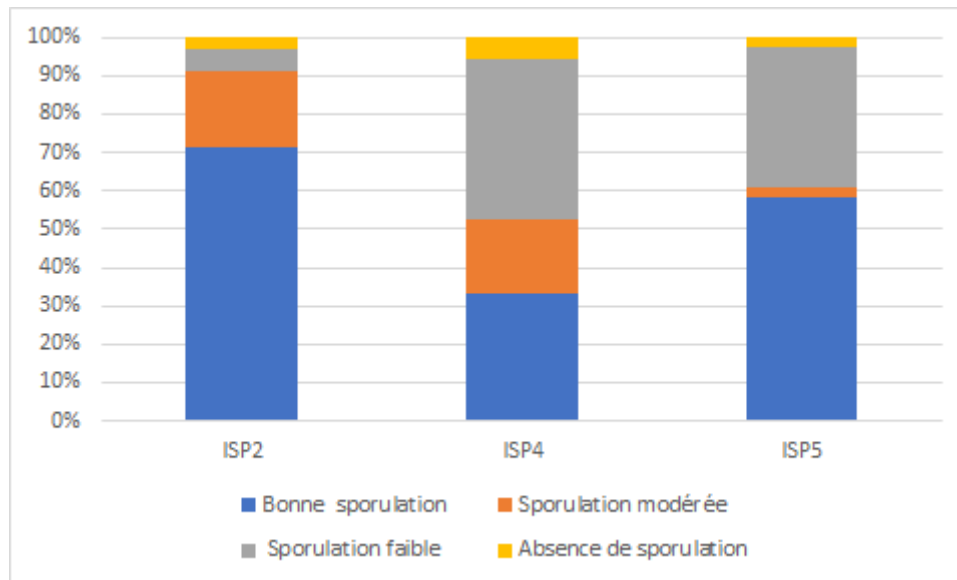
+++ : Bonne Sporulation. ++ : Sporulation modérée. + : Sporulation faible. - : Absence de sporulation. / : Absence de croissance.

### 8.1 L'aptitude à la sporulation sur les trois milieux de culture

D'après les résultats du tableau 44, nous remarquons que 32 souches d'actinomycètes sont capables de sporuler sur les trois milieux de culture, ce qui représente 88,88% de l'ensemble des souches étudiées. Les souches d'actinomycètes S88, S90 et S111 sporulant

sur deux milieux de culture seulement, alors que la souche S89 sporule seulement sur un milieu de culture, ISP5.

La figure 13 représente un histogramme empilé des pourcentages des isolats d'actinomycètes sporulant sur chaque milieu de culture et la qualité de cette croissance.



**Figure 13** : L'histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d'actinomycètes sporulant sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 ainsi que la qualité de cette croissance.

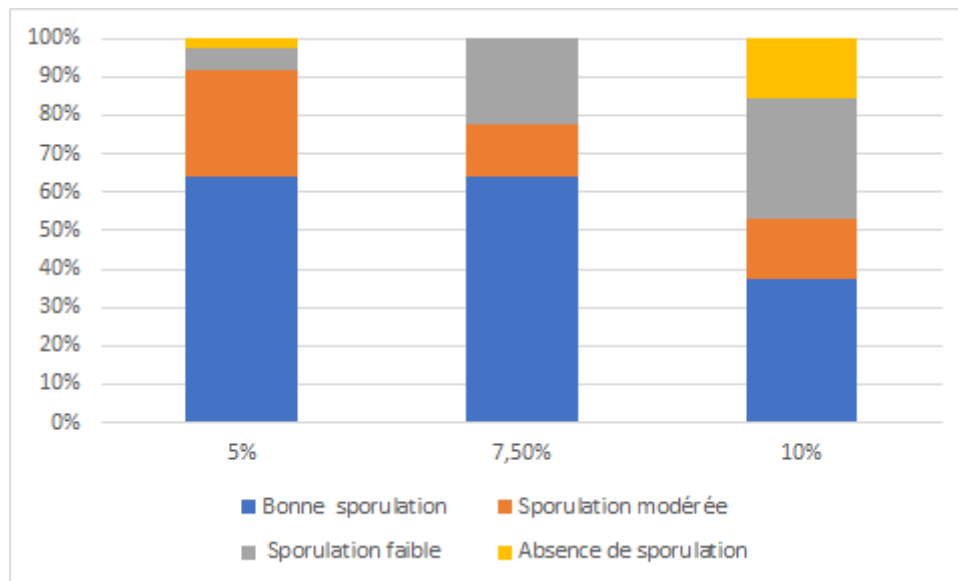
Nous remarquons également (Figure 13) que 71,42% des isolats actinomycètes capables de croître sur le milieu de culture ISP2 ont une bonne sporulation, alors 58,33% et 33,33% des actinomycètes croissant, respectivement, sur les milieux ISP5 et ISP4 manifestent une bonne sporulation.

Nous supposons que la capacité de sporulation des actinomycètes peut être influencée par le milieu de culture utilisé ; les différents composants présents dans les milieux de culture jouent un rôle clé dans la régulation des voies métaboliques et génétiques qui contrôlent ce processus chez les actinomycètes.

## 8.2 L'aptitude à la sporulation sur les concentrations d'NaCl

D'après les résultats dans le tableau 44, nous remarquons que 26 souches actinomycètes sont capables de sporuler sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% ce qui représente 72,22% de l'ensemble des souches étudiées. 10 souches actinomycètes sporulent sur deux concentrations d'NaCl, ce qui représente 27,77% de l'ensemble des souches étudiées.

La figure 14 représente un histogramme empilé des pourcentages des isolats d'actinomycètes sporulant sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% d'NaCl et la qualité de cette croissance.



**Figure 14** : L'histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d'actinomycètes sporulant sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% ainsi que la qualité de cette croissance.

Nous remarquons d'après la figure 14 que la bonne sporulation des actinomycètes est identique dans des concentrations de 5% et 7,5% d'NaCl, représentant toutes deux 63,88%. Cependant, elle est inférieure dans la concentration de 10%, représentant seulement 37,5%.

À noter que, contrairement aux concentrations 5% et 10%, la concentration 7,5% d'NaCl est la seule qui favorise la sporulation de toutes les souches croissantes.

## 9. L'aptitude à la production des pigments

Les résultats de l'aptitude à la production des pigments à partir les milieux de culture ISP2, ISP4, et ISP5 additionnés de 5%, 7,5 et 10% d'NaCl sont présentés dans le tableau 45.

**Tableau 45** : L'aptitude à la production des pigments à partir les milieux de culture ISP2, ISP4, et ISP5 additionnée 5%, 7,5 et 10% d'NaCl.

Souche	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S7	Marron non diffusible	Marron non diffusible	Marron diffusible	-	-	-	-	-	-
S8	Marron non diffusible	Marron non diffusible	Marron diffusible	-	-	-	-	-	Beige non diffusible
S25	Marron diffusible	Marron noire diffusible	Marron non diffusible	-	-	-	-	-	-
S26	Marron noire diffusible	Marron noire diffusible	Marron non diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible
S27	Marron noire diffusible	Marron noire diffusible	Verdâtre diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible
S46	-	-	-	Beige non diffusible	-	-	-	-	-
S61	Marron non diffusible	-	-	Verdâtre non diffusible	Verdâtre non diffusible	-	-	-	Marron non diffusible
S62	Jaune non diffusible	-	-	-	-	-	-	-	-
S63	Noir non diffusible	-	-	-	-	-	Verdâtre non diffusible	-	-
S64	Marron non diffusible	-	-	-	-	-	-	-	-

- : Pas de pigment. / : Absence de croissance.

**Tableau 45 (suite) :** L'aptitude à la production des pigments à partir les milieux de culture ISP2, ISP4, et ISP5 additionnés de 5%, 7,5 et 10% d'NaCl.

Souche	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S65	Marron claire diffusible	-	-	Rose non diffusible	-	-	-	Beige non diffusible	Beige diffusible
S66	Marron diffusible	-	-	Beige non diffusible	-	-	Beige non diffusible	Beige non diffusible	Beige diffusible
S67	Marron claire diffusible	-	-	-	-	-	Beige non diffusible	Beige non diffusible	Beige diffusible
S85	Beige non diffusible	Verdâtre non diffusible	Marron diffusible	-	Marron non diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	Marron diffusible	-
S86	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S87	-	-	-	-	-	-	-	Jaune non diffusible	-
S88	Verdâtre non diffusible	Verdâtre non diffusible	Marron diffusible	-	-	-	-	-	-
S89	-	-	-	-	-	/	-	-	-
S90	-	Marron diffusible	Marron non diffusible	-	-	-	Marron diffusible	Marron diffusible	Beige non diffusible
S110	Marron diffusible	-	-	-	-	-	-	Beige non diffusible	Beige diffusible
S111	/	/	/	/	/	-	-	-	-

- : Pas de pigment. / : Absence de croissance.

**Tableau 45 (suite) :** L’aptitude à la production des pigments à partir les milieux de culture ISP2, ISP4, et ISP5 additionnés de 5%, 7,5 et 10% d’NaCl.

Souche	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S129	Beige diffusible	Beige diffusible	Beige non diffusible	-	-	-	-	-	-
S154	-	-	/	-	/	/	-	/	/
S155	-	-	/	-	/	/	-	/	/
S156	-	-	/	-	-	/	-	/	/
S157	-	-	/	-	/	/	-	/	/
S158	-	-	/	-	/	-	-	/	/
S159	-	-	-	-	-	-	-	/	/
S161	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S162	Noir non diffusible	Noir non diffusible	Verdâtre non diffusible	-	-	-	Jaune non diffusible	-	-
S163	Noir non diffusible	-	-	-	-	-	-	-	-
S169	-	-	/	-	-	-	-	-	-
S175	-	-	-	-	-	/	-	-	/
S176	-	-	Jaune non diffusible	-	-	Jaune non diffusible	Jaune non diffusible	-	-
S177	Jaune non diffusible	-	Jaune non diffusible	-	-	Jaune non diffusible	Jaune non diffusible	-	-
S178	Noir non diffusible	-	Verdâtre non diffusible	-	-	-	Verdâtre non diffusible	-	-

- : Pas de pigment. / : Absence de croissance.

### 9.1 L'aptitude à la pigmentation sur les trois milieux de culture

D'après les résultats du tableau 45, nous remarquons 24 souches sont produire un pigment dans des condition déférente que 12 souches sont incapables de produire un pigment dans l'ensemble des conditions utilisé. Nous constatons que huit souches d'actinomycètes sont capables de produire un pigment sur les trois milieux de culture, ce qui représente 33,33%. De plus, 7 souches peuvent produire un pigment sur les deux milieux de culture, ce qui représente 29,16%. En outre, neuf autres souches peuvent produire un pigment sur un seul milieu de culture, ce qui représente 37,5% de l'ensemble des 24 souches étudiées productrices de pigment.

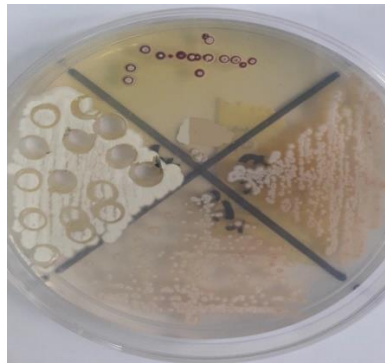
Nous remarquons que 13 souches actinomycètes capables de sécréter des pigments de différentes couleurs, dans les milieux ISP2, ISP4 et ISP5 additionnée 5%, 7,5% et 10% d'NaCl. Les pigments produits sont des couleurs différents :

- 14 souches actinomycètes offrent une production de pigments de couleur marron ;
- Trois souches actinomycètes offrent une production de pigments de couleur noire seulement dans ISP2 ;
- Sept souches actinomycètes offrent une production de pigments de couleur verdâtre ;
- Quatre souches actinomycètes offrent une production de pigments de couleur jaune ;
- Neuf souches actinomycètes offrent une production de pigments de couleur beige ;
- Un souche actinomycète offre une production d'un pigment de couleur rose.

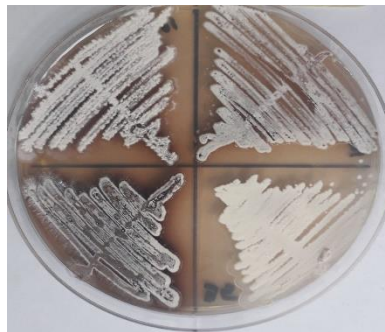
Les figures 15, 16 et 17 représentent la production des pigments dans des différent milieux de culture.



**Figure 15** : Production de pigment chez l'isolat S 26, S27 sur le milieu ISP2 5% d'NaCl.

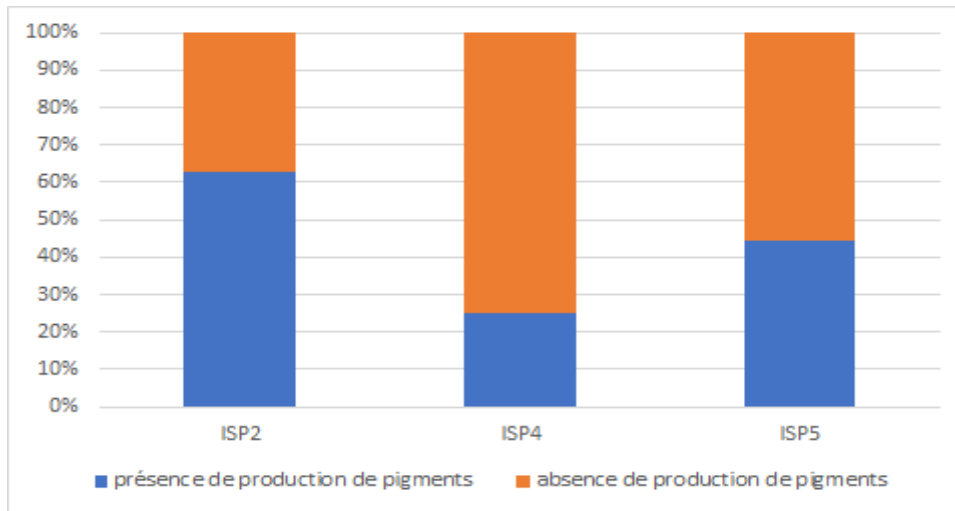


**Figure 16** : La production de pigment sur le milieu ISP5 5% d'NaCl par la souche S162.



**Figure 17** : La production de pigment sur le milieu ISP2 10% d'NaCl par les souches S90, S85 et S88.

La figure 18 représente un histogramme empilé des pourcentages des isolats d'actinomycètes productrices de pigments sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% NaCl.



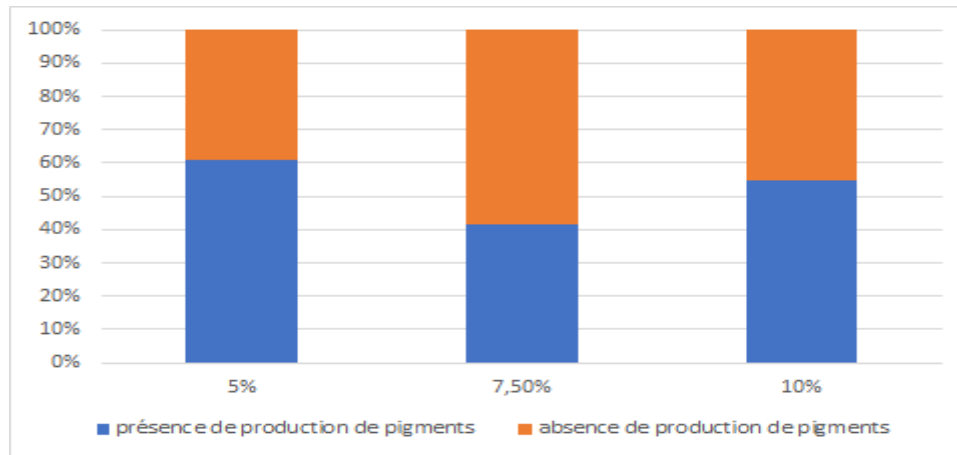
**Figure 18** : L’histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d’actinomycètes producteurs de pigment sur les milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5.

Nous remarquons d’après la figure 18 que le meilleur milieu de culture pour la production des pigments c’est le milieu ISP2 avec un pourcentage de 62,85% par rapport au milieu ISP5 (44,44%) et ISP4 (25%). Nous supposons que le milieu ISP2 est formulé avec des ingrédients spécifiques nécessaires à la croissance et à la production de pigments par les actinomycètes.

### 9.2 L’aptitude à la pigmentation sur les concentrations d’NaCl

D’après les résultats du tableau 45, nous remarquons que 15 souches d’actinomycètes sont capables de produire un pigment sur les trois concentrations d’NaCl, ce qui représente 62,5%. Les souches S176, S177 et S178 sont capables de produire un pigment seulement sur les concentrations de 5% et 10% d’NaCl, Alors que les souche S46, S62, S63, S64 et S163 sont capables de produire un pigment seulement sur la concentration 5% et S87 sur 7,5% d’NaCl.

La figure 19 représente un histogramme empilé des pourcentages des isolats d’actinomycètes productrices de pigment sur les concentrations 5%, 7,5% et 10% NaCl.



**Figure 19** : L’histogramme empilé 100% des pourcentages des isolats d’actinomycètes producteurs de pigment sur les concentrations 5%, 7,5% et 10%.

Nous remarquons d’après la figure 19 que la meilleure concentration d’NaCl pour la production des pigments c’est la concentration 5% avec un pourcentage de 61,11% par rapport au concentration 7,5% (41,66%) et 10% (54,54%).

## 10. Test d’activité antibactérienne

### 10.1 L’activité antibactérienne des isolats actinomycètes contre des bactéries-test (Wild-type ATCC)

Les résultats de l’activité antibactérienne des huit (08) isolats d’actinomycètes vis-à-vis *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Escherichia coli* (ATCC 25922) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d’NaCl sont représentés dans les tableaux 46 et 47.

**Tableau 46** : L’activité antibactérienne des isolats d’actinomycète vis-à-vis *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d’NaCl.

Souche	Activité vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923								
	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S7	11mm	15 mm	12mm	14mm	10mm	13mm	14mm	15mm	15mm
S8	14mm	18mm	15mm	18mm	10mm	13mm	9mm	10mm	6mm
S25	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S26	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S27	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S129	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S161	-	8 mm	-	-	-	-	-	-	-
S178	-	-	-	-	-	-	-	-	ND

- : Absence d’activité. ND : Non déterminer.

**Tableau 47** : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycète vis-à-vis *Escherichia coli* (ATCC 25922) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

Souche	Activité vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922								
	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S25	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S26	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S27	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S129	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S161	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S178	-	-	-	-	-	-	-	-	ND

- : Absence d'activité. ND : Non déterminer.

À partir de l'ensemble des résultats mentionnés dans les tableaux 46 et 47 on peut conclure que :

Sur les huit (8) isolats testés, seules trois souches d'actinomycètes S7, S8 et S161 ont montré une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ; aucune activité antimicrobienne n'a été détectée contre *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Les résultats obtenus dans le tableau 46 montrent que l'isolat S7 est capable d'inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) dans les milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5, ainsi que dans toutes les concentrations d'NaCl (5%, 7,5%, 10%). Dans le milieu ISP2, nous observons des zones d'inhibition avec un diamètre atteignant 15 mm. Dans le milieu ISP4, les zones d'inhibition produites par l'isolat S7 ont également un diamètre atteignant 14 mm. Quant au milieu ISP5, les zones d'inhibition sont également de taille considérable, avec un diamètre atteignant 15 mm. Ces mesures de diamètre des zones d'inhibition indiquent l'efficacité relative de l'activité antibactérienne de l'isolat S7 sur les différents milieux de culture. Une plus grande taille de la zone d'inhibition indique une meilleure capacité de l'isolat à inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) dans ces conditions spécifiques.

Bien que l'isolat S8 puisse se développer sur les trois autres milieux de culture et sur les trois concentrations d'NaCl, il produit des substances antimicrobiennes plus efficaces contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) dans les milieux ISP2 et ISP4 par rapport au milieu ISP5. Dans le milieu ISP2, l'isolat S8 forme des zones d'inhibition avec un diamètre plus important, atteignant 18 mm. Dans le milieu ISP4, les zones d'inhibition produites par l'isolat

S8 atteignent également le diamètre maximum de 18 mm, tandis que dans le milieu ISP5, les zones d'inhibition présentent le diamètre maximum de 10 mm. Ces mesures de diamètre des zones d'inhibition indiquent l'efficacité relative de l'activité antibactérienne de l'isolat S8 sur les différents milieux de culture.

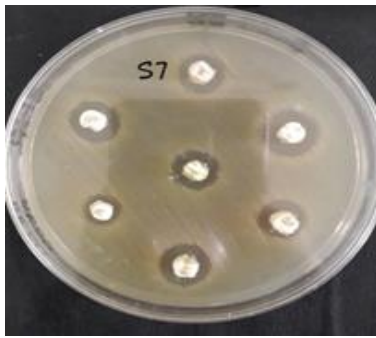
L'isolat S161 est capable d'inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) uniquement sur le milieu de culture ISP2 et la concentration d'NaCl (7,5%). L'effet du milieu de culture est bien évident chez l'isolat S161, qui ne peut montrer son activité contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) qu'à partir de certains milieux de culture, et non pas d'autres, même s'ils sont favorables à sa croissance.

Nous remarquons qu'il y a peu d'isolats capables d'inhiber la croissance de la bactérie-test *Staphylococcus aureus*. De plus, les zones d'inhibition observées pour ces isolats ne dépassent pas 18 mm de diamètre, obtenu par l'isolat S8. Ainsi, l'isolat S8 se révèle être la souche la plus compétente dans cet aspect.

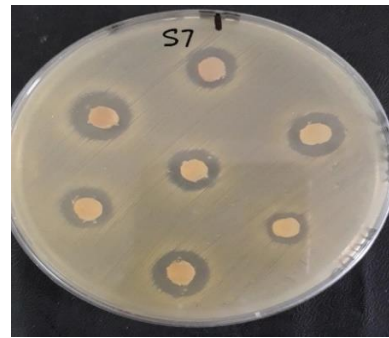
À partir des résultats de tableau 47 nous constatons également que *Escherichia coli* (ATCC 25922) présente une résistance aux substances antibactériennes produites par les trois souches actinomycètes S7, S8 et S161.

Le milieu de culture joue un rôle essentiel en fournissant les précurseurs nécessaires à la production d'antibiotiques par les microorganismes, ce qui permet d'obtenir une production d'antibiotiques importante et efficace.

Les figures 20, 21, 22 et 23 représentent les zones d'inhibition de certains isolats contre la bactérie *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

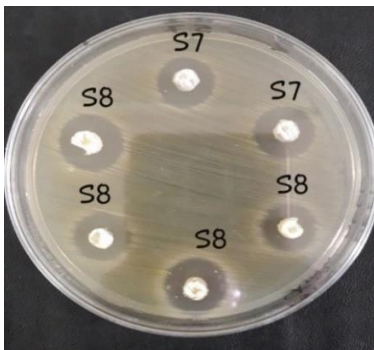


SURFACE

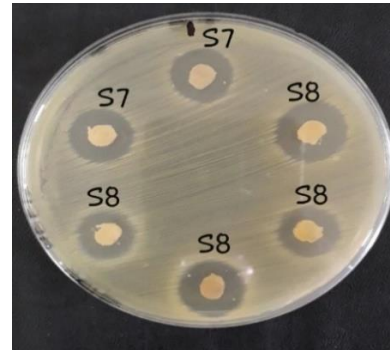


REVERS

**Figure 20** : Photographie des zones d'inhibition de l'isolat S7 vis-à-vis *S. aureus* (ATCC 25923) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

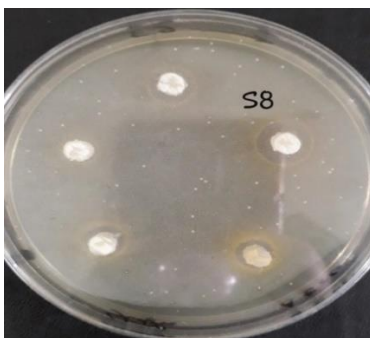


SURFACE

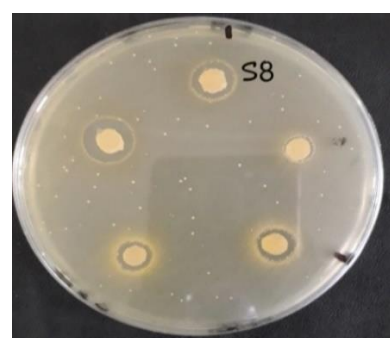


REVERS

**Figure 21** : Photographie des zones d'inhibition des isolats S7 et S8 vis-à-vis *S. aureus* (ATCC 25923) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

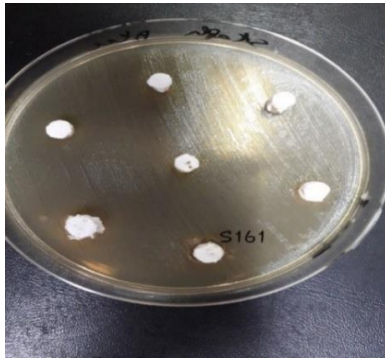


SURFACE

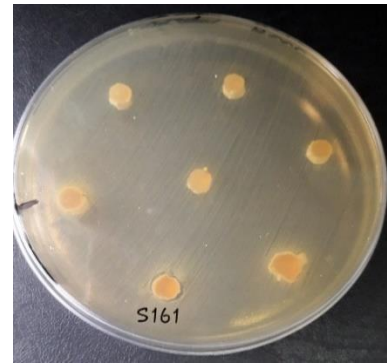


REVERS

**Figure 22** : Photographie des zones d'inhibition de l'isolat S8 vis-à-vis *S. aureus* (ATCC 25923) à partir des milieux de culture, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.



SURFACE



REVERS

**Figure 23:** Photographie de la zone d'inhibition de l'isolat S161 vis-à-vis *S. aureus* (ATCC 25923) à partir le milieu de culture, ISP2 additionné de 7,5% d'NaCl.

### 10.2 L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes contre des bactéries multirésistantes

Huit (8) isolats ont été sélectionnés pour le test d'activité contre des bactéries multirésistantes. Les résultats de ce test sont représentés dans les tableaux 48 et 49.

**Tableau 48 :** L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycète vis-à-vis *Staphylococcus aureus* à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

Souche	<i>Staphylococcus aureus</i>								
	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S7	11mm	16mm	15mm	12mm	11mm	15mm	12mm	11mm	11mm
S8	12mm	16mm	12mm	13mm	11,1mm	16,1mm	11,1mm	10,1mm	8,1mm
S25	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S26	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S27	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S129	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S161	-	8mm	-	-	-	-	-	-	-
S178	-	-	-	-	-	-	-	-	ND

- : Absence d'activité. ND : Non déterminer.

**Tableau 49** : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycète vis-à-vis *Escherichia coli* à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

Souche	<i>Escherichia coli</i>								
	ISP2			ISP4			ISP5		
	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%	5%	7,5%	10%
S7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S25	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S26	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S27	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S129	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
S161	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S178	-	-	-	-	-	-	-	-	ND

- : Absence d'activité. ND : Non déterminer.

À partir des résultats présentés dans le tableau 48, nous constatons que :

- Sur un ensemble de huit (8) isolats actifs, nous remarquons que trois isolats manifestent une activité contre une seule bactérie multirésistante ; il s'agit des isolats S7, S8 et S161.
- La bactérie multirésistante *S. aureus* est sensible aux substances bioactives de trois isolats qui a engendré la plus grande zone d'inhibition (16,1 mm) par l'isolat S8.

À partir les résultats de tableau 49 nous constatons que aucune activité n'a été observée contre la bactérie multirésistante *Escherichia coli*, ce qui indique que les substances bioactives produites par les isolats testés ne sont pas efficaces contre elle.

La comparaison entre les résultats du test d'activité contre les bactéries de souches sauvages (ATCC) et les résultats du test contre les bactéries multirésistantes a révélé :

- Les isolats S7, S8 et S161, qui ont montré une activité contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), n'ont pas perdu cette activité contre *Staphylococcus aureus* multirésistante ;
- De plus, l'isolat S8 a également montré les plus grandes zones d'inhibition, avec un diamètre de 18 mm pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et de 16,1 mm pour *Staphylococcus aureus* multirésistante, sur les milieux ISP2 et ISP4 ;
- L'isolat S161 a montré une activité contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) avec un diamètre d'inhibition relativement faible de 8 mm. Il a également montré une activité

contre la souche multirésistante de *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de 8 mm sur le milieu ISP2 ;

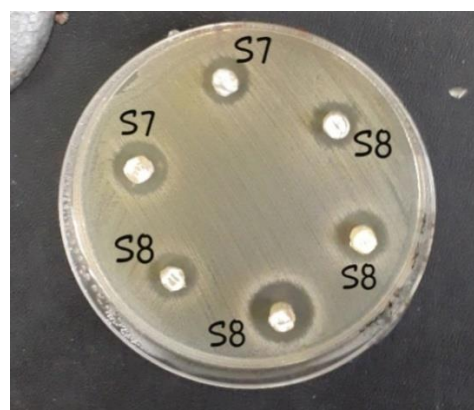
- L'isolat S7 a également montré un diamètre d'inhibition atteignant de 15 mm contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et un diamètre d'inhibition atteignant 16 mm contre *Staphylococcus aureus* multirésistante.

L'ensemble de ces résultats nous permet de constater que la souche multirésistante *S. aureus* n'a montré aucune capacité de résistance contre les molécules produites par les isolats S7, S8 et S161, en particulier dans le milieu ISP2 ; vu que les diamètres des zones d'inhibition sont très proches.

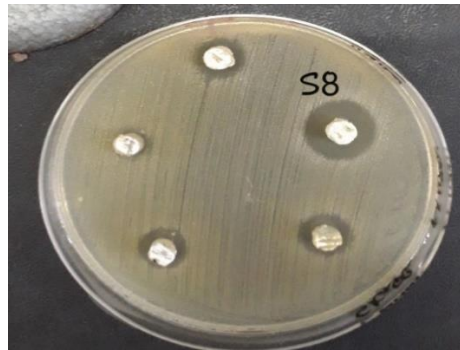
Les figures 24, 25, 26 et 27 représentent les zones d'inhibition de certains isolats contre la bactérie multirésistante *S. aureus*.



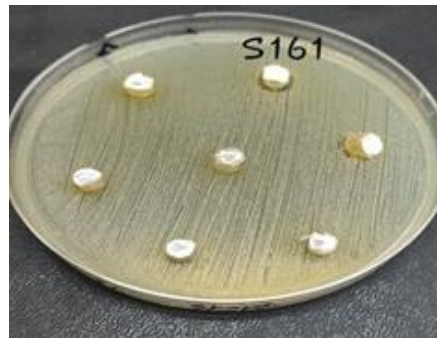
**Figure 24** : Photographie des zones d'inhibition de l'isolat S7 vis-à-vis *S. aureus* à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.



**Figure 25** : Photographie des zones d'inhibition des isolats S7 et S8 vis-à-vis *S. aureus* à partir des milieux de culture ISP2, ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.



**Figure 26** : Photographie des zones d'inhibition de l'isolats S8 vis-à-vis *S. aureus* à partir des milieux de culture ISP4, ISP5 additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.



**Figure 27** : Photographie de la zone d'inhibition de L'isolat S161 vis-à-vis *S. aureus* multirésistante à partir le milieu de culture ISP2 additionnés de 7,5% d'NaCl.

**CONCLUSION  
ET  
PERSPECTIVES**

### Conclusion

Afin d'étudier la biodiversité du sol de la Sabkha Et Tarf situées au niveau de la wilaya d'Oum El Bouaghi nous avons adopté un protocole d'isolement basé sur trois milieux de culture (ISP2, ISP4 et ISP5) additionnés de 5%, 7,5% et 10% d'NaCl.

L'analyse physico-chimique a révélé que les trois échantillons de sol de la Sabkha Et Tarf présentent un pH basique, une salinité extrême, un taux très élevé de matière organique et un taux d'humidité modéré. Les valeurs de conductivité et de pH obtenues permettent de classifier les trois échantillons comme des écosystèmes extrêmes. D'autres part, ces résultats nous ont incités à ajuster le pH à 8,0 et à ajouter du NaCl aux milieux d'isolement afin de reproduire au mieux les conditions prévalant dans ces trois écosystèmes extrêmes.

L'isolement réalisé nous a permis de constater la présence d'une flore actinomycète riche dans les échantillons de sol allant de  $1,4 \cdot 10^3$  UFC/g à  $18 \cdot 10^4$  UFC/g de l'échantillon ET1 et de  $7 \cdot 10^2$  UFC/g à  $6 \cdot 10^4$  UFC/g de l'échantillon ET2 et de  $1,6 \cdot 10^3$  UFC/g à  $4,3 \cdot 10^5$  UFC/g de l'échantillon ET3 sur les milieux additionnés d'NaCl.

La flore bactérienne non filamenteuse isolée avait une charge qui varie de  $2 \cdot 10^2$  UFC/g à  $1,89 \cdot 10^6$  UFC/g de l'échantillon ET1 et de  $3,2 \cdot 10^3$  UFC/g à  $2,7 \cdot 10^6$  UFC/g de l'échantillon ET2, et de  $2 \cdot 10^4$  UFC/g à  $2,2 \cdot 10^6$  UFC/g de l'échantillon ET3.

La flore fongique (moisissures) isolée avait une charge qui varie de  $1,7 \cdot 10^3$  UFC/g à  $2 \cdot 10^6$  UFC/g de l'échantillon ET1 et de  $8 \cdot 10^2$  UFC/g à  $2,75 \cdot 10^5$  UFC/g de l'échantillon ET2 et de  $4 \cdot 10^2$  UFC/g à  $5 \cdot 10^4$  UFC/g de l'échantillon ET3.

Une analyse statistique a été appliquée sur les résultats de dénombrement afin de déterminer un éventuel effet des facteurs « échantillon », « concentration d'NaCl » et « milieu de culture » sur l'isolement de la flore actinomycétale à partir des trois échantillons de sol.

Les résultats du test de Kruskal-Wallis ont mis en évidence la présence d'un effet du milieu de culture, sur l'isolement de la flore actinomycétale à partir des trois échantillons de sol. Les résultats du test de Mann-Whitney ont révélé que le milieu de culture ISP4 est le plus favorable à l'isolement des actinomycètes, par rapport au milieu ISP2. À partir de cela, nous avons postulé une autre hypothèse : « plus le milieu d'isolement est riche en source nutritionnelles, plus il sera favorable au développement des microorganismes compétitifs des actinomycètes ». Une analyse statistique appliquée sur les résultats du dénombrement

des bactéries non-actinomycétales et des moisissures nous a permis de confirmer cette hypothèse.

Les résultats du test de Kruskal-Wallis ont révélé également la présence d'un effet du milieu de culture, sur l'isolement de la flore des moisissures à partir des trois échantillons de sol. De plus, le test de Mann-Whitney a démontré que le milieu de culture ISP2 était plus efficace que le milieu ISP4 pour l'isolement des moisissures. Les milieux de cultures utilisés n'avaient pas d'effet significatif sur l'isolement de la flore bactérienne selon l'étude statistique effectuée.

L'étude des caractères cultureux a révélé que les isolats montrent une préférence pour le milieu ISP2 en ce qui concerne leur croissance, leur sporulation et la production de pigments. De plus, les souches d'actinomycètes ont montré une préférence pour les concentrations 5% et 7,5% d'NaCl en ce qui concerne leur croissance et leur sporulation. La concentration optimale d'NaCl pour la production de pigments s'est avérée être 5% d'NaCl.

Le test d'activité antibactérienne des huit (8) isolats d'actinomycètes, vis-à-vis les bactéries test *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) à partir des milieux de culture ISP2, ISP4 et ISP5 additionnés de 5%, 7,5%, 10% d'NaCl, a révélé que trois souches actinomycètes possèdent une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) seulement. Il s'agit des souches S7, S8 et S161 avec des zones d'inhibitions qui ne dépassent pas les 18 mm, diamètre obtenu par l'isolat S8.

L'effet du milieu de culture sur la production de substances actives contre une bactérie-test est clairement démontré par le fait que certains isolats montrent leur capacité de production sur certains milieux de culture et non pas sur d'autres, même s'ils sont capables de se développer dans ces milieux. Le milieu ISP2 se distingue des autres milieux de culture en révélant une activité antibactérienne chez les trois isolats vis-à-vis de la bactérie-test.

Lors du test d'activité antibactérienne mené sur huit isolats sélectionnés contre des bactéries multirésistantes, il a été observé que les isolats S7, S8 et S161 présentaient une activité significative contre la souche multirésistante de *S. aureus*. Plus précisément, l'isolat S8 s'est avéré être le plus efficace en termes d'inhibition de la croissance de *S. aureus*, avec une zone d'inhibition mesurant 16,1 mm. Cette constatation indique que l'isolat S8 possède une activité antimicrobienne notable et qu'il est le plus efficace parmi les isolats testés pour inhiber la croissance de la souche multirésistante de *S. aureus*.

### **Perspective**

Nous estimons que ce travail peut être un point de départ vers :

- Une identification des flores actinomycétales, bactérienne et fongique isolée ;
- Continuer le test d'activité antibactérienne pour les autres isolats actinomycètes vis-à-vis d'autres bactéries-test ;
- Purification, identification et optimisation de production des molécules bioactives d'intérêt produites.

**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

### Site Internet 1 :

[https://fr.getamap.net/cartes/algeria/oum\\_el\\_bouaghi/\\_tarf\\_guerrahet](https://fr.getamap.net/cartes/algeria/oum_el_bouaghi/_tarf_guerrahet).

## A

AbdElgawad, H., Abuelsoud, W., Madany, M. M., Selim, S., Zinta, G., Mousa, A. S., & Hozzein, W. N. (2020). Actinomycetes enrich soil rhizosphere and improve seed quality as well as productivity of legumes by boosting nitrogen availability and metabolism. *Biomolecules*, *10*(12), 1675. doi: 10.3390/biom10121675.

Ali, I., Suhail, M., & Asnin, L. (2017). Chiral separation of quinolones by liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of separation science*, *40*(14), 2863-2882. doi: 10.1002/jssc.201700200.

Artiola, J. F., Walworth, J. L., Musil, S. A., & Crimmins, M. A. (2019). Soil and land pollution. *In Environmental and pollution science* (pp. 219-235). Academic Press.

Aslam, S., and Sajid, I. (2016). Antimicrobial potential of halophilic actinomycetes against multi drug resistant (MDR) ventilator associated pneumonia causing bacterial pathogens. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, *29*(2), 367-74.

## B

Badji, B., Riba, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2005). Activité antifongique d'une souche d'*Actinomadura* d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxigènes. *Journal de Mycologie Medicale*, *15*(4), 211-219.

Ballav, S., Kerkar, S., Thomas, S., & Augustine, N. (2015). Halophilic and halotolerant actinomycetes from a marine saltern of Goa, India producing anti-bacterial metabolites. *Journal of bioscience and bioengineering*, *119*(3), 323-330. doi: 10.1016/j.jbiosc.2014.08.017.

Barakate, M., Ouhdouch, Y., Oufdou, K. H., & Beaulieu, C. (2002). Characterization of rhizospheric soil *streptomycetes* from Moroccan habitats and their antimicrobial activities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *18*(1), 49-54. doi:10.1023/a:1013966407890.

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., Meier-Kolthoff, J.P., Klenk, H.P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2015). Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. *Microbiology and molecular biology reviews*, *80*(1), 1-43. doi:10.1128/MMBR.00019-15.

Bastide, A., De Méo, M., Andriantsoa, M., Laget, M., & Duménil, G. (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. *MIRCEN journal of applied microbiology and biotechnology*, 2, 453-466.

Beskrovnaya, P., Sexton, D. L., Golmohammadzadeh, M., Hashimi, A., & Tocheva, E. I. (2021). Structural, metabolic and evolutionary comparison of bacterial endospore and exospore formation. *Frontiers in microbiology*, 12, 630573. doi: 10.3389/fmicb.2021.630573.

Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial pathogenesis*, 111, 458-467. doi: 10.1016/j.micpath.2017.09.036.

Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2018). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), S173-S183.

Bush, K. (2004). Antibacterial drug discovery in the 21st century. *Clinical Microbiology and Infection*, 10, 10-17. doi: 10.1111/j.1465-0691.2004.1005. x.

Bush, K., Bradford P. A. (2016).  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: *An Overview*. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 6(8), a025247. doi: 10.1101/cshperspect. a025247.

## C

Cavallo, J. D., & Mérens, A. (2008). Spectre d'activité antibactérien d'un antibiotique et catégorisation clinique. *Pathologie Biologie*, 56(5), 300-304.

Chopra, I., Hesse, L., & O'Neill, A. J. (2002). Exploiting current understanding of antibiotic action for discovery of new drugs. *Journal of applied microbiology*, 92(s1), 4S-15S. doi:10.1046/j.1365-2672.92.5s1.13.x 10.1046/j.1365-2672.92.5s1.13.x

Chu, S., Hu, W., Zhang, K., & Hui, F. (2022). Breeding of High Daptomycin-Producing Strain by Streptomycin Resistance Superposition. *Polish Journal of Microbiology*, 71(3), 463-471. doi: 10.33073/pjm-2022-041.

## D

Daquioag, J. E. L., & Penuliar, G. M. (2021). Isolation of actinomycetes with cellulolytic and antimicrobial activities from soils collected from an urban green space in the Philippines. *International journal of microbiology*, 2021, 1-14. doi: 10.1155/2021/6699430.

Das, S., Lyla, P. S., & Ajmal Khan, S. (2008). Distribution and generic composition of culturable marine actinomycetes from the sediments of Indian continental slope of Bay of Bengal. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 26, 166-177. <https://doi.org/10.1007/s00343-008-0166-5>.

De Deyn, G. B., & Kooistra, L. (2021). The role of soils in habitat creation, maintenance and restoration. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 376(1834), 20200170. doi: 10.1098/rstb.2020.0170.

Dhiman, P., Arora, N., Thanikachalam, P. V., & Monga, V. (2019). Recent advances in the synthetic and medicinal perspective of quinolones: A review. *Bioorganic Chemistry*, 92, 103291. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.103291.

Dilip, C. V., Mulaje, S. S., & Mohalkar, R. Y. (2013). A review on actinomycetes and their biotechnological application. *International Journal of pharmaceutical sciences and research*, 4(5), 1730.

Djaballah C. (2021). *Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés à partir de trois sites Ramsar situés au niveau de la Wilaya d'Oum El Bouaghi*. Thèse de doctorat, département de microbiologie, Université Frères Mentouri-Constantine 1.

## E

El Oumlouki, K., Moussadek, R., Zouahri, A., & Dakak, H. (2014). Étude de la qualité physico-chimique des eaux et des sols de La région sous massa, (cas de périmètre issen), Maroc (study of physic-chemical quality of water and soil in the region sous massa (case perimeter issen), morocco). *J. Mater. Environ. Sci*, 5, 2365-2374.

## G

Gazenko, S. V., Reponen, T. A., Grinshpun, S. A., & Willeke, K. (1998). Analysis of airborne actinomycete spores with fluorogenic substrates. *Applied and environmental microbiology*, 64(11), 4410-4415. doi: 10.1128/AEM.64.11.4410-4415.1998.

Genilloud, O. (2017). Actinomycetes: still a source of novel antibiotics. *Natural product reports*, 34(10), 1203-1232. doi: 10.1039/c7np00026j.

Girard, G., Willemse, J., Zhu, H., Claessen, D., Bukarasam, K., Goodfellow, M., & van Wezel, G. P. (2014). Analysis of novel *kitasatosporae* reveals significant evolutionary changes in

conserved developmental genes between *Kitasatospora* and *Streptomyces*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106, 365-380. doi: 10.1007/s10482-014-0209-1.

Goodfellow, M. (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, eds M. Goodfellow, P. Kampfer, H.-J. Busse, ME Trujillo, K.-I. Suzuki, W. Ludwig, and B. Whitman Parte A(eds) vol 5, 2nd edn, (New York, NY: Springer), 33-34.

Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual review of microbiology*, 37(1), 189-216. doi: 10.1146/annurev.mi.37.100183.001201.

Goulding, K. W. T. (2016). Soil acidification and the importance of liming agricultural soils with particular reference to the United Kingdom. *Soil use and management*, 32(3), 390-399. doi : 10.1111/sum.12270.

Guillot, J. F. (1989). Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. In *Annales de recherches vétérinaires* (Vol. 20, No. 1, pp. 3-16).

Guillot, J. F. (1990). Bases moléculaires et épidémiologiques de l'antibiorésistance bactérienne. In *Annales de Recherches Vétérinaires* (Vol. 21, No. 1, pp. 1-11).

## H

Hajiahmadi, F., Alikhani, M. Y., Shariatifar, H., Arabestani, M. R., & Ahmadvand, D. (2019). The bactericidal effect of lysostaphin coupled with liposomal vancomycin as a dual combating system applied directly on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infected skin wounds in mice. *International journal of nanomedicine*, 5943-5955. doi: 10.2147/IJN.S214521.

Hamedi, J., Mohammadipanah, F., & Ventosa, A. (2013). Systematic and biotechnological aspects of halophilic and halotolerant actinomycetes. *Extremophiles*, 17, 1-13. doi: 10.1007/s00792-012-0493-5.

Hazarika, S. N., & Thakur, D. (2020). *Actinobacteria*. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 443-476). Academic Press. doi:10.1016/b978-0-12-823414-3.00021-6.

Hoel, D., Williams, D. N. (1997). Antibiotics: Past, present, and future: Unearthing nature's magic bullets. *Postgraduate medicine*, 101(1), 114-122. doi: 10.3810/pgm.1997.01.139.

## J

- Jonsbu, E., Christensen, B., & Nielsen, J. (2001). Changes of in vivo fluxes through central metabolic pathways during the production of nystatin by *Streptomyces noursei* in batch culture. *Applied microbiology and biotechnology*, 56, 93-100. doi: 10.1007/s002530100613.
- Joyner, Kayla R., Walkerly, A., Seidel, K., Walsh, N., Damshekan, N., Perry, T., & Soric, Mate M. (2020). comparison of narrow-versus broad-spectrum antibiotics in elderly patients with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Pharmacy Practice*, 35(1), 26-31. doi:10.1177/0897190020938190.

## K

- Kalakoutskii, L. V., & Agre, N. S. (1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriological reviews*, 40(2), 469-524. doi: 10.1128/br.40.2.469-524.1976.
- Kassah-Laouar, A. (2020). De la définition princeps à la totorésistance. *Revue Aurassienne du laboratoire*, 29.
- Kato, M., Asamizu, S., & Onaka, H. (2022). Intimate relationships among actinomycetes and mycolic acid-containing bacteria. *Scientific Reports*, 12(1), 7222. doi: 10.1038/s41598-022-11406-2.
- Kazimierczak, P., Golus, J., Kolmas, J., Wojcik, M., Kolodynska, D., Przekora, A. (2022). Noncytotoxic zinc-doped nanohydroxyapatite-based bone scaffolds with strong bactericidal, bacteriostatic, and antibiofilm activity. *Biomater Adv*, (139):213011. doi: 10.1016/j.bioadv.2022.213011.
- Kim, S. B., Lonsdale, J., Seong, C. N., & Goodfellow, M. (2003). *Streptacidiphilus* gen. nov., acidophilic actinomycetes with wall chemotype I and emendation of the family *Streptomycetaceae* (Waksman and Henrici (1943) AL) emend. Rainey *et al.* 1997. *Antonie van Leeuwenhoek*, 83, 107-116. doi: 10.1023/a:1023397724023.
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol*. 8(6):423-35. doi: 10.1038/nrmicro2333.

Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., Hayete, B., Lawrence, C. A., & Collins, J. J. (2007). A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*, *130*(5), 797-810. doi: 10.1016/j.cell.2007.06.049.

## L

LaPlante, K. L., Dhand, A., Wright, K., & Lauterio, M. (2022). Re-establishing the utility of tetracycline-class antibiotics for current challenges with antibiotic resistance. *Annals of Medicine*, *54*(1), 1686-1700. doi: 10.1080/07853890.2022.2085881.

Lechevalier, H. A., & Lechevalier, M. P. (1967). Biology of actinomycetes. *Annual Reviews in Microbiology*, *21*(1), 71-100. doi: 10.1146/annurev.mi.21.100167.000443.

Lee, J. Y., & Hwang, B. K. (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology*, *48*(5), 407-417. doi : 10.1139/w02-025.

Leiva, S., Yáñez, M., Zaror, L., Rodríguez, H., & García-Quintana, H. (2004). Actividad antimicrobiana de actinomycetes aislados desde ambientes acuáticos del sur de Chile. *Revista médica de Chile*, *132*(2), 151-159. doi: 10.4067/s0034-98872004000200003.

Lenz, K. D., Klosterman, K. E., Mukundan, H., & Kubicek-Sutherland, J. Z. (2021). Macrolides: from toxins to therapeutics. *Toxins*, *13*(5), 347. doi: 10.3390/toxins13050347.

Li, Y., & Li, G. (2022). Mechanisms of straw biochar's improvement of phosphorus bioavailability in soda saline-alkali soil. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(32), 47867-47872. doi: 10.1007/s11356-022-20489-3.

Lipsett, S. C., Hall, M., Ambroggio, L., Hersh, A. L., Shah, S. S., Brogan, T. V., Gerber, J.S., Williams, D.J., Grijalva, C.G., Blaschke, A.J., & Neuman, M. I. (2021). Antibiotic choice and clinical outcomes in ambulatory children with community-acquired pneumonia. *The Journal of pediatrics*, *229*, 207-215. doi: 10.1016/j.jpeds.2020.10.005.

Lü, J., Long, Q., Zhao, Z., Chen, L., He, W., Hong, J., ... & Tao, M. (2020). Engineering the erythromycin-producing strain *Saccharopolyspora erythraea* HOE107 for the heterologous production of polyketide antibiotics. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 593217. doi: 10.3389/fmicb.2020.593217.

## M

Mahajan, G. B., & Balachandran, L. (2012). Antibacterial agents from actinomycetes-a review. *Frontiers in Bioscience-Elite*, 4(1), 240-253. doi: 10.2741/373.

Malek, N.A., Chowdhury, A.J., Zainuddin, Z., Azira, Z., & Abidin, Z.U. (2014). Selective isolation of actinomycetes from mangrove forest of Pahang, Malaysia. <https://doi.org/10.17758/iaast.a1214007>.

Menasria, T., Monteoliva-Sánchez, M., Benhadj, M., Benammar, L., Boukoucha, M., & Aguilera, M. (2022). Unraveling the enzymatic and antibacterial potential of rare halophilic actinomycetes from Algerian hypersaline wetland ecosystems. *Journal of Basic Microbiology*, 62(10), 1202-1215. doi: 10.1002/jobm.202200085.

Miethke, M., Pieroni, M., Weber, T., Brönstrup, M., Hammann, P., Halby, L., ... & Müller, R. (2021). Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics. *Nature Reviews Chemistry*, 5(10), 726-749.

Misery, L. (2019). Les antibiotiques sont dans la nature. *Dermato Mag*, 7(4), 302-303.

Mitchell, J. I., Logan, P. G., Cushing, K. E., & Ritchie, D. A. (1990). Novobiocin-resistance sequences from the novobiocin-producing strain *Streptomyces niveus*. *Molecular microbiology*, 4(5), 845-849. doi: 10.1111/j.1365-2958.1990.tb00655.x.

Mohan, M. L., & Prasad, S. V. N. (2017). Scaffolding function of PI3K gamma emerges from enzyme's shadow. *Journal of molecular biology*, 429(6), 763-772. doi: 10.1016/j.jmb.2017.01.023.

## N

Nemeth, J., Oesch, G., & Kuster, S. P. (2015). Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(2), 382-395. doi: 10.1093/jac/dku379.

Nijimbere, S., Kaboneka, S., Ndiokubwayo, S., Irakoze, W., & Ndikumana, J. (2020). Caractérisation physico-chimique des sols d'une exploitation agricole du Mumirwa en commune Rumonge (Burundi). *Revue de l'Université du Burundi*, 29, 34-44.

Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J. P., Woyke, T., Kyrpides, N. C., Pukall, R., Klenk, H. P., Goodfellow, M., & Göker, M. (2018). Genome-based taxonomic

classification of the phylum *Actinobacteria*. *Frontiers in microbiology*, 9, 2007. doi: 10.3389/fmicb.2018.02007.

## O

Ohnishi, Y., Ishikawa, J., Hara, H., Suzuki, H., Ikenoya, M., Ikeda, H., Yamashita, A., Hattori, M., Horinouchi, S., (2008). Genome sequence of the streptomycin-producing microorganism *Streptomyces griseus* IFO 13350. *Journal of Bacteriology*, 190(11), 4050 – 4060. doi:10.1128/JB.00204-08.

Onaka, H. (2009). Biosynthesis of indolocarbazole and goadsporin, two different heterocyclic antibiotics produced by actinomycetes. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 73(10), 2149-2155. doi: 10.1271/bbb.90263.

## P

Parenti, F. (1988). Glycopeptide antibiotics. *Journal of clinical pharmacology*, 28(2), 136-140. doi: 10.1002/j.1552-4604.1988.tb05737.x.

Pepper, I. L., & Gentry, T. J. (2015). Earth Environments. *Environmental Microbiology*, 59-88. doi:10.1016/b978-0-12-394626-3.00004-1.

Pham, Thu D.M., Ziora, Z. M., Blaskovich, M.A.T. (2019). Quinolone antibiotics. *Medchemcomm*. 10(10):1719-1739. doi: 10.1039/c9md00120d.

Płachetka, M., Krawiec, M., Zakrzewska-Czerwińska, J., & Wolański, M. (2021). AdpA positively regulates morphological differentiation and chloramphenicol biosynthesis in *Streptomyces venezuelae*. *Microbiology Spectrum*, 9(3), e01981-21. doi: 10.1128/Spectrum.01981-21.

Pochon, J., & Tardieux, P. (1962). Technique d'analyse en microbiologie du sol. Saint-Mandé : Edition de la Tourtourelle.

Procópio, R. E., Silva, I. R., Martins, M. K., Azevedo, J.L., Araújo, J.M. (2012). Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Braz J Infect Dis*. 16(5), 466-71. doi: 10.1016/j.bjid.2012.08.014.

## R

Rahman, M. A., Islam, M. Z., & Islam, M. A. U. (2011). Antibacterial activities of actinomycete isolates collected from soils of Rajshahi, Bangladesh. *Biotechnology research international*, 2011. doi: 10.4061/2011/857925.

Reijnders, T. D., Saris, A., Schultz, M. J., & van der Poll, T. (2020). Immunomodulation by macrolides: therapeutic potential for critical care. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(6), 619-630. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30080-1.

Reponen, T. A., Gazonko, S. V., Grinshpun, S. A., Willeke, K., & Cole, E. C. (1998). Characteristics of airborne actinomycete spores. *Applied and environmental microbiology*, 64(10), 3807-3812. doi: 10.1128/AEM.64.10.3807-3812.1998.

Reynaud, P. A., & Laloë, F. (1985). La méthode des suspensions-dilutions adaptée à l'estimation des populations algales dans une rizière. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 22(2), 161-192.

Roberts, J. A., & Lipman, J. (2009). Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Critical care medicine*, 37(3), 840-851. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181961bff.

## S

Salauze, D., Perez-Gonzalez, J. A., Piepersberg, W., & Davies, J. (1991). Characterisation of aminoglycoside acetyltransferase-encoding genes of neomycin-producing *Micromonospora chalcea* and *Streptomyces fradiae*. *Gene*, 101(1), 143-148. doi: 10.1016/0378-1119(91)90237-6.

Scarafilo, G. (2016). Antibiotic resistance: current issues and future strategies. *Reviews in Health Care*, 7(1), 3-16.

Shahbaz, A., Hussain, N., Saba, S., & Muhammad, B. (2023). Actinomycetes, cyanobacteria, and fungi: a rich source of bioactive molecules. In *Microbial Biomolecules* (pp. 113-133). Academic Press.

Shirling, E. B., & Gottlieb, D. (1966). *Methods for characterization of Streptomyces species*, 16(3), 313-340. doi:10.1099/00207713-16-3-313.

Sibanda, T., Mabinya, L. V., Mazomba, N., Akinpelu, D. A., Bernard, K., Olaniran, A. O., & Okoh, A. I. (2010). Antibiotic producing potentials of three freshwater actinomycetes isolated

from the Eastern Cape Province of South Africa. *International journal of molecular sciences*, 11(7), 2612-2623. doi: 10.3390/ijms11072612.

Skariyachan, S., Garka, S., Puttaswamy, S., Shanbhogue, S., Devaraju, R., & Narayanappa, R. (2017). Environmental monitoring and assessment of antibacterial metabolite producing *actinobacteria* screened from marine sediments in south coastal regions of Karnataka, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189, 1-9. doi: 10.1007/s10661-017-5999-y.

Subramani, R., & Aalbersberg, W. (2012). Marine actinomycetes: an ongoing source of novel bioactive metabolites. *Microbiological research*, 167(10), 571-580. doi: 10.1016/j.micres.2012.06.005.

## T

Terekhova, L. P., Novozhenov, M.I.U., Tolstykh, I.V., & Brazhnikova, M. G. (1991). Ranniaia identifikatsiia antibiotikov gruppy streptotritsinov [Early identification of streptothricin group antibiotics]. *Antibiot Khimioter.* 36(3), 15-7.

Tiwari, K., & Gupta, R. K. (2012). Rare actinomycetes: a potential storehouse for novel antibiotics. *Crit Rev Biotechnol.* 32(2), 108-132. doi: 10.3109/07388551.2011.562482.

Trabelsi, I., Oves, D., Manteca, A., Genilloud, O., Altalhi, A., & Nour, M. (2016). Antimicrobial activities of some actinomycetes isolated from different rhizospheric soils in Tunisia. *Current microbiology*, 73, 220-227. doi: 10.1007/s00284-016-1053-5.

## V

Valois, D., Fayad, K., Barasubiye, T., Garon, M., Dery, C., Brzezinski, R., & Beaulieu, C. (1996). Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. rubi, the causal agent of raspberry root rot. *Appl Environ Microbiol.* 62(5), 1630-5. doi: 10.1128/aem.62.5.1630-1635.1996.

Van der Meij, A., Worsley, S. F., Hutchings, M. I., & van Wezel, G. P. (2017). Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes. *FEMS microbiology reviews*, 41(3), 392-416.

Venisse, N., & Boulamery, A. (2011). Pour le groupe Suivi Thérapeutique Pharmacologique de la Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique. Niveau de preuve du suivi

thérapeutique pharmacologique des aminosides. *Thérapie*, 66(1), 39-44. doi: 10.2515/therapie/2011001.

## Y

Yolcubal I., Brusseau, M.L., Artiola, J. F., Wierenga, P., Wilson, L. G. (2004). Environmental physical properties and processes, Editor(s): Janick F. Artiola, Ian L. Pepper, Mark L. Brusseau, *Environmental Monitoring and Characterization* (pp. 207-239). Academic Press.

## Z

Zeng, D., Debabov, D., Hartsell, T. L., Cano, R. J., Adams, S., Schuyler, J. A., McMillan, R., & Pace, J. L. (2016). Approved glycopeptide antibacterial drugs: mechanism of action and resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(12), a026989. doi: 10.1101/cshperspect. a026989.

Zenova, G. M., Manucharova, N. A., & Zvyagintsev, D. G. (2011). Extremophilic and extremotolerant actinomycetes in different soil types. *Eurasian Soil Science*, 44, 417-436. doi:10.1134/s1064229311040132.

Zhang, N., Ma, Z., Li, D., Ni, H., Sun, B., & Liang, Y. (2022). Soil pH filters the association patterns of aluminum-tolerant microorganisms in rice paddies. *Msystems*, 7(1), e01022-21. doi: 10.1128/msystems.01022-21.

Zhu, H., Sandiford, S. K., & van Wezel, G. P. (2014). Triggers and cues that activate antibiotic production by actinomycetes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 41(2), 371-386. doi: 10.1007/s10295-013-1309-z.

Zhuravleva, N.P., Tankevich, M.E., Zhukova, R.A., Bol'shakova, E.N. (1982). Tsikl razvitiia i tsitomorfologicheskie osobennosti produtsenta oleandomitsina *Streptomyces antibioticus* [Developmental cycle and the cytomorphological characteristics of the oleandomycin producer *Streptomyces antibioticus*]. *Antibiotiki*. 27(9), 643-5.

Zviagintsev, D. G., Zenova, G. M., Doroshenko, E. A., Griadunova, A. A., Gracheva, T. A., & Sudnitsyn, I. I. (2007). Actinomycete growth in conditions of low moisture. *Izv Akad Nauk Ser Biol* (3), 296-302.

Zvyagintsev, D. G., Zenova, G. M., & Oborotov, G. V. (2009). Moderately haloalkaliphilic actinomycetes in salt-affected soils. *Eurasian Soil Science*, 42(13), 1515–1520. doi:10.1134/s1064229309130122.

Zvyagintsev, D. G., Zenova, G. M., Sudnizin, I. I., & Doroshenko, E. A. (2005). The ability of soil actinomycetes to develop at an extremely low humidity. In *Doklady Biological Sciences* (Vol. 405, pp. 461-463). Nauka/Interperiodica. doi: 10.1007/s10630-005-0165-z.

# **Annexe**

## Annexe : Milieux de cultures

### ISP2 modifié

Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Glucose	4g
NaCl	50g /75g / 100g
Eau distillée q.s.p.	1000ml
Agar	20g
pH= 8.0	

### ISP4 modifié

Amidon soluble	10g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1g
NaCl	1g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2g
CaCo <sub>3</sub>	2g
NaCl	50g /75g / 100g
Agar	20g
Eau distillée q.s.p.	1000ml
pH= 8.0	

### ISP5 modifié

Glycérol	10g
L-Asparagine	1g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
Solution d'oligo-éléments	1ml
NaCl	50g /75g / 100g
Agar	20g
Eau distillée	100ml
pH= 8.0	

**Solution saline 1 (solution d'oligo-éléments) du milieu ISP5**

FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.1g
MnCl <sub>2</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.1g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.1g
Eau distillée q.s.p.	100ml

Après ajustement du pH, les préparations subissent un Autoclavage à 121°C pendant 15 à 20 min.

Nom : BENSOUICI Prénom : Rouaida Amira	Diplôme : Master
Nom : BENDAKIR Prénom : Chourouk	Date de soutenance : 25/06/2023
<p><b>Thème : Isolement d'actinomycètes producteurs de substances antibactériennes agissant contre des bactéries pathogènes.</b></p> <p>Trois échantillons de sols ont été prélevés du site Et-Taref. Les analyses physicochimiques réalisées nous ont permis de conclure que les trois échantillons de sol sont de pH basique, extrêmement salins, ayant un taux d'humidité modéré et un taux de matière organique très élevé. L'ensemble de ces résultats nous a permis de classer le sol du site Et-Taref comme écosystème extrême. Un protocole d'isolement d'actinomycètes basé sur 18 conditions a été appliqué sur ces échantillons. Suite à ce protocole, trois flores microbiennes ont été isolées ; il s'agit d'une flore actinomycète en plus d'une flore bactérienne non filamenteuse et d'une flore fongique. Afin d'étudier l'effet des facteurs échantillons, milieu de culture, et concentration d'NaCl sur les résultats de dénombrement des flores actinomycètes, bactériennes non filamenteuses et fongiques, une étude statistique par logiciel SPSS version 23 a été menée. Les résultats des tests de normalité (Shapiro-Wilk et Kolmogorov-Smirnov) nous ont conduits vers les tests non-paramétriques Kruskal Wallis et/ou Mann-Whitney. Le milieu de culture est le seul facteur qui a manifesté un effet significatif sur le nombre des flores actinomycètes et fongiques isolées. Le test d'activité réalisé par la technique des cylindres d'agar a permis de mettre en évidence des zones d'inhibition pour les isolats S7, S8 et S161 contre la souche multirésistante <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>Mots clés :</b> actinomycètes, écosystème extrême, bactéries multirésistantes, activité antibactérienne.</p>	
<b>Président :</b> M. DEROUCHE K.	<b>M.C.A. Univ. Oum El Bouaghi.</b>
<b>Rapporteur :</b> M. DJABALLAH C. E.	<b>M.C.B. Univ. Oum El Bouaghi.</b>
<b>Examineur :</b> M. HAMAMES M.	<b>M.A.A. Univ. Oum El Bouaghi.</b>