

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département de Biologie



Projet de Fin d'Etudes
En vue de l'obtention du diplôme de Master en : Biologie
Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème

Evaluation du potentiel antimicrobien des actinomycètes extrémophiles de la région d'Ain Témouchent vis-à-vis des micro-organismes responsables d'infection urinaire

Soutenu le : 30/06/2026

Présenté Par :

- 1) Melle. MAKDAD Rim
- 2) Melle. MADANI Atika

Devant le jury composé de :

Pr	ZIANE Mohamed	Professeur UAT.B.B (Ain Témouchent)	Président
Dr.	BOUCHOUICHA Sara	M A B UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examinatrice
Dr.	BENBELAID Fethi	M C A UAT.B.B (Ain Témouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2025/2026



Remerciements

Nous remercions avant tout Allah le tout puissant de nous avoir accordé la santé, la patience et la force nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrant, **Mr. Benbelaid Fethi** pour son accompagnement, ses conseils, son aide précieuse dans la correction et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions les membres du jury, **Mr. le Professeur Ziane Mohamed**, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire ainsi que **Mme. Bouchouicha Sara**, d'avoir accepté d'examiner ce travail pour avoir accepté d'évaluer ce mémoire, ainsi que pour leurs remarques et suggestions constructives qui ont contribué à enrichir la qualité de ce travail.

Nous remercions également les ingénieurs ainsi que tout le personnel du laboratoire de Microbiologie, en particulier **Mr. Tires noureddine**, pour leur aide, leur disponibilité et leur soutien durant la réalisation de ce travail.

Nous n'oublions pas de remercier tous les enseignants, sans aucune exception, qui nous ont prodigué le savoir, tout au long de notre cursus universitaire.

Une tendre pensée pour nos parents, pour leur patience, leur présence à nos côtés et leur contribution à l'élaboration de ce manuscrit

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce mémoire ou qui nous ont encouragés.





Dédicaces

Alhamdoulillah pour l'aboutissement de ce parcours et pour la réalisation de ce rêve tant attendu.

À moi-même,

À celle qui a affronté les difficultés avec courage, qui a connu le doute mais n'a jamais cessé d'avancer. À toutes les nuits de travail, aux efforts silencieux et à la patience qui ont rendu ce moment possible. Je me dédie ce travail avec fierté.

À ma chère mère,

Aucune parole ne pourra exprimer ma gratitude pour ton amour, tes sacrifices, tes prières et ton soutien inconditionnel. Tu as toujours été ma source de force et de réconfort.

À mon cher père,

Pour tous les sacrifices consentis, pour ton soutien, ta confiance et les valeurs que tu m'as transmises. Merci d'avoir toujours cru en moi.

À mon grand-père et ma grand-mère,

Avec tout mon respect et mon affection. Que ce travail soit pour vous une source de fierté.

À ma tante Fatiha,

Qui a toujours occupé dans mon cœur la place d'une sœur. Merci pour ton amour, ton soutien et ta présence à mes côtés.

À mon frère Billal, ma sœur Maria et ma cousine Asmaa,

Pour votre soutien, vos encouragements et tous les moments partagés ensemble. Que ce travail soit aussi le vôtre.

À toute ma famille, maternelle et paternelle,

Pour votre amour, votre soutien et vos encouragements.

Avec une immense fierté, en tant que première petite-fille et première diplômée de la famille de mon père, je vous dédie ce mémoire et partage avec vous la joie de cette réussite.

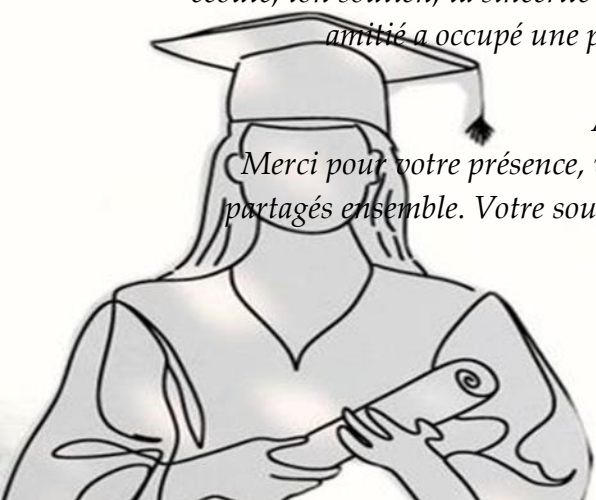
À mon chère amie Rim,

Merci d'avoir été présente dans les bons comme dans les mauvais moments. Merci pour ton écoute, ton soutien, ta sincérité et tous les souvenirs que nous avons construits ensemble. Ton amitié a occupé une place particulière dans mon parcours et dans ma vie.

À mes amis les plus proches,

Merci pour votre présence, votre aide, vos encouragements et tous les beaux souvenirs partagés ensemble. Votre soutien a rendu cette année plus agréable malgré les difficultés.

Atika





Avant tout, je rends grâce à Allah, Le Tout-Puissant, qui m'a accordé la force, la patience, le courage et la santé pour mener ce travail à son terme.

*Je me dédie ce travail À moi-même,
Pour ma persévérance, ma patience et tous les efforts que j'ai fournis afin d'arriver jusqu'à
cette étape importante de mon parcours.
Je dédie également ce modeste travail à mes très chers parents,*

*À ma chère mère,
Pour son amour infini, ses sacrifices et son soutien inconditionnel. Tu es ma force et ma plus
belle source de motivation.*

*À mon cher père,
Pour son soutien constant, sa protection et ses précieux conseils. Merci d'avoir toujours cru
en moi et d'avoir été à mes côtés.*

*À mes sœurs Fatima et Amina,
Pour leur dévouement, leur compréhension et leur grande tendresse et de m'avoir encouragé
tout le long de mes études*

À mon cher grand-père, Qui a toujours cru en moi et encouragé chacun de mes pas.

À mes chers neveux, Ranim et Nizar, avec tout mon amour.

À toute ma famille mes chère oncle et tante, Pour leur présence et leur confiance.

*À mon amie la plus proche Atika,
Avec qui j'ai partagé bien plus qu'un simple travail académique. Merci pour tous les moments
vécus ensemble, les efforts, les longues journées de travail, les défis surmontés et les souvenirs
inoubliables que nous avons construits au fil de cette aventure. Je te souhaite beaucoup de
réussite et de bonheur dans tout ce qui t'attend.*

*À mes amies et camarades d'études,
Avec qui j'ai partagé de précieux moments durant mon cursus universitaire.*

Rim



Table des matières

Liste des abréviations	I
Liste des Figures.....	II
Liste des Tableaux	III
<i>Introduction</i>	1
<i>Synthèse bibliographique</i>	3
<i>Chapitre I : Les infections urinaires et les bactéries uropathogènes</i>	3
1.1. Généralité sur les infections urinaires	3
1.2. Les bactéries responsables.....	3
1.2.1. <i>E. coli</i>	3
1.2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
1.2.3. <i>Proteus mirabilis</i>	4
1.2.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
1.2.5. <i>Enterococcus faecalis</i>	5
1.2.6. <i>Staphylococcus aureus</i>	5
<i>Chapitre II : Les Actinomycètes Extrémophile et leur potentiel antibactérien</i>	6
2. Définition et classification des actinomycètes	6
2.1. Définition des actinomycètes	6
2.2. Classification des actinomycètes.....	6
2.2.1. Actinomycètes extrémophiles	7
2.2.2. Catégories d'extrémophiles	7
2.3. Caractéristiques morphologiques et physiologiques	8
2.4. Habitats et diversité des actinomycètes extrémophiles	10
2.6.1. Mécanismes d'action des substances produites	11
2.6.2. Potentiel contre les bactéries responsables d'infections urinaires	12
<i>Matériel et Méthodes</i>	13
3.1. Sites de prélèvement d'échantillons	13
3.1.1. Sebkhia de Hassi El Ghella	13
3.1.2. Grotte d'El Ourdania.....	13
3.1.3. Bain d'eau minéral de Sidi Aïd	14
3.2. Échantillonnage.....	15

3.2.1. Sebkha de Hassi El Ghella	15
3.2.2. Sol de la Grotte d'El Ourdania	15
3.2.3. Bain d'eau minérale de Sidi Aïd.....	16
3.3. Prétraitement	16
3.3.1. Séchage à l'air	16
3.3.2. Traitement thermique	16
3.4. Isolement des actinomycètes	17
3.4.1. Milieu d'isolement	17
3.4.2. Préparation des suspensions mères	17
3.4.3. Réalisation des dilutions décimales.....	17
3.4.4. Ensemencement.....	17
3.4.5. Purification des souches	18
3.4.6. Conservation.....	18
3.5. Caractérisation des isolats	18
3.5.1. Caractères macroscopiques	18
3.5.2. Caractères microscopique	18
3.5.3. Caractères physiologique et biochimique.....	19
3.5.3.1. Recherche de la catalase.....	19
3.5.3.2. Recherche de l'oxydase.....	19
3.5.3.3. Recherche d'une caséinase.....	19
3.5.3.4. L'hydrolyse de l'amidon	19
3.5.3.5. Dégradation de la gélatine	20
3.5.3.6. Croissance en présence d'inhibiteurs	20
3.6. Activité antibactérienne.....	20
3.6.1. Revivification des souches de références	20
3.6.2. Préparation de l'inoculum	21
3.6.3. Évaluation de l'activité antimicrobienne.....	21
4.1. Étude morphologique des actinomycètes	23
4.1.1. Aspects macroscopiques.....	23
4.1.2. L'aspect microscopique	24
4.2. Identification biochimique et physiologiques	25
4.2.1. Recherche de la catalase.....	25
4.2.3. Recherche d'oxydase.....	26

4.2.3. Hydrolyse de la caséine.....	26
4.2.4. Dégradation de l'amidon.....	27
4.2.5. Hydrolyse de la gélatine.....	27
4.2.6. Tolérance aux différents degrés de température et de salinité.....	28
4.4. Discussion	30
Conclusion et perspectives	38

Liste des abréviations

Ace : Adhesin of collagen in Enterococci
ADN : Acide désoxyribonucléique
Afa : Afimbrial adhesin
ARNm : Acide ribonucléique messenger
ARNr : Acide ribonucléique ribosomique
BHIB: Brain Heart Infusion Broth
BCS: Biofilm communities
BLC : Biofilm-like communities
BLSE : Bêta-lactamases à spectre étendu
CAA : Gélose amidon-caséine
CGS / CGS : Capsule gene system
Cm : Centimètre
CTX-M-15 : Céfotaximase-Munich-15
°C : Degré Celsius
Esp : Enterococcal surface protein
FimH : Adhesine fimbriale de type 1
g : Gramme
GeE : Gélatinase
GN : Gélose nutritive
h : Heure
IBC : Intracellular Bacterial Communities (communautés bactériennes intracellulaires)
IU : Infection urinaire
ml : Millilitre
MDR : Multi-Drug Resistant
MH : Mueller–Hinton
mm : Millimètre
MRP : Multiple resistance protein
Nacl : Chlorure de sodium
µl : Microlitre
Pap : Pyelonephritis-associated pili
PapC : Protéine d'assemblage des pili Pap
PBP : Penicillin-Binding Proteins
pH : Potentiel hydrogène
PMF : Proton Motive Force
PNA : Pyélonéphrite aiguë
rpm : Révolutions par minute
Sab : Sabouraud
STA / STAS : Système de transport actif
T° : Température
UFC : Unité Formant Colonie
UPEC : Uropathogenic Escherichia coli
UV : Ultraviolet
VRE : Vancomycin-Resistant Enterococci
ZapA : Protéase associée à la virulence (chez *Proteus mirabilis*)

Liste des Figures

Figure 1. Un arbre phylogénétique base sur le génome pour 97 séquences génomiques du phylum <i>Actinobacteria</i> .	7
Figure 2. Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant le mycélium substrat et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores. (Li et al. 2016).	9
Figure 3. Modèle morphologique de base des Sporangia.	9
Figure 4. Vue générale de la zone de prélèvement de Sebkha de Hassi El Ghella	13
Figure 5. Vue générale de la zone de prélèvement de Grotte d' El Ourdania.	14
Figure 6. Vue générale de la zone de prélèvement de bain d'eau minéral de Sidi Aïd.	14
Figure 7. Prélèvement des échantillons à partir de la sebkha de Hassi El Ghella.	15
Figure 8. Séchage des échantillons sur papier aluminiums.	16
Figure 9. Les échantillons de sol après traitement thermique à 55°C pendant 1 heure.	17
Figure 10. Les souches de référence.	21
Figure 11. Test de mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des cylindres d'agar.	22
Figure 12. Observation macroscopique des isolats d'actinomycètes.	24
Figure 13. Observation microscopique des isolats d'Actinomycètes (x100).	25
Figure 14. Observation microscopique après coloration de Gram des isolats Actinomycète.	25
Figure 15. Résultats du test catalase des isolats d'actinomycètes.	26
Figure 16. Résultats de l'hydrolyse de la caséine des souches d'actinomycètes.	27
Figure 17. Résultats de l'hydrolyse de la gélatine des souches d'actinomycètes.	28
Figure 18. Résultats de la tolérance aux salinités de la souche de sebkha S.	28

Liste des Tableaux

Tableau 1. Les antibiotiques produits par les actinomycètes. (<i>Risdian et al. 2022</i>).....	11
Tableau 2. Aspect macroscopique des souches actinomycètes sur le milieu caséine amidon.	23
Tableau 3. Caractéristiques biochimiques des trois isolats.	25
Tableau 4. Résultats de la tolérance à la salinité et aux différentes températures.	28
Tableau 5. Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des souches testées.....	29

Introduction

Les infections des voies urinaires constituent un problème de santé publique courant. Elles sont si fréquentes qu'une grande partie de la population peut en être atteinte. Elles figurent également parmi les trois principales raisons mondiales de prescription d'antibiotiques selon l'Organisation mondiale de la santé. Les femmes sont les plus touchées par ces infections, mais elles peuvent également apparaître chez l'homme en présence de certains facteurs de risque. **(Khaddam et Durgham 2025)**

Les infections des voies urinaires se manifestent par la multiplication des agents pathogènes dans les voies urinaires, ce qui provoque une inflammation de la muqueuse urétrale. Dans ce cas, l'infection des voies urinaires inclut les reins, l'urètre et la vessie. Le type le plus fréquent est appelé cystite. De nombreuses bactéries présentent une résistance croissante à de nombreux antibiotiques, ce qui diminue l'efficacité des traitements existants et favorise la propagation des infections nosocomiales et communautaires. **(Flores-Mireles et al. 2015)**

Ces dernières années, une utilisation excessive et parfois inappropriée des antibiotiques a conduit à l'émergence de souches multirésistantes, rendant certains traitements de moins en moins efficaces. Face à cette situation, les chercheurs concentrent désormais leurs efforts sur la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes d'origines végétale, animale, fongique ou bactérienne. Ces métabolites primaires et secondaires représentent une source importante de substances biologiquement actives. Parmi eux, les antibiotiques d'origine bactérienne et fongique occupent une place importante.

Les actinomycètes sont considérés comme l'une des principales sources de molécules bioactives, puisqu'ils produisent environ 70 % des antibiotiques connus. Leurs effets antimicrobiens sont particulièrement efficaces contre plusieurs bactéries pathogènes et certains champignons. **(Okami et Hotta 1988)** Les actinomycètes sont des bactéries à Gram positif à l'aspect filamenteux. Ils jouent un rôle essentiel dans les sols, car ils participent à la décomposition de la matière organique et au recyclage des nutriments. Ces micro-organismes se caractérisent par des traits morphologiques uniques. Ils se caractérisent notamment par la formation d'un mycélium végétatif et d'un mycélium aérien. Ils produisent également des spores. Leur importance est principalement liée à leur capacité à produire un grand nombre de métabolites secondaires biologiquement actifs, dont plusieurs antibiotiques actuellement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. **(Barka et al. 2016)** Parmi ces micro-organismes, les actinomycètes extrémophiles retiennent tout particulièrement l'attention des chercheurs. Ils sont en effet capables de survivre et de se développer dans des conditions environnementales extrêmes, telles que des sols très salés, des températures élevées ou basses, ou encore des variations importantes du pH. Ces conditions de stress favorisent parfois la synthèse de composés bioactifs originaux qui peuvent présenter une activité antimicrobienne intéressante.

On trouve ces micro-organismes dans des écosystèmes extrêmes, comme les sols sahariens, les sebkhas et certains environnements marins, où ils trouvent des conditions favorables à leur développement. L'isolement d'actinomycètes extrémophiles est facilité par les vastes régions sahariennes et les milieux hypersalins d'Algérie. La région d'Aïn Témouchent, située à l'ouest de l'Algérie, présente des caractéristiques écologiques spécifiques qui favorisent une grande diversité microbienne. Grâce à leur capacité d'adaptation, les actinomycètes isolés de ces milieux peuvent produire différentes molécules biologiquement actives qui sont encore peu étudiées.

Plusieurs travaux réalisés dans différentes régions d'Algérie ont déjà montré le potentiel antimicrobien de certains actinomycètes isolés de milieux extrêmes contre des bactéries pathogènes.

L'obtention de nouvelles substances antimicrobiennes est devenue aujourd'hui une nécessité face à l'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Pour atteindre cet objectif, plusieurs recherches se sont orientées vers le criblage de nouvelles souches microbiennes productrices de molécules bioactives. L'exploitation des milieux extrêmes, caractérisés par des conditions environnementales sévères telles que la salinité élevée, les variations de température ou de pH, favorise l'isolement d'actinomycètes extrémophiles pouvant présenter un potentiel d'activité antibactérienne important.

Dans ce présent travail, nous nous sommes fixés comme objectifs principaux l'isolement et la purification d'actinomycètes à partir de différents milieux extrêmes de la région d'Aïn Témouchent, notamment la sebkha de Hassi El Ghella, le bain minéral de Sidi Aïd et la grotte d'Ourdania. Ensuite, une étude taxonomique des isolats bactériens a été réalisée sur la base de certains caractères macroscopiques, microscopiques, physiologiques et biochimiques. Enfin, l'activité antibactérienne des souches obtenues a été évaluée vis-à-vis de certains micro-organismes responsables des infections urinaires.

*Synthèse
bibliographique*

***Chapitre I : Les infections
urinaires et les bactéries
uropathogènes***

1.1. Généralité sur les infections urinaires

L'IU est une agression de tout ou partie de l'arbre urinaire par un ou plusieurs microorganismes qui génèrent une réaction inflammatoire et des manifestations cliniques et d'une bactériurie significative (généralement ≥ 105 unités formant colonies par millilitre d'urine). (Bonkat *et al.* 2026)

Les infections constituent l'une des maladies infectieuses les plus courantes en clinique, affectant tous les âges, avec une prévalence plus élevée chez les femmes grâce à des facteurs anatomiques et physiologique. (Trinchera *et al.* 2025)

1.2. Les bactéries responsables

1.2.1. *E. coli*

E. coli est la bactérie la plus couramment liée aux infections urinaires. *E. coli* est la cause de près de 90% des infections urinaires. Cette bactérie est généralement présente dans l'intestin humain, toutefois, elle peut provoquer des infections sévères si elle s'introduit dans le système urinaire. (Dhaouia *et al.* 2023)

Cette prédominance s'explique par l'arsenal de facteurs de virulence que possède UPEC, incluant des adhésines fimbriales (type 1 et P), des toxines (hémolysines, facteur nécrosant cytotoxique), des systèmes d'acquisition du fer (sidérophores) et la capacité de former des biofilms et des communautés bactériennes intracellulaires. Les souches UPEC présentent une diversité génétique considérable, avec des sérotypes spécifiques (O25 :H4-ST131, O6 :H1) associés à une virulence accrue et à la multirésistance aux antibiotiques. (Ishaq *et al.* 2026)

Les études récentes montrent une augmentation alarmante de la résistance d'*E. coli* aux antibiotiques de première ligne. Des taux de multirésistance (MDR) atteignant 77% à 90% ont été rapportés dans certaines cohortes hospitalières, avec une résistance particulièrement élevée aux tétracyclines, sulfamides, quinolones et, de manière croissante, aux céphalosporines de troisième génération via la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). (Khaddam et Durgham 2025)

1.2.2. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est un agent uropathogène. C'est le deuxième le plus fréquent. Il est particulièrement présent dans les infections nosocomiales. On le trouve aussi chez les patients présentant des facteurs de complication. Cette bactérie est encapsulée. Elle possède des facteurs de virulence. Ces facteurs comprennent la capsule polysaccharidique (protection contre la phagocytose), des adhésines fimbriales de type 1 et 3, des sidérophores et la capacité de former des biofilms robustes. (Bunduki *et al.* 2021)

La diffusion mondiale de clones épidémiques de *K. pneumoniae* producteurs de BLSE, notamment le clone ST15 portant le gène blaCTX-M-15, constitue une préoccupation majeure de santé publique. Ces souches présentent des profils de virulence et de résistance partagés entre isolats humains et animaux, suggérant une transmission zoonotique et environnementale. La résistance aux céphalosporines de troisième génération est fréquente, et l'émergence de souches productrices de carbapénémases limite drastiquement les options thérapeutiques, la capacité de *K. pneumoniae* à former des biofilms sur les cathéters urinaires contribue à la persistance de l'infection et aux échecs thérapeutiques. **(Bunduki et al. 2021)**

1.2.3. *Proteus mirabilis*

Les infections urinaires compliquées sont souvent causées par *P. mirabilis*, un agent infectieux qui peut générer des pierres urinaires et synthétiser des éléments virulents, notamment chez les patients qui utilisent des cathéters. **(Yuan et al. 2021)**

Cette bactérie se distingue par sa mobilité de type "swarming" et sa capacité à produire l'enzyme uréase, qui hydrolyse l'urée en ammoniac, alcalinisant ainsi l'urine et favorisant la précipitation de cristaux de struvite et d'apatite. Ces calculs infectieux peuvent obstruer le tractus urinaire et servir de réservoir bactérien protégé des antibiotiques. **(Thakur et al. 2025)**

Les facteurs de virulence de *P. mirabilis* incluent également des fimbriae (MR/P et PMF), des hémolysines, des protéases (ZapA) et la formation de biofilms multicellulaires complexes. Bien que généralement moins résistant aux antibiotiques que *E. coli* ou *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* présente une résistance intrinsèque à certains agents (tétracyclines, nitrofurantoïne) et peut acquérir des mécanismes de résistance additionnels, compliquant le traitement des infections récurrentes. **(Thakur et al. 2025)**

1.2.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Est une bactérie Gram négative, en forme de bâton, qui se déplace à l'aide d'un flagelle monotriche polaire. Elle ne possède ni spores ni capsule, est non fermentative et a un métabolisme oxydatif (aérobie). En situation d'anaérobiose, elle peut utiliser le nitrate pour sa respiration. La bactérie se cultive soit sur gélose au sang, soit sur mannitol salé, ou encore sur gélose Cétrimide ou Cepacia. Elle produit de petites colonies pigmentées et émet un parfum aromatique. **(Hafiane et Ravaoarinoro 2008)**

Pseudomonas aeruginosa, également appelée bacille pyocyanique, appartient à la famille des

Pseudomonadaceae. Cette bactérie, qualifiée d'ubiquitaire au sein de la nature, est également capable de subsister en tant que commensale au sein du tube digestif humain **(Bouderbala et al. 2016)**

Les patients fragiles ou porteurs de sondes urinaires sont particulièrement sensibles aux infections urinaires nosocomiales causées par le pathogène opportuniste *P. aeruginosa*. Son traitement est difficile en raison de sa résistance fréquente aux antibiotiques, ce qui souligne l'importance de la prévention. (Bouderbala *et al.* 2016)

1.2.5. *Enterococcus faecalis*

Est un cocci Gram positif commensal du tractus gastro-intestinal qui émerge comme un uropathogène important, en particulier dans les infections nosocomiales. Et chez les patients ayant reçu une antibiothérapie préalable. Cette bactérie possède une résistance intrinsèque à plusieurs classes d'antibiotiques (céphalosporines, aminosides à faible concentration) et une capacité remarquable à acquérir des déterminants de résistance par transfert horizontal. (Sung *et al.* 2024)

Les facteurs de virulence d'*E. faecalis* incluent des protéines de surface facilitant l'adhésion (Esp, Ace), des cytolysines, des protéases (GelE), des phéromones sexuelles favorisant le transfert de plasmides, et une capacité significative de formation de biofilm. L'augmentation de la multirésistance chez *E. faecalis*, notamment la résistance à la vancomycine (VRE), pose des défis thérapeutiques majeurs en milieu hospitalier. Les infections urinaires à entérocoques sont souvent associées à des cathétérismes prolongés et peuvent évoluer vers des bactériémies chez les patients immunodéprimés. (Sung *et al.* 2024)

1.2.6. *Staphylococcus aureus*

Cette bactérie gram-positive est moins prévalente qu'*Escherichia coli* mais est souvent concernée par les infections urinaires nosocomiales (contractées en milieu hospitalier) et représente un problème particulièrement chez les patients porteurs de cathéters urinaires ou de dispositifs médicaux internes. (Alshomrani *et al.* 2023)

Les infections urinaires dues à *Staphylococcus aureus* peuvent également se manifester par des signes identiques à ceux des autres bactéries, à savoir des douleurs et des brûlures à la miction avec des envies d'uriner fréquentes, une urine trouble ou mal odorisée. Dans certains cas plus graves, notamment lorsque la bactérie a gagné les reins, on peut rencontrer des signes systémiques tels que fièvre et frissons. Le diagnostic repose, comme auparavant, sur l'analyse d'urines et la culture pour l'identification et tester la sensibilité aux antibiotiques et est souvent prise en charge par des traitements basés sur les résultats des tests de sensibilité. Prévenir les infections urinaires à *Staphylococcus aureus* nécessite d'avoir recours à des mesures d'hygiène strictes, à un bon entretien des dispositifs médicaux et à une diminution de leur emploi prolongé.

(Corrado *et al.* 2025)

***Chapitre II : Les
Actinomycètes Extrémophile
et leur potentiel antibactérien***

2. Définition et classification des actinomycètes

2.1. Définition des actinomycètes

Les actinomycètes, qui sont principalement des microorganismes procaryotes aérobies, se retrouvent de manière répandue à travers le monde. Ils s'établissent dans une grande variété d'environnements et démontrent une aptitude à s'adapter et à résister à des conditions extrêmement défavorables. **(Procópio et al. 2012)**

Ces microorganismes sont un groupe de bactéries Gram-positives à fort contenu guanines et cytosines (GC > 55 %) dans leur ADN génomique appartenant au phylum *Actinobacteria*. **(Meklat et al. 2020)** Leur morphologie filamenteuse rappelle celle des champignons, formant un mycélium ramifiée composé d'hyphes de diamètre inférieur à 1 µm. **(Djinni et al. 2019)**

Les actinomycètes occupent une position unique dans le monde microbien, combinant des caractéristiques bactériennes (structure cellulaire procaryote, sensibilité aux antibactériens, absence de noyau) et des caractéristiques fongiques (morphologie filamenteuse, formation de spores, production de métabolites secondaires complexes). **(Djinni et al. 2019)**

2.2. Classification des actinomycètes

La position taxonomique du phylum des Actinobactéries est bien établie grâce aux analyses de l'ARN ribosomique 16S. **(Ludwig et al. 2012)**

Le phylum *Actinobacteria* regroupe une grande diversité taxonomique, avec plus de 300 genres validés et plusieurs milliers d'espèces décrites **(Djinni et al. 2019)** Il est composé de plusieurs ordres, dont *Actinomycetales* (le plus vaste), *Bifidobacteriales*, *Coriobacteriales* et *Rubrobacterales*. **(Goodfellow et al. 2012)**

L'ordre *Actinomycetales* est constitué de nombreuses familles d'importance écologique et biotechnologique, notamment *Streptomycetaceae* (genre *Streptomyces*), *Nocardiopsaceae* (genre *Nocardiopsis*), *Pseudonocardiaceae* (genres *Actinopolyspora*, *Saccharothrix*, *Amycolatopsis*), ainsi que *Micromonosporaceae* et *Thermomonosporaceae*. **(Goodfellow et al. 2012)**

La classification des actinomycètes repose sur une approche polyphasique intégrant des critères morphologiques, physiologiques, chimiotaxonomiques et moléculaires. **(Meklat et al. 2020)**

La figure 1 montre l'arbre phylogénétique des genres d'actinobactéria séquencés.

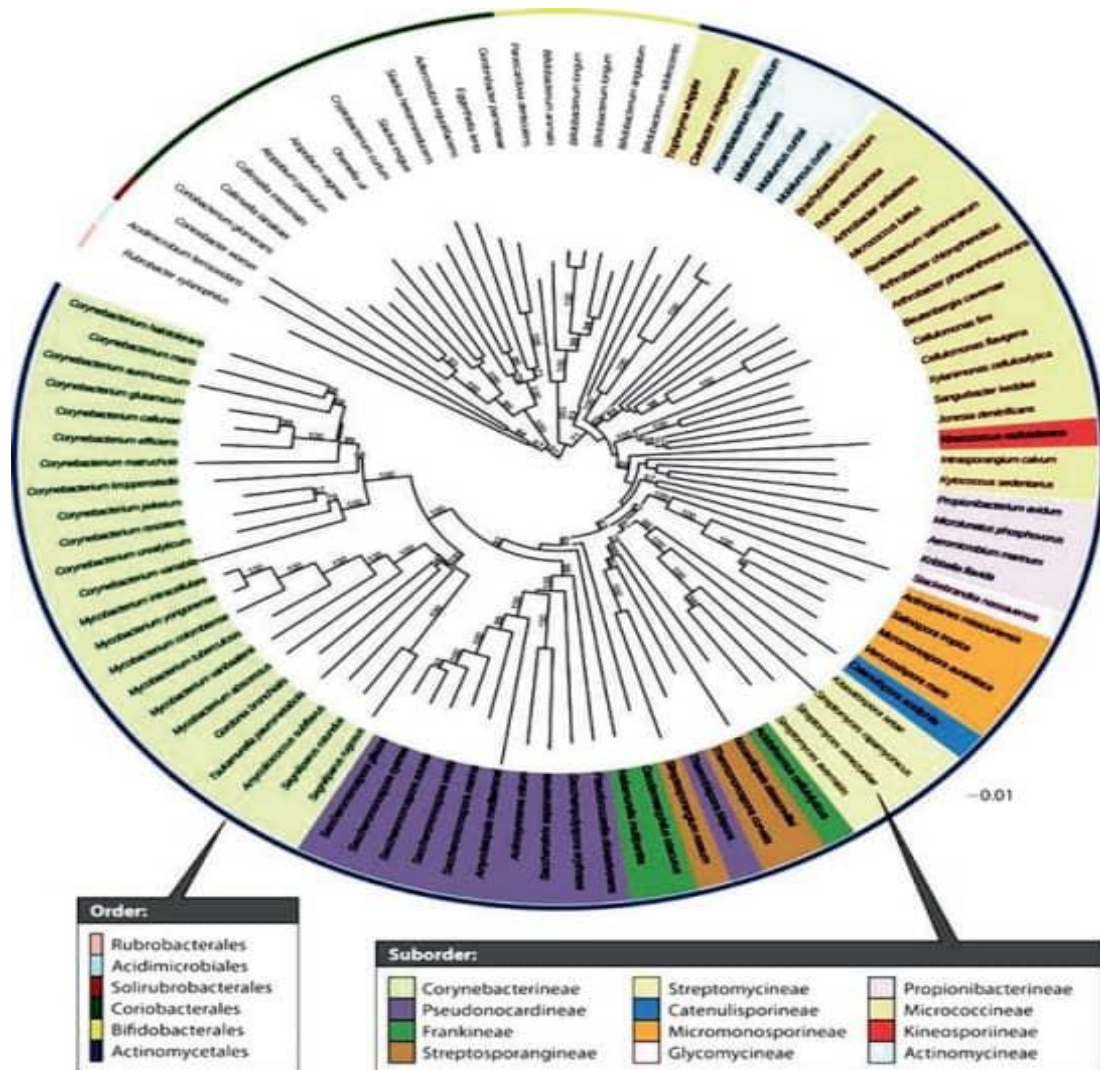


Figure 1. Un arbre phylogénétique base sur le génome pour 97 séquences génomiques du phylum Actinobacteria.

(Wink *et al.* 2017)

2.2.1. Actinomycètes extrêmophiles

On définit les actinomycètes extrêmophiles comme des actinomycètes qui peuvent se développer et croître dans des environnements où les conditions physico-chimiques sont extrêmes, telles Des températures hautes ou basses, des niveaux de pH extrêmes, des concentrations en sel élevées, une sécheresse marquée, une exposition intense aux UV ou une pression osmotique forte. (Meklat *et al.* 2020)

2.2.2. Catégories d'extrémophiles

Selon les conditions environnementales auxquelles ils sont adaptés, les actinomycètes extrêmophiles peuvent être classés en plusieurs catégories :

❖ **Halophiles et halotolérants** : Adaptés aux environnements à forte salinité (lacs salés, sebkhas, marais salants), capables de croître à des concentrations de NaCl de 5-30%. (Meklat 2012)

❖ **Thermophiles et hyperthermophiles** : Les actinomycètes thermophiles croissent à des températures comprises entre 45 et 80°C, alors que les hyperthermophiles requièrent des températures supérieures à 80°C. Ils possèdent les thermozymes, des enzymes particulièrement stables à la chaleur. (Alam et Tiwary 2023)

❖ **Alcaliphiles et acidophiles** : Les actinomycètes alcaliphiles se développent dans des milieux dont le pH est supérieur à 9, et les acidophiles dans des milieux dont le pH est inférieur à 4. Les alcaliphiles produisent des enzymes qui sont stables dans un milieu basique. Les acidophiles, eux, sont souvent isolés à partir de sources géothermales acides et des mines de charbon. (Alam et Tiwary 2023)

❖ **Psychrophiles** : Les actinomycètes psychrophiles sont des microorganismes adaptés à vivre en milieu froid, et leur développement optimal se fait à des températures inférieures à 15 °C, et même négatives pour certaines espèces. Ces organismes possèdent des enzymes, les psychrozymes, dont la flexibilité structurale leur permet de maintenir l'activité catalytique à basse température. (Alam et Tiwary 2023)

❖ **Xérophiles** : Les xérophiles sont adaptés aux environnements extrêmement secs, avec une disponibilité en eau très limitée. (Alam et Tiwary 2023)

❖ **Radiophiles** : Les actinomycètes radiophiles sont capables de résister à des doses très élevées de radiations ionisantes. (Alam et Tiwary 2023)

2.3. Caractéristiques morphologiques et physiologiques

Les actinomycètes présentent des caractéristiques morphologiques distinctives qui reflètent leur position phylogénétique intermédiaire entre les bactéries unicellulaires et les champignons filamenteux. Leur cycle de vie typique commence par la germination d'une spore qui produit un tube germinatif se développant en un mycélium végétatif ramifié. Ce mycélium de substrat pénètre et colonise le substrat nutritif, assurant l'absorption des nutriments. (Goodfellow *et al.* 2012)

En réponse à des signaux environnementaux (limitation nutritionnelle, densité cellulaire), certains actinomycètes forment un mycélium aérien qui s'élève au-dessus du substrat et se différencie en chaînes de spores (conidies). (Goodfellow *et al.* 2012) **Figure 02**

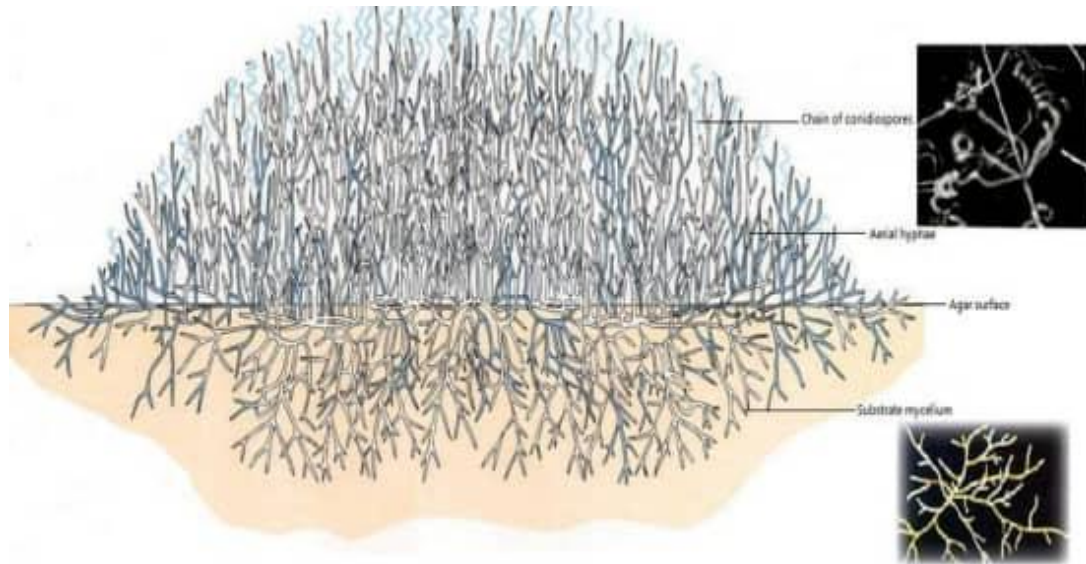


Figure 2. Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant le mycélium substrat et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores. (Li *et al.* 2016)

Les spores, généralement non mobiles, sont produites en chaînes ou en sporanges selon le genre, et présentent diverses ornementsations de surface (lisses, rugueuses, épineuses) visibles en microscopie électronique. (Meklat 2012) **Figure 3**

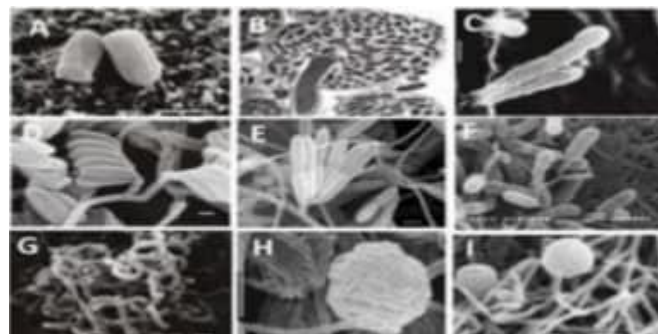


Figure 3. Modèle morphologique de base des Sporangia.
(Li *et al.* 2016)

Les actinomycètes extrémophiles ont développé des adaptations physiologiques et biochimiques complexes leur permettant de survivre dans des milieux extrêmement hostiles.

Les halophiles sont à même d'accumuler des solutés compatibles sur le plan osmotique afin d'assurer le maintien de l'homéostasie physiologique et la protection de leurs macromolécules. En surface de leurs enzymes et protéines structurales, la composition en acides aminés est modifiée (enrichie en acides aminés acides) assurant une stabilité particulière dans des milieux riches en sel. (DasSarma et DasSarma 2015)

Les thermophiles ont en revanche des membranes très riches en acides gras saturés, des protéines thermostables avec un plus grand nombre de ponts disulfure constitutifs et d'interactions ioniques. **(DasSarma et DasSarma 2015)**

2.4. Habitats et diversité des actinomycètes extrémophiles

Les actinomycètes extrémophiles colonisent une grande diversité d'habitats extrêmes à travers le monde, avec une richesse particulière dans les écosystèmes sahariens et salins d'Algérie. Les sols sahariens algériens, caractérisés par des températures élevées, une faible disponibilité en eau, une forte irradiation solaire et des salinités variables, abritent une diversité remarquable d'actinomycètes halophiles et halotolérants. **(Mokrane et al. 2013)**

Les sebkhas, qui sont des zones humides hypersalines, sont des habitats naturels riches en actinomycètes halophiles, ces dépressions salées que l'on rencontre dans les zones arides et hyperarides en Algérie, sont reconnues d'intérêt international selon la convention de Ramsar. **(Menasria et al. 2022)** Une étude menée sur les sebkhas d'Algérie a permis d'isoler des actinomycètes halophiles rares, des *Actinopolyspora* (74.19%) et des *Nocardiopsis* (25.8%), illustrant que ces genres sont adaptés aux conditions hypersalines. **(Menasria et al. 2022)**

Les palmeraies sahariennes sont un autre habitat important des actinomycètes. Une étude exhaustive menée sur sept palmeraies sahariennes en Algérie, à savoir, Tolga, Touggourt, Ouar-gla, El Goléa, Ghardaïa, Timimoun et Adrar, a identifié à 789 isolats appartenant à 12 genres et à environ 90 espèces. La salinité faible des sols, la conductivité électrique élevée jusqu'à 27,6 mS/cm et un pH élevé alcalin d'environ 7,7 à 8,3, affecte la distribution d'actinomycètes dans les sols. *Streptomyces griseoincarnatus* a été identifiée comme l'espèce la plus répandue. **(Mokrane et al. 2013)**

2.5. Production d'Antibiotiques

L'appartenance des actinomycètes au groupe des agents producteurs d'antibiotiques naturels est généralement reconnue comme la plus riche (plus de 70 % des antibiotiques utilisés en clinique) en permettant de découvrir des composés tels que la streptomycine, la tétracycline, l'érythromycine, le vancomycine ou d'autres encore **(Subramani et al. 2022)**, autant qu'en étant représentatif des actinomycètes extrémophiles (surtout ceux présents dans les milieux très salés et arides) jusque-là peu ou pas explorée pour l'isolement de nouveaux antibiotiques susceptibles d'être dotés de structures chimiques et d'actions pharmacologiques originales. **(Subramani et al. 2022)**

L'actinomycine, premier antibiotique découvert, a été extraite du *Streptomyces* antibiotiques en 1940 **(Mast et al., 2020)**. Suite à cela, une multitude d'antibiotiques ont été identifiés

à partir de diverses espèces d'actinobactéries mentionnées dans le tableau ci-après. **(Risidian et al. 2022)**

Tableau 1. Les antibiotiques produits par les actinomycètes. **(Risidian et al. 2022).**

Espèce	Antibiotique	Famille	Mécanisme d'action
<i>Streptomyces griseus</i> (Waksman et al. 1946)	Streptomycine	Aminosides	Ils inhibent la synthèse protéique des bactéries en bloquant la sous-unité du ribosome 30S (Procópio et al. 2012)
<i>Micromonospora purpurea</i>	Gentamicine	Aminosides	
<i>Streptomyces erythraeus</i> (Sanchez et al. 1984)	Erythromycine	Macrolide	Ciblant la sous-unité ribosomale 50S entraînant une inhibition de la synthèse protéique de bactéries (Jelić et Antolović 2016)
<i>Amycolatopsis orientalis</i>	Vancomycine	Glycopeptidiques	Inhibent la biosynthèse de la paroi cellulaire bactérienne en se liant à sa structure peptidoglycane (Zhang et al. 2018)
<i>Nocardia lurida</i>	Ristocétine	Glycopeptidiques	

Au-delà des antibiotiques, les actinomycètes extrémophiles produisent une diversité remarquable d'autres métabolites secondaires bioactifs, incluant des enzymes industrielles, des antifongiques, des anticancéreux, des immunosuppresseurs et des inhibiteurs enzymatiques. **(Menasria et al. 2022)**

2.6. Activité antimicrobienne

2.6.1. Mécanismes d'action des substances produites

Les antibiotiques et les métabolites antimicrobiens issus des actinomycètes agissent sur différentes structures et mécanismes cellulaires vitaux des bactéries pathogènes, ce qui justifie leur pouvoir thérapeutique. Les β -lactamines (pénicillines, céphalosporines) empêchent la production de la paroi cellulaire bactérienne en se fixant aux protéines qui lient la pénicilline (PBP) et en entravant le processus de transpeptidation du peptidoglycane, entraînant ainsi la destruction osmotique de la cellule). Les glycopeptides (vancomycine, teicoplanine) entravent aussi la synthèse de la paroi cellulaire en se fixant aux résidus D-alanyl-D-alanine terminaux des pré-curseurs du peptidoglycane). **(Goodfellow et al. 2012)**

Les métabolites secondaires biosynthétisés par les actinomycètes extrémophiles responsables de leur activité antimicrobienne s'exercent selon des mécanismes d'action variés, ciblant

différentes structures et processus cellulaires bactériens ces mécanismes comprennent inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, perturbation de la membrane cytoplasmique, inhibition de la production des protéines, inhibition de la production des acides nucléiques et interférence avec le métabolisme. **(Subramani et al. 2022)**

Les actinomycètes produisent des polyènes et des lipopeptides qui perturbent la structure de la membrane cytoplasmique en se glissant dans la bicouche lipidique et en formant des pores, ce qui entraîne une fuite du contenu cytoplasmique et conduit à la mort cellulaire. **(Subramani et al. 2022)**

Les aminoglycosides, tels que la streptomycine, entravent la synthèse des protéines en se fixant à la sous-unité 30S du ribosome bactérien, provoquant ainsi des erreurs dans la lecture de l'ARNm et la production de protéines dysfonctionnelles. **(Subramani et al. 2022)**

2.6.2. Potentiel contre les bactéries responsables d'infections urinaires

Les actinomycètes extrémophiles, notamment ceux prélevés des sols algériens sahariens et salins, ont prouvé une action antimicrobienne notable contre les principales bactéries responsables des infections urinaires, y compris *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* et *S. aureus*. **(Khaledi et Obeid 2025)**

Une recherche dédiée au potentiel antibactérien des extraits d'actinomycètes contre *E. coli* uropathogène producteur de bêta-lactamases a mis en évidence des résultats prometteurs. Des extraits d'actinomycètes ont prouvé leur efficacité contre des souches UPEC résistantes à de multiples médicaments, y compris celles qui produisent des bêta-lactamases à large spectre (BLSE). **(Khaledi et Obeid 2025)**

Cette activité est particulièrement importante étant donné que 66,2% des isolats UPEC sont multirésistants dans certaines populations. **(Afshar Naderi et al. 2026)**

Les actinomycètes provenant d'Algérie ont également démontré leur efficacité contre *K. pneumoniae*, le deuxième agent pathogène urinaire le plus courant. Une étude portant sur une *Streptomyces* récemment isolée en Algérie a révélé une activité antimicrobienne in vitro contre *K. pneumoniae*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 1 mg/ml. **(Djebbah et al. 2021)**

Une autre étude a montré que les métabolites secondaires de ce même genre de bactéries inhibaient la croissance et la formation de biofilms de bactéries multirésistantes, dont *K. pneumoniae*. **(Al Ghamdi et al. 2025)**

Matériel et Méthodes

L'objectif principal de cette étude est d'isoler et identifier des actinomycètes extrémophile ayant une activité antimicrobienne vis-à-vis des souches uropathgènes. Ce travail a été menées dans le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université BELHADJ BOUCHAIB à Aïn Témouchent.

3.1. Sites de prélèvement d'échantillons

3.1.1. Sebkha de Hassi El Ghella

La Sebkha de Hassi El Ghella (**Figure 04**) se situe dans la wilaya d'Aïn Témouchent, commune de Hassi El Ghella (daïra d'El Amria), dans l'ouest de l'Algérie. Les repères géographiques disponibles placent Hassi El Ghella autour de 35°27'18" N, 1°03'11" O, à environ 51 km au sud-ouest d'Oran, et la Sebkha se rattache au système salin de la région oranaise. (**Figure 04**)

Les sebkhas sont généralement définies comme des zones salines continentales résultant de l'évaporation intense et de la concentration des sels, formant ainsi des environnements spécifiques riches en biodiversité microbienne adaptée aux conditions extrêmes. (**Menasria *et al.* 2022**)



Figure 4. Vue générale de la zone de prélèvement de Sebkha de Hassi El Ghella

3.1.2. Grotte d'El Ourdania

La Grotte El Ourdania (**Figure 05**) est située dans la commune d'Oulhaça, relevant de la wilaya d'Aïn Témouchent, au nord-ouest de l'Algérie. Cette région se caractérise par un climat méditerranéen, marqué par des étés chauds et secs et des hivers doux et relativement humides.

La grotte constitue un milieu souterrain particulier, caractérisé par une faible luminosité, une humidité élevée ainsi qu'une relative stabilité des conditions physico-chimiques. Ces caractéristiques sont connues pour influencer fortement la diversité microbienne des environnements souterrains.

En effet, ces conditions écologiques spécifiques favorisent le développement de microorganismes adaptés, notamment les actinomycètes, capables de survivre dans des milieux extrêmes et de produire des métabolites secondaires d'intérêt. (Barka *et al.* 2016)

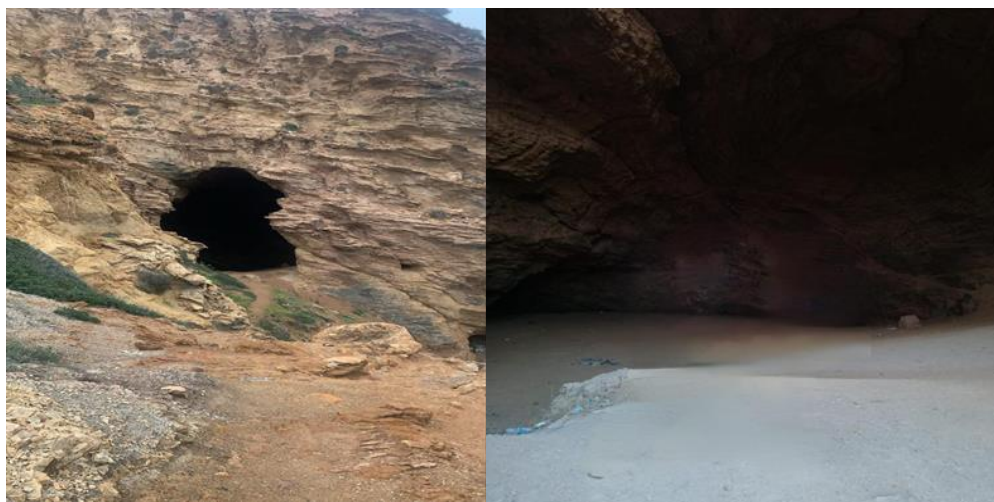


Figure 5. Vue générale de la zone de prélèvement de Grotte d' El Ourdania.

3.1.3. Bain d'eau minéral de Sidi Aïd

Le site de Sidi Aïd (**Figure 06**) est situé dans la région de Hammam Bouhadjar, dans la wilaya d'Aïn Tmouchent, au nord-ouest de l'Algérie. Il correspond à une zone caractérisée par la présence de sources d'eaux minérales naturelles issues de circulations souterraines profondes à travers des formations géologiques riches en minéraux.



Figure 6. Vue générale de la zone de prélèvement de bain d'eau minéral de Sidi Aïd.

Les zones localisées en proximité des sources d'eaux minérales sont des niches écologiques spécifiques, caractérisées par une humidité importante et une composition minérale appropriée, puissent favoriser l'épanouissement de microorganismes adaptés, et notamment certains actinomycètes. (Leclerc et da Costa 2004)

3.2. Échantillonnage

Douze échantillons du sol ont été prélevés à partir de différents endroits de sebkha de la grotte d'Ourdania et du bain d'eau minérale de Sidi Aïd

3.2.1. Sebkha de Hassi El Ghella

Les prélèvements ont été réalisés le 02 février à partir de différentes profondeurs, notamment la couche superficielle, ainsi qu'à environ 10 cm et 20 cm de profondeur, afin d'obtenir des échantillons représentatifs des différentes strates du sol.

Une quantité d'environ 10 g de sol a été prélevée à l'aide d'une spatule stérile et placée dans des pots stériles hermétiquement fermés.

Les trois échantillons ont été codifiés respectivement comme suit : S1 (couche superficielle), S2 (10 cm de profond) et S3 (20 cm). **Figure 07**



Figure 7. Prélèvement des échantillons à partir de la sebkha de Hassi El Ghella.

3.2.2. Sol de la Grotte d'El Ourdania

Des prélèvements de sol ont été réalisés le 03 février à partir de 3 différents sites sélectionnés (la couche superficielle, 10 cm et 20 cm de profondeur) selon une méthode aseptique rigoureuse.

Environ 10 g de sol ont été prélevés de chaque sites à l'aide d'une cuillère préalablement stérilisées, puis introduits dans des pots stériles.

Chaque échantillon a été soigneusement étiqueté en mentionnant le site de prélèvement, la profondeur ainsi que la date de collecte. L'ensemble de ces précautions vise à maintenir l'intégrité physico- chimique et microbiologique des échantillons, condition essentielle pour garantir la fiabilité des analyses ultérieures. (Farda *et al.* 2022)

Les échantillons ont été codifiés respectivement comme suit : G1 (couche superficielle), G2 (10 cm de profond) et G3 (20 cm).

3.2.3. Bain d'eau minérale de Sidi Aïd

Les prélèvements ont été réalisés le 07 mars à une distance d'environ 1 mètre et 2 mètres de la source, afin d'éviter les zones directement influencées par l'écoulement de l'eau.

Des échantillons de sol ont été collectés à différentes profondeurs (la couche superficielle, 10 cm et 20 cm de profondeur) pour chaque point de prélèvement. Cette approche permet d'obtenir des échantillons représentatifs tout en limitant l'effet de la saturation en eau, susceptible d'influencer la composition microbienne.

Les six échantillons ont été codifiés comme suit : à 1 mètre de la source (B1 : couche superficielle, B2 : 10 cm de profond, B3 : 20 cm) et à 2 mètres (A1 : couche superficielle, A2 : 10 cm, A3 : 20 cm).

3.3. Prétraitement

3.3.1. Séchage à l'air

Après la collecte, les échantillons de sols (12 échantillons) ont été étalés (**Figure 08**) en fines couches sur des papiers aluminiums puis laissés à sécher à l'air libre pendant une durée de 7 à 10 jours. Le séchage a été réalisé à température ambiante, dans un endroit sec, bien aéré et à l'abri de la lumière solaire directe, afin d'éviter toute altération des microorganismes présents. Ce prétraitement a comme effet la réduction de la flore bactérienne dans les échantillons du sol. (**Suwan *et al.* 2012**)



Figure 8. Séchage des échantillons sur papier aluminiums.

3.3.2. Traitement thermique

Au laboratoire, les échantillons de sol ont d'abord été broyés délicatement à l'aide d'un mortier stérile et tamisés (maille de 2 mm) afin d'éliminer les débris végétaux et les pierres et d'obtenir une poudre fine et homogène.

Les échantillons de sol séchés (**Figure 09**) ont été soumis à un traitement thermique à 55°C pendant une heure à l'aide d'un four pasteur. Ce chauffage modéré permet d'éliminer une grande partie des bactéries non sporulées et sensibles à la chaleur, tout en préservant les spores des actinomycètes, ce qui constitue une étape sélective essentielle. (**Barka *et al.* 2016**)

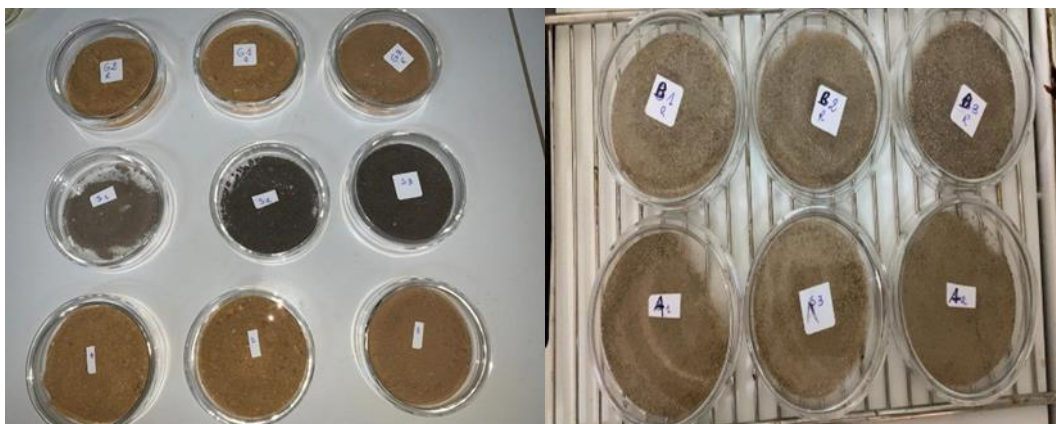


Figure 9. Les échantillons de sol après traitement thermique à 55°C pendant 1 heure.

3.4. Isolement des actinomycètes

3.4.1. Milieu d'isolement

Un milieu de culture recommandée pour l'isolement des actinomycètes a été utilisé, qui est milieu caséine amidon agar (CAA) (**Sharma *et al.* 2011**).

La composition de milieu de culture est donnée dans l'annexe 1. Le pH de ce milieu de culture est ajusté à raison de 7.4 - 7.9.

3.4.2. Préparation des suspensions mères

Une masse de 1 g de sol prétraité a été pesée à l'aide d'une balance analytique, puis introduite dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile. Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un agitateur pendant quelques minutes afin de détacher les microorganismes des particules de sol et d'obtenir une suspension mère homogène.

3.4.3. Réalisation des dilutions décimales

À partir de la suspension mère, une série de cinq dilutions décimales successives (10^{-1} à 10^{-5}) a été réalisée. Chaque dilution a été obtenue en transférant aseptiquement 1 ml de la solution précédente dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile, suivi d'une homogénéisation soigneuse. Cette étape permet de diminuer progressivement la concentration microbienne afin d'obtenir des colonies isolées.

3.4.4. Ensemencement

Un volume de 0,1 ml de chaque dilution (de 10^{-3} à 10^{-5} ml/g) a été étalé à la surface d'un milieu sélectif pour les actinomycètes, à savoir la gélose amidon-caséine, dont la composition est présentée en annexe 1. L'ensemencement a été réalisé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile,

en étalement sous forme de râteau. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque échantillon. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 30 °C pendant une période de 7 à 14 jours, pouvant être prolongée jusqu'à 21 jours en fonction de la vitesse de croissance des actinomycètes, conformément aux protocoles décrits par **(Sudha et Hemalatha 2015)**

3.4.5. Purification des souches

Les colonies présentant des similitudes au niveau de leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques sont sélectionnées afin d'être purifiées dans le but d'obtenir des cultures pures. À l'aide d'une pipette pasteur stérile, une colonie a été prélevée à partir du milieu d'isolement, puis ensemencée par la technique d'épuisement en stries sur le même milieu de culture. Cette opération a été répétée jusqu'à l'obtention de cultures pures. **(Boussaber et al. 2012)**

3.4.6. Conservation

Les souches pures d'actinomycètes obtenues ont été conservées par ensemencement sur des tubes de gélose nutritive inclinée. Les cultures ont ensuite été incubées à 30 °C pendant 7 jours, puis conservées à 4 °C afin de préserver leur viabilité en vue d'une identification ultérieure. **(Kholkhal 2005)**

3.5. Caractérisation des isolats

3.5.1. Caractères macroscopiques

La caractérisation macroscopique des isolats a été réalisée par observation directe des colonies après 7 et 14 jours d'incubation sur le milieu CAA. Les paramètres étudiés, selon la méthode de **(Shirling et Gottlieb 1966)**, comprennent :

- La morphologie des colonies : aspect (crayeux, cotonneux, poudreux), forme (circulaire ou irrégulière), élévation (plate, bombée ou convexe) et type de contours (réguliers ou filamenteux).
- La texture : consistance des colonies (coriace, pâteuse, etc.).
- La pigmentation : coloration du mycélium aérien, du mycélium de substrat (revers) ainsi que la production éventuelle de pigments diffusibles.
- La sporulation : degré de production des spores (absente, faible, modérée ou abondante).

3.5.2. Caractères microscopique

Toutes les colonies qui se rapprochent par leurs aspects macroscopiques aux actinomycètes, colonies dures et incrustées dans la gélose, sont observées au microscope optique, en utilisant la coloration simple par le bleu de méthylène, ainsi que la coloration de Gram.

L'observation au microscope optique est effectuée avec des grossissements gradués ($\times 10$, $\times 40$, $\times 100$). (Kalita et Sciences 2012)

3.5.3. Caractères physiologique et biochimique

Une série de tests physiologiques et biochimiques est utilisée par les taxonomistes pour l'identification et la différenciation des différentes espèces d'actinomycètes.

3.5.3.1. Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme généralement produite par les bactéries à métabolisme respiratoire, jouant un rôle dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène en libérant de l'oxygène.

La mise en évidence de cette enzyme a été réalisée en déposant une petite quantité de la colonie suspecte dans une goutte de peroxyde d'hydrogène à 3 % sur une lame stérile. L'apparition rapide de bulles de gaz traduit une réaction positive, indiquant la présence de la catalase et la décomposition du peroxyde d'hydrogène. En revanche, l'absence de formation de bulles témoigne d'une réaction négative, révélant l'absence de cette enzyme. (Tabak et Bensoltane 2012)

3.5.3.2. Recherche de l'oxydase

Le test de l'oxydase repose sur la mise en évidence de l'enzyme cytochrome c oxydase, impliquée dans la chaîne respiratoire bactérienne. La recherche de cette enzyme est réalisée à l'aide de disques imprégnés de réactif oxydase. À partir d'un milieu solide, une colonie bactérienne est prélevée à l'aide d'un instrument stérile puis déposée sur un disque oxydase placé sur une lame. L'apparition rapide d'une coloration violette à bleu foncé indique une réaction positive, traduisant la présence de l'enzyme oxydase. En revanche, l'absence de coloration ou une réaction tardive est interprétée comme un test négatif. (Patrick R. Murray *et al.* 2019)

3.5.3.3. Recherche d'une caséinase

La caséine, une protéine présente dans le lait, peut être hydrolysée par certaines espèces bactériennes. Chaque isolat bactérien testé est ensemencé sur un milieu gélosé en boîte de Pétri additionné de 5 % de lait stérile. Les boîtes sont ensuite incubées à 30 °C pendant 7 jours. L'observation des zones d'éclaircissement du milieu autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la caséine (caséine +). (Schofield et Schaal 1981) (Annexe 1).

3.5.3.4. L'hydrolyse de l'amidon

Ce test est réalisé sur milieu nutritif gélosé contenant 1% d'amidon soluble. Après incubation de 7 jours à une température de 30°C. La présence d'hydrolyse de l'amidon est démontrée par l'absence de colorant autour des colonies. Cependant, les autres régions médianes qui ferment l'amidon se teintent de couleur brune. (Kitouni 2007)

3.5.3.5. Dégradation de la gélatine

Les isolats actinomycètes ont été ensemencés sur une gélose nutritive contenant 0,4 % de gélatine, puis incubés à 30 °C. Les zones claires observées autour des colonies correspondent à l'hydrolyse de la gélatine. (Schofield et Schaal 1981)

3.5.3.6. Croissance en présence d'inhibiteurs

3.5.3.6.1. Différentes concentrations de Na Cl

Le milieu amidon-caséine contenant des concentrations croissantes en Na Cl (3,5, 7, 9 et 10 %) est ensemencé par les spores prélevées d'une culture de 7 jours de l'isolat d'actinomycètes identifié.

L'incubation est réalisée à la température de 30 °C pendant 7 jours.

3.5.3.6.2. Croissance à différentes températures

Chaque bactérie possède une température optimale pour sa croissance, ainsi que des limites thermiques au-delà desquelles elle ne se développe pas. L'objectif de ce test est d'observer la croissance des souches à diverses températures sur le milieu amidon-caséine. La croissance des actinomycètes a été examinée à température ambiante, à 30 °C, à 40 °C et à 4 °C pendant 7 jours. (Meklat *et al.* 2020)

3.6. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des souches d'actinomycètes isolées a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose dite « cylindres agar ».

3.6.1. Revivification des souches de références

Tous les microorganismes tests utilisés pour la mise en évidence de l'activité antimicrobienne sont des souches de références ATCC conservées dans le Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) Université de Tlemcen.

Pour cela, nous avons utilisé cinq bactéries et deux levures, dont deux à Gram positifs : *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC29212), trois à Gram négatifs : *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 70603), *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Proteus mirabilis* (ATCC 35659) et deux levure *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida kefyr* (ATCC 8553). (Figure 10)

Les souches bactériennes tests ont été soumises à une étape d'enrichissement. Pour cela, une anse de platine a été utilisée pour ensemencer les bactéries dans des tubes contenant du Brain Heart Infusion Broth, la composition ce milieu est donné dans l'annexe 1, suivie d'une incubation à 37°C pendant 18 heures.



Figure 10. Les souches de référence.

3.6.2. Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé en prélevant 100 μ l de la suspension bactérienne, puis en l'ajoutant à 5 ml de Brain Heart Infusion Broth afin d'obtenir une suspension homogène.

L'ensemencement a été réalisé par écouvillonnage en surface sur des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller–Hinton agar (Annexe 1), selon la méthode des trois cadrans, afin d'obtenir un tapis bactérien uniforme.

3.6.3. Évaluation de l'activité antimicrobienne

Les souches d'actinomycètes utilisées ont été pré-cultivées afin d'obtenir un tapis bactérien. Pour cela, les souches ont étéensemencées sur un milieu de gélose amidon caséine puis incubées à 30°C pendant 7 jours, permettant ainsi le développement d'un tapis microbien suffisant pour les tests ultérieurs.

Après incubation, des disques de gélose (cylindres agar) contenant les souches d'actinomycètes ont été prélevés à l'aide d'une embouteuse de micropipettes stériles, puis déposés délicatement à la surface du milieu Mueller-Hinton préalablement ensemencé par les micro-organismes tests.

Les boîtes sont maintenues à 4°C pendant 2 à 4 heures afin de permettre la diffusion des composés antimicrobiens dans la gélose. Les boîtes ont été incubées à une température de 30°C pendant 24 heures. **Figure 11**

Après incubation, l'activité antibactérienne a été mise en évidence par l'apparition de zones d'inhibition autour des disques de gélose, traduisant l'effet inhibiteur des métabolites produits par les actinomycètes sur la croissance des bactéries testées. (**Pazhanimurugan et al. 2012**)

Cette méthode est utilisée pour le criblage des actinomycètes producteurs d'antibiotiques, en raison de sa simplicité et de sa capacité à mettre en évidence l'activité antimicrobienne des métabolites secondaires diffusibles. (**Barka et al. 2016**)

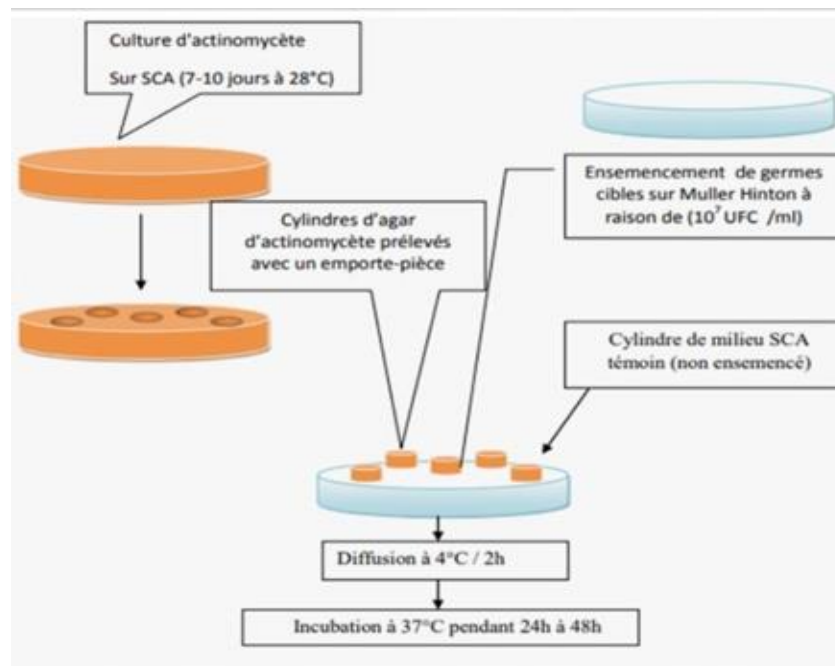


Figure 11. Test de mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des cylindres d'agar.

(Haiaq 2023)

Résultats et Discussions

4.1. Étude morphologique des actinomycètes

L'étude morphologique des actinomycètes est basée sur l'identification des aspects macroscopiques observés à l'œil nu, ainsi qu'aux différentes observations microscopiques des différents isolats obtenus.

Après une période d'incubation de 14 à 21 jours à une température de 30°C sur un milieu contenant de l'amidon et de la caséine, les colonies typiques des actinomycètes commencent à apparaître, ils sont repiqués dans le même milieu d'isolement. Les genres d'actinomycètes sont principalement caractérisés par les propriétés morphologiques, tant macroscopiques que microscopiques, des souches d'actinobactéries. Les étapes d'isolement et de purification ont permis d'obtenir trois souches d'actinomycètes.

4.1.1. Aspects macroscopiques

Les colonies obtenues ont de tailles différentes (petite, moyenne, grande) de forme variable (lisse, bombé, aplatie...etc.) sont toutes incrustées dans la gélose, possédant un mycélium végétatif surmonté d'un mycélium aérien de couleurs différentes (gris, blanche, noir...etc.).

L'aspect macroscopique des isolats est différent. Certains forment des colonies de grande taille, d'autres de taille moyenne et certains d'autres forment des colonies de petite taille. La forme des colonies était différente aussi : colonies bombées, aplatie, poudreuse...etc. (**tableau 02 et figure 11**).

Tableau 2. Aspect macroscopique des souches actinomycètes sur le milieu caséine amidon.

Souche	Taille	Forme	Pigmentation	
			Mycélium aérien	Mycélium végétatif
S	6/8 mm	Poudreuse avec centre bombé et contour irrégulier	Grisâtre	Translucide
G	2/4 mm	Granuleuse dispersée	Brune	Translucide
B	6/7 mm	Poudreuse avec centre bombe et contour irrégulier	Blanche	Translucide

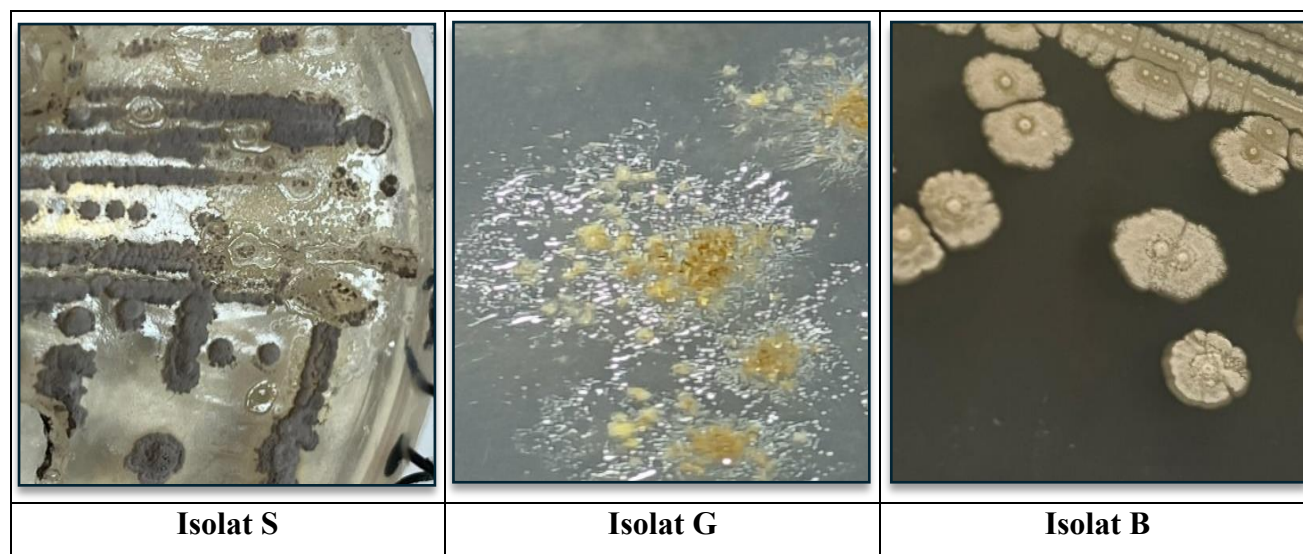


Figure 12. Observation macroscopique des isolats d'actinomycètes.

1.1.2. L'aspect microscopique

L'aspect microscopique, indique que tous les isolats ont un aspect filamenteux ramifié segmenté ou non, parfois il est fragmenté, ce qui les rapproche d'une façon certaine aux actinomycètes.

Après la coloration de Gram, des différents isolats d'actinomycètes, les observations microscopiques (100×G) des 3 souches sont représentées dans la figure ci-dessous. Ces observations montrent que les souches d'actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à coloration de Gram positif. Les trois isolats présentent un mycélium du substrat non fragmenté et un mycélium aérien sous forme de filaments fins, ramifiés sur les milieux solides qui se terminent par des chaînes de spores portés par des sporophores de différentes formes.

Il est à noter aussi qu'aucune autre structure n'est observée comme les sporanges ou les sclérotes. La coloration de Gram a permis de mettre en évidence que les trois isolats d'actinobactéries sont des bactéries à coloration Gram positif. **(Figure 13)**

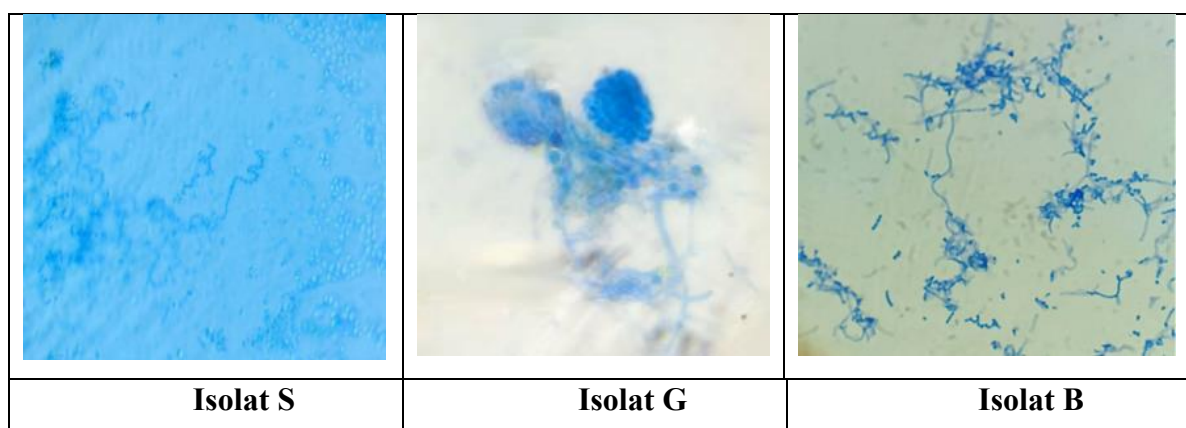


Figure 13. Observation microscopique des isolats d'Actinomycètes (x100).

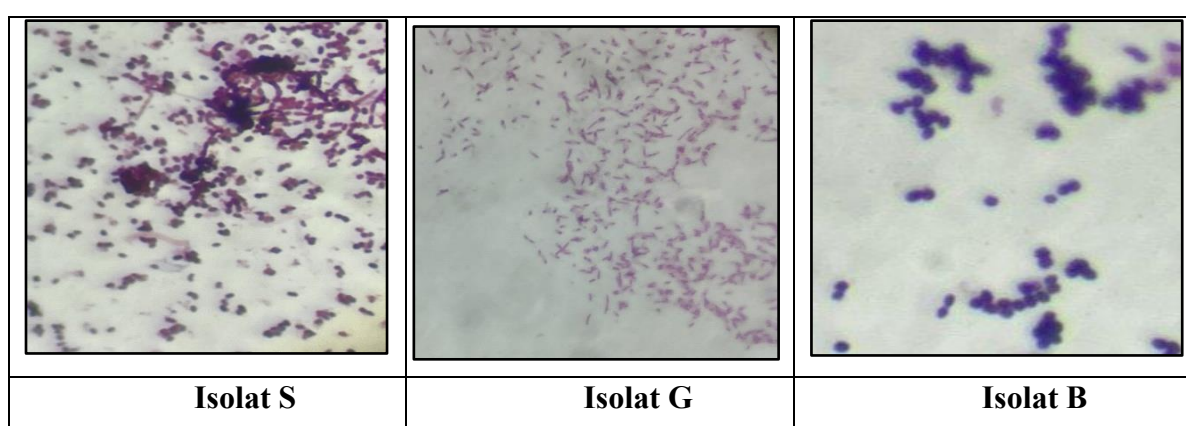


Figure 14. Observation microscopique après coloration de Gram des isolats Actinomycète.

4.2. Identification biochimique et physiologiques

Les résultats des tests biochimiques sont rassemblés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3. Caractéristiques biochimiques des trois isolats.

Code de souche	S	G	B
Recherche de la catalase	+	+	—
Recherche de l'oxydase	—	—	—
Hydrolyse de la caséine	+	+	—
Hydrolyse de l'amidon	+	—	+
Hydrolyse de la gélatine	+	—	+
(+) : Test positif ; (-) : Test négatif			

4.2.1. Recherche de la catalase

Le test de la catalase a été réalisé sur les différentes souches d'actinomycètes isolées à partir des divers sites d'étude. Après l'ajout d'une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sur

les colonies bactériennes, la souche S isolée de la sebkha a présenté une réaction positive, caractérisée par l'apparition immédiate et visible de bulles d'oxygène. La souche isolée de la grotte a également montré une activité positive avec un dégagement gazeux observable. Par contre, la souche B provenant du bain d'eau minérale de Sidi Aïd n'a présenté aucune formation de bulles, indiquant une réaction catalase négative. (**Figure 15**)

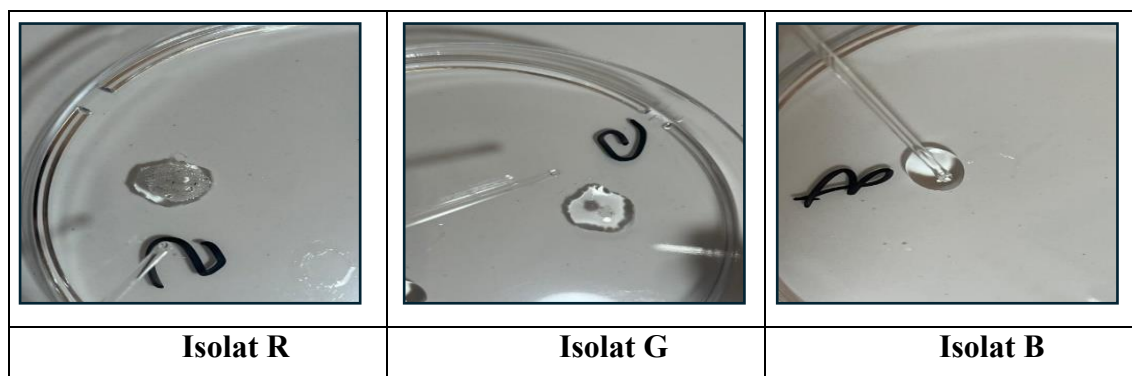


Figure 15. Résultats du test catalase des isolats d'actinomycètes.

4.2.3. Recherche d'oxydase

Concernant le test de l'oxydase, toutes les souches étudiées ont présenté une réaction négative. Après l'ajout du réactif d'oxydase, aucune coloration violette ou bleu foncé n'a été observée au niveau des colonies testées, ce qui indique l'absence d'activité de l'enzyme cytochrome oxydase dans les conditions expérimentales utilisées.

Ce résultat suggère que les souches isolées n'utilisent pas ce système enzymatique particulier dans leur chaîne respiratoire.

4.2.3. Hydrolyse de la caséine

La caséine est une protéine complexe présente dans le lait et peut être hydrolysée par certaines bactéries grâce à la production d'enzymes protéolytiques. La figure 16 illustre les résultats de l'hydrolyse de la caséine obtenus pour les différentes souches d'actinomycètes étudiées. D'après les résultats observés, seules les souches S et G ont montré une activité positive vis-à-vis de ce substrat. Cette activité s'est traduite par l'apparition d'une zone claire autour des colonies, témoignant de la dégradation de la caséine présente dans le milieu de culture. Cependant, la souche B n'est pas présentée aucune zone d'hydrolyse, indiquant une absence d'activité caséinolytique.

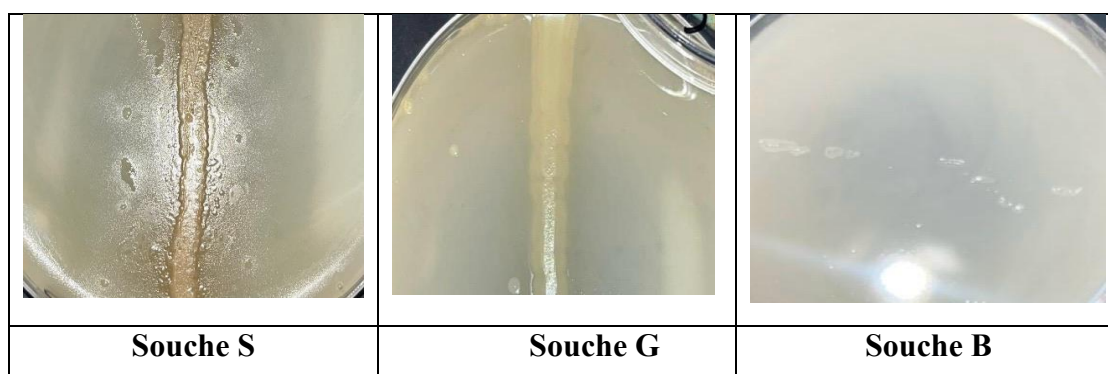


Figure 16. Résultats de l'hydrolyse de la caséine des souches d'actinomycètes.

4.2.4. Dégradation de l'amidon

L'amidon est un polysaccharide constitué d'un grand nombre d'unités de glucose reliées entre elles. Certaines bactéries possèdent la capacité de dégrader cette macromolécule grâce à la production d'enzymes amylolytiques qui transforment l'amidon en composés plus simples assimilables par la cellule.

L'examen de données obtenues montre que les souches S et B ont une réaction positive, traduite par l'apparition d'une zone claire autour des colonies, indiquant l'hydrolyse de l'amidon. En revanche, la souche G ne présente aucune zone de clarification.

4.2.5. Hydrolyse de la gélatine

La gélatine est une protéine dérivée du collagène qui peut être hydrolysée par certaines bactéries grâce à la production d'enzymes protéolytiques.

La figure 17 présente les résultats de l'hydrolyse de la gélatine obtenus pour les différentes souches d'actinomycètes isolées. Les résultats du test de dégradation de la gélatine ont montré une variabilité entre les souches étudiées. La souche isolée de la sebkha et la souche isolée du bain d'eau minéral de Sidi Aid ont présentés une activité gélatinolytique positive, mise en évidence par la présence d'une zone d'hydrolyse autour de la culture. Ces résultats montrent que la gélatine du milieu a été hydrolysée par la gélatinase sécrétés par ces souches. Cependant, la souche G ne présente aucun ne signe d'hydrolyse, ce qui témoigne de l'absence de l'enzyme gélatinasse chez cette souche.

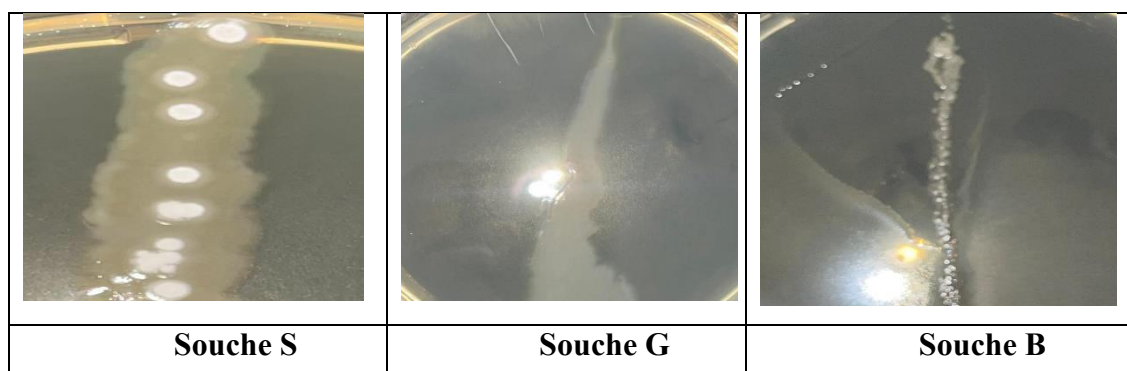


Figure 17. Résultats de l'hydrolyse de la gélatine des souches d'actinomycètes.

4.2.6. Tolérance aux différents degrés de température et de salinité

Les résultats illustrés par le **Tableau 4** et la **Figure 18** montrent que la souche S a montré une croissance à des concentrations de 3 %, 5 % et 7 % de NaCl. Les souches G et B n'ont présenté une croissance qu'à 7 % de NaCl. En revanche, aucune croissance n'a été observée chez les trois souches aux concentrations de 9 % et 10 % de NaCl.

D'autre part, Les souches testées sont capables de croître dans une gamme de température allant de 20 à 30°C. Aucune croissance n'a été observée à 4°C. En revanche, les souches S et B ont montré une croissance à 40°C, tandis que la souche G n'a montré aucun développement à cette température.

Tableau 4. Résultats de la tolérance à la salinité et aux différentes températures.

Souche	Croissance à différentes températures (°C)				Croissance à différentes concentrations de NaCl (%)				
	4	20	30	40	3	5	7	9	10
S	–	+	+	+	+	+	+	–	–
G	–	+	+	–	–	+	–	–	–
B	–	+	+	+	–	+	–	–	–

(+) : positif ; (-) : négatif, (°C) : croissance à différentes températures, (%) : concentration de NaCl.

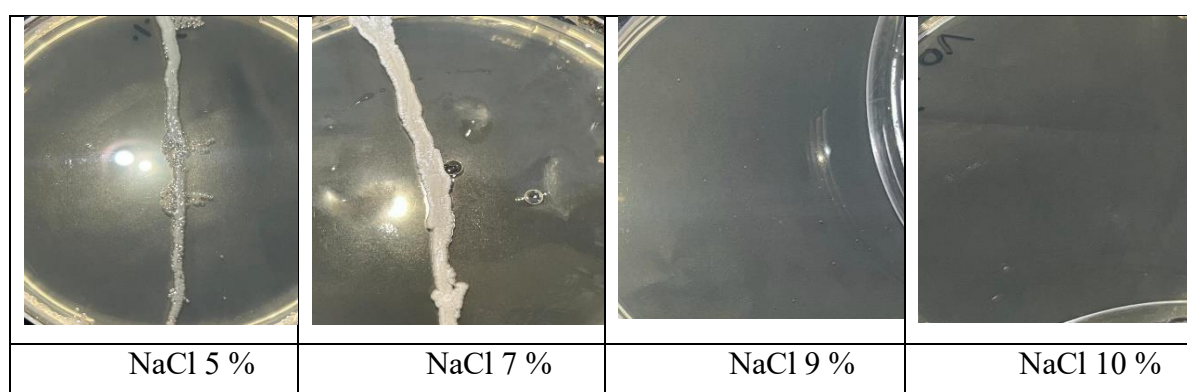


Figure 18. Résultats de la tolérance aux salinités de la souche de sebkha S.

4.3. Résultats de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des souches d'actinomycètes isolées a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar (agar plug), afin de sélectionner les souches capables de produire des substances antimicrobiennes actives contre les bactéries tests.

Les résultats obtenus ont été déterminés par la mesure des diamètres des zones d'inhibition exprimés en millimètres (mm). Les différentes activités observées sont présentées dans le **tableau 05**.

Tableau 5. Résultats de l'activité antimicrobienne (en mm) des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des souches testées.

Code de souche	G	S	B
<i>Candida kefyr</i> (ATCC 8553)	/	7	/
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	7	8	/
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	7	9	13
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	6	11	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 70603)	/	8	/
<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 35659)	/	/	/
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	8	12	/

Les résultats obtenus montrent que les souches étudiées présentent une activité antimicrobienne variable vis-à-vis des microorganismes testés. Les isolats G et S sont actifs contre au moins une bactérie ou une levure testée, tandis que l'isolat B est actif uniquement contre *Escherichia coli*.

L'isolat G agit contre *Candida albicans*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*. L'isolat S est actif contre *Candida kefyr*, *Candida albicans*, *E. coli*, *E. faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* et *S. aureus*, avec des zones d'inhibition importantes.

Par contre, aucune activité antimicrobienne n'a été observée contre *Proteus mirabilis* pour l'ensemble des souches testées. La plus grande zone d'inhibition est obtenue par l'isolat B contre *E. coli* avec un diamètre de 13 mm, suivie par l'isolat S contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 12 mm. La plus faible zone d'inhibition est observée chez l'isolat G contre *E. faecalis* avec un diamètre de 6 mm.

4.4. Discussion

Les infections urinaires figurent parmi les infections bactériennes les plus fréquentes dans le monde et sont principalement causées par des bactéries uropathogènes telles qu'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*. L'émergence croissante des bactéries multi résistantes aux antibiotiques constitue aujourd'hui un véritable problème de santé publique. Ainsi, la recherche de nouvelles alternatives thérapeutiques est une nécessité absolue. Les actinomycètes extrémophiles isolés à partir de milieux extrêmes représentent une source prometteuse et inexplorée de métabolites secondaires bioactifs. C'est dans cette perspective que s'inscrit notre étude réalisée à partir d'isolats provenant de trois écosystèmes différents de la région d'Aïn Témouchent. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence différentes caractéristiques morphologiques, physiologiques et antibactériennes vis-à-vis les souches pathogènes étudiées. La discussion des résultats a été réalisée en le comparant aux données rapportées dans la littérature afin de mieux apprécier leur intérêt taxonomique et leur potentiel antimicrobien.

Dans le cadre de la caractérisation des souches d'actinomycètes isolées, une étude des caractères macroscopiques et microscopiques a été réalisée. Cette analyse a permis d'examiner l'aspect des colonies, leur couleur, leur texture ainsi que le développement du mycélium aérien sur les différents milieux de culture.

L'observation microscopique, réalisée après coloration de Gram et au bleu de méthylène, a également permis d'étudier la morphologie cellulaire, l'organisation du mycélium et les structures de sporulation. Les résultats obtenus ont contribué à une première identification des isolats et à leur rattachement au groupe des actinomycètes filamenteux, l'examen des caractères morphologiques et microscopiques des souches étudiée a permis de mettre en évidence plusieurs traits caractéristiques des actinomycètes filamenteux.

Sur les différents milieux de culture utilisés, les colonies observées présentaient généralement un aspect sec, poudreux et fortement adhérent au substrat, accompagné d'un développement important du mycélium aérien. Une pigmentation blanchâtre à crème a également été observée chez la majorité des isolats. Ces caractéristiques concordent avec les descriptions de **(Shirling et Gottlieb 1966)**, selon lesquelles les espèces du genre *Streptomyces* forment habituellement des colonies sèches, poudreuses et abondamment mycéliennes.

L'observation microscopique après coloration de Gram a montré que les souches étudiées étaient Gram positif et constituées de filaments fins et ramifiés. Des résultats similaires ont été rapportés par **(Williams et al. 1983)**, qui décrivent les actinomycètes comme des bactéries à

Gram positif possédant un réseau complexe d'hyphes ramifiées. De même, (**Barka *et al.* 2016**) ont souligné que la morphologie filamenteuse représente l'un des principaux critères taxonomiques du genre *Streptomyces*.

L'examen au bleu de méthylène a également permis d'observer un mycélium abondant et bien développé chez l'ensemble des isolats. Cette organisation mycélienne est comparable à celle décrite par (**Kämpfer et Glaeser 2012**), qui a montré que les actinomycètes développent un mycélium végétatif et aérien fortement ramifié, favorisant leur adaptation aux différentes conditions environnementales. Concernant la sporulation, les souches **S** et **B** ont présenté des spores disposées en chaînes le long des filaments aériens, alors que la souche **G** a montré des structures sporulées regroupées en amas au niveau des extrémités des hyphes. Ces observations sont en accord avec celles rapportées par (**Bergey 1994**), qui considèrent l'organisation des spores comme un critère important dans l'identification des actinomycètes, notamment chez les représentants du genre *Streptomyces*. Cependant, certaines différences morphologiques ont été signalées dans la littérature. (**Williams et Davies 1967**) ont notamment décrit des actinomycètes possédant des spores à surface lisse, rugueuse ou épineuse ainsi que des chaînes sporales de morphologies variées. De plus, (**Goodfellow *et al.* 2012**) ont rapporté que certaines espèces produisent des pigments intensément colorés, tels que le gris, le vert, le rouge ou le brun ce qui a été constaté dans nos résultats notamment pour les souches **G**, avec pigmentation rouillée, la souche **S**, avec une pigmentation grise du mycélium aérien.

Globalement, les caractéristiques macroscopiques et microscopiques observées chez les souches étudiées correspondent à celles décrites pour les actinomycètes filamenteux, et plus particulièrement pour les espèces du genre *Streptomyces*. Ces résultats constituent ainsi un premier élément en faveur de leur appartenance à ce groupe bactérien.

D'autre part, les tests biochimiques montrent que les trois souches étudiées possèdent une activité catalase positive. Cette caractéristique est fréquemment observée chez les actinomycètes aérobies, chez lesquels la catalase joue un rôle important dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif provoqué par les espèces réactives de l'oxygène. Des résultats similaires ont été rapportés par (**Barka *et al.* 2016**), qui indiquent que la majorité des actinomycètes du genre *Streptomyces* présentent une réaction catalase positive. De même, (**Williams *et al.* 1983**) ont signalé que cette propriété constitue l'un des caractères physiologiques fréquemment rencontrés chez les actinomycètes isolés à partir du sol. Toutefois, certains auteurs ont observé des réactions variables selon les espèces étudiées. Ainsi, (**Kämpfer et Glaeser 2012**) a rapporté l'existence de certaines espèces d'actinomycètes présentant une faible activité catalasique ou

une réaction négative. Ces différences peuvent être liées à la diversité génétique des isolats ainsi qu'aux conditions écologiques de leur habitat d'origine.

Afin de compléter la caractérisation physiologique des souches étudiées, des tests enzymatiques ont également été réalisés. Ces analyses ont porté sur la mise en évidence de l'activité catalasique et oxydasique, deux caractères fréquemment utilisés dans l'identification et la différenciation des microorganismes. Les résultats obtenus ont permis d'évaluer certaines propriétés métaboliques des isolats et de les comparer aux données décrites dans la littérature.

Les résultats obtenus au test de l'oxydase montrent que toutes les souches étudiées ont présenté une réaction négative. Cette observation suggère l'absence de cytochrome c oxydase ou une expression insuffisante de cette enzyme dans les conditions de culture utilisées. Des résultats comparables ont été rapportés par (**Williams *et al.* 1983**) ainsi que par (**Kämpfer et Glaeser 2012**), qui ont montré que plusieurs espèces d'actinomycètes présentent une réaction négative au test de l'oxydase malgré leur capacité à se développer en conditions aérobies. En revanche, certains travaux ont mis en évidence des souches d'actinomycètes oxydase positives. (**Shirling et Gottlieb 1966**) ont notamment signalé que certaines espèces appartenant à différents groupes taxonomiques d'actinomycètes peuvent présenter une activité oxydasique détectable. Ces variations sont généralement attribuées à la diversité physiologique des espèces ainsi qu'aux différences des systèmes respiratoires utilisés par les microorganismes.

L'étude de la dégradation de l'amidon a révélé que les souches **S** et **B** sont capables d'hydrolyser cette macromolécule grâce à la production d'enzymes amylolytiques. Ces observations sont en accord avec celles rapportées par (**Williams *et al.* 1983**) ainsi que par (**Shirling et Gottlieb 1966**), qui ont montré que plusieurs espèces du genre *Streptomyces* possèdent une forte activité amylolytique. À l'inverse, la souche **G** n'a présenté aucune activité de dégradation de l'amidon. Des résultats différents ont été obtenus par (**Aghamirian et Ghiasian 2009**), chez lesquels la majorité des isolats étudiés présentaient une activité amylolytique positive. Cette variabilité peut être attribuée aux différences physiologiques et métaboliques existant entre les souches.

Concernant l'hydrolyse de la caséine, les souches **S** et **B** ont présenté une activité positive, mise en évidence par l'apparition d'une zone claire autour des colonies. Cette capacité traduit la production d'enzymes protéolytiques capables de dégrader les protéines complexes du milieu. Des résultats similaires ont été rapportés par (**Barka *et al.* 2016**) ainsi que par (**Williams *et al.* 1983**), qui ont montré que de nombreuses espèces d'actinomycètes possèdent une importante activité protéolytique leur permettant d'utiliser diverses sources organiques. En revanche,

la souche **G** n'a présenté aucune activité caséinolytique dans les conditions de l'essai. Des résultats divergents ont toutefois été observés par (**Atlas 2010**), qui a signalé que certaines espèces d'actinomycètes isolées de sols naturels étaient capables d'hydrolyser la caséine de manière systématique. Cette différence pourrait être liée à la diversité génétique des isolats ou aux conditions expérimentales utilisées

Les résultats relatifs à l'hydrolyse de la gélatine montrent que les souches **S** et **B** possèdent une activité gélatinolytique, contrairement à la souche **G**. Cette capacité est due à la production de gélatinases permettant la dégradation de la gélatine en composés plus simples assimilables par la cellule. Des observations similaires ont été rapportées par (**Atlas 2010, Barka et al. 2016**) qui ont signalé que la production d'enzymes extracellulaires constitue une caractéristique fréquemment rencontrée chez les actinomycètes. Cependant, certaines études ont montré une activité gélatinolytique plus largement répandue parmi les isolats étudiés, ce qui diffère des résultats obtenus dans notre travail. Ces variations peuvent être expliquées par l'origine écologique des souches et leurs caractéristiques physiologiques propres. L'étude de la tolérance au NaCl a montré que les souches étudiées présentent des comportements différents vis-à-vis de la salinité. La souche **S** a été capable de croître à 3 %, 5 % et 7 % de NaCl, tandis que les souches **G** et **B** n'ont montré une croissance qu'à 7 %. Aucune croissance n'a été observée à 9 % et 10 % de NaCl. Ces résultats indiquent que les isolats possèdent une certaine capacité d'adaptation aux milieux salins tout en restant sensibles aux fortes concentrations en sel. Des résultats comparables ont été rapportés par (**Goodfellow et al. 2012**), qui ont montré que plusieurs actinomycètes isolés de milieux extrêmes présentent une tolérance modérée à la salinité. En revanche, d'autres travaux ont signalé l'existence de souches halophiles capables de croître à des concentrations supérieures à 10 % de NaCl (**Ventosa 2009**). Les différences observées pourraient être liées à l'origine des isolats ainsi qu'aux mécanismes d'adaptation développés par chaque souche face au stress osmotique

L'étude de l'influence de la température sur la croissance des souches d'actinomycètes isolées a montré que les isolats étudiés se développent à la température ambiante (20–25 °C) ainsi qu'à 30 °C. En revanche, aucune croissance n'a été observée à 4 °C pour l'ensemble des souches. Par ailleurs, les souches **S** et **B** ont présenté une croissance à 40 °C, contrairement à la souche **G** qui n'a montré aucun développement à cette température. Ces résultats suggèrent que les souches étudiées appartiennent principalement au groupe des actinomycètes mésophiles, dont la température optimale de croissance se situe généralement entre 25 et 30 °C. Des observations similaires ont été rapportées par (**Barka et al. 2016**), qui indiquent que la majorité des actinomycètes du sol présentent une croissance optimale dans cette gamme de températures. De

même, (**Kroppenstedt et Evtushenko 2006**) ont montré que plusieurs espèces d'actinobactéries se développent préférentiellement entre 28 et 30 °C. L'absence totale de croissance à 4 °C observée dans notre étude est également en accord avec les travaux de (**Williams et al. 1983**), qui ont signalé que la plupart des actinomycètes terrestres ne sont pas adaptés aux basses températures et présentent une croissance très limitée, voire inexistante, dans les conditions psychrophiles. Par ailleurs, la capacité des souches **S** et **B** à croître à 40 °C témoigne d'une certaine tolérance aux températures élevées. Des résultats comparables ont été obtenus par (**Petrosyan et al. 2003**) ainsi que par (**Zhang et al. 2018**), qui ont rapporté l'existence de plusieurs actinomycètes capables de maintenir leur croissance à des températures comprises entre 40 et 45 °C. Cependant, nos résultats diffèrent de ceux rapportés par (**Maldonado et al. 2005**), qui ont isolé des actinomycètes thermophiles capables de se développer à des températures supérieures à 50 °C. De même, certaines espèces décrites par (**Nedialkova et Naidenova 2005**) présentent une croissance à basse température, contrairement aux isolats étudiés dans ce travail. Les différences observées entre les études peuvent être liées à l'origine écologique des souches, à leur diversité génétique ainsi qu'aux conditions environnementales des milieux de prélèvement. En effet, les caractéristiques physiologiques des actinomycètes varient considérablement selon leur habitat naturel, ce qui influence leur capacité d'adaptation aux variations de température. Les résultats obtenus ont mis en évidence une variabilité physiologique et enzymatique entre les souches d'actinomycètes étudiées.

Sur la base de l'ensemble des caractères morphologiques, microscopiques, biochimiques et physiologiques analysés au cours de cette étude, une première attribution taxonomique des isolats obtenus peut être proposée. Les deux souches **S** et **B** partagent un ensemble de caractéristiques convergentes qui les rapprochent fortement du genre *Streptomyces* : colonies sèches, poudreuses et fortement incrustées dans la gélose, mycélium aérien abondant, coloration de Gram positive, catalase positive et oxydase négative. La pigmentation grise du mycélium aérien chez la souche **S** et blanche chez la souche **B**, ainsi que la présence de chaînes de spores, constituent des critères morphologiques supplémentaires en faveur de leur appartenance probable au genre *Streptomyces*. Ces observations sont en accord avec les descriptions de (**Shirling et Gottlieb 1966, Goodfellow et al. 2012, Barka et al. 2016**). Il convient également de souligner que la souche **S** a été isolée à partir de la sebkha de Hassi El Ghella, un environnement caractérisé par une salinité élevée susceptible de favoriser le développement d'actinomycètes adaptés à des conditions extrêmes.

Quant à la souche **B**, elle provient du bain d'eau minérale de Sidi Aïd, dont la richesse en éléments minéraux pourrait influencer les caractéristiques physiologiques des microorganismes

qui y sont présents. L'origine écologique différente des isolats pourrait ainsi expliquer certaines variations observées au niveau de leurs propriétés biochimiques et de leur activité antimicrobienne. En revanche, la souche **G** se distingue nettement des deux autres isolats par certaines caractéristiques morphologiques et biochimiques particulières. Isolée à partir de la grotte d'Ourdania, un milieu souterrain caractérisé par une humidité élevée et des conditions relativement stables, cette souche présente des structures sporulées regroupées en amas ainsi qu'un profil enzymatique différent.

Ces particularités suggèrent qu'elle pourrait appartenir à un autre genre d'actinomycètes. Des genres tels que *Micromonospora* ou *Nocardiopsis*, fréquemment retrouvés dans les milieux extrêmes, pourraient être envisagés. Toutefois, une identification moléculaire basée sur le séquençage du gène ARNr 16S demeure indispensable afin de confirmer avec précision son appartenance taxonomique. (Ludwig *et al.* 2012)

Ainsi, les résultats obtenus mettent en évidence une diversité phénotypique entre les isolats étudiés et confirment le potentiel biotechnologique des actinomycètes extrémophiles isolés des différents environnements extrêmes de la région d'Aïn Témouchent. L'activité antibactérienne observée vis-à-vis de plusieurs micro-organismes responsables d'infections urinaires souligne l'intérêt de ces microorganismes comme source potentielle de nouvelles molécules antimicrobiennes.

Afin de compléter cette étude, l'activité antibactérienne a été évaluée dans le but de déterminer le potentiel des isolats à inhiber la croissance de différentes micro-organismes pathogènes. Cette étape constitue un élément essentiel dans la caractérisation fonctionnelle des actinomycètes, notamment en raison de leur capacité connue à produire des métabolites secondaires à activité antimicrobienne

Les résultats obtenus ont montré que les souches d'actinomycètes étudiées possèdent une activité antibactérienne variable vis-à-vis des microorganismes testés. Certaines souches ont présenté une inhibition de plusieurs micro-organismes pathogènes, tandis que d'autres ont montré une activité plus limitée. Cette variabilité peut être liée à la capacité de chaque souche à produire différents métabolites secondaires à activité antimicrobienne. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Barka *et al.* 2016), qui ont montré que les actinomycètes constituent une source importante de molécules bioactives capables d'inhiber de nombreuses bactéries à Gram positif et à Gram négatif. De même, (Berdy 2005) a souligné que les espèces du genre *Streptomyces* sont responsables de la production d'une grande partie des antibiotiques naturels actuellement connus. L'activité observée contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* est également comparable à celle décrite

par (Harir *et al.* 2018) qui ont mis en évidence une inhibition de plusieurs microorganismes pathogènes par des actinomycètes isolés de différents environnements. En revanche, l'absence d'activité observée contre *Proteus mirabilis* diffère des résultats obtenus par certains auteurs, notamment (Oskay *et al.* 2004) qui ont signalé une sensibilité de cette bactérie à certaines souches de Streptomyces. Cette différence pourrait être expliquée par la nature des métabolites produits, la composition du milieu de culture ou encore les conditions d'incubation utilisées. Selon (Boughachiche *et al.* 2012) la production des substances antimicrobiennes dépend fortement des conditions de culture et peut varier d'une souche à une autre. Ainsi, les résultats obtenus confirment le potentiel biotechnologique des actinomycètes isolés et leur capacité à produire des composés antimicrobiens pouvant être exploités dans la recherche de nouvelles substances antibactériennes.

Par ailleurs, la méthode des cylindres d'agar utilisée dans cette étude n'évalue que les métabolites capables de diffuser dans la gélose. Ainsi, certaines substances actives produites en faibles quantités ou faiblement diffusibles peuvent ne pas être détectées.

L'activité antibactérienne observée chez les souches étudiées pourrait être attribuée à leur capacité à synthétiser divers métabolites secondaires bioactifs. Selon (Berdy 2005), les actinomycètes, et plus particulièrement les espèces du genre Streptomyces, constituent la principale source naturelle d'antibiotiques et sont responsables de la production de la majorité des molécules antimicrobiennes d'origine microbienne actuellement connues. Cette richesse métabolique explique l'intérêt croissant porté à ces microorganismes dans la recherche de nouvelles substances thérapeutiques.

Les différences observées entre les souches étudiées en termes d'activité antibactérienne peuvent être liées à la diversité des composés produits ainsi qu'à leur niveau d'expression. En effet, (Barka *et al.* 2016) ont montré que la synthèse des métabolites secondaires chez les actinomycètes dépend fortement des caractéristiques génétiques des souches ainsi que des conditions de culture. Ainsi, deux souches appartenant au même genre peuvent présenter des activités antimicrobiennes différentes.

Par ailleurs, la sensibilité variable des bactéries testées pourrait être liée à leurs caractéristiques structurales. Selon (Madigan *et al.* 2018), la composition de l'enveloppe cellulaire bactérienne influence la pénétration et l'efficacité des agents antimicrobiens. Cette particularité pourrait expliquer les différences d'inhibition observées entre les bactéries étudiées au cours de ce travail.

Il est également important de souligner que les actinomycètes isolés à partir de milieux extrêmes sont souvent considérés comme une source privilégiée de nouvelles molécules bioactives. Les contraintes environnementales telles que la salinité, les variations de température ou la limitation en nutriments favorisent le développement de mécanismes d'adaptation spécifiques pouvant conduire à la synthèse de métabolites secondaires originaux. Selon (**Barka *et al.* 2016**), ces microorganismes représentent aujourd'hui l'un des réservoirs les plus prometteurs pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens capables de lutter contre les bactéries multirésistantes.

Les résultats obtenus mettent en évidence une diversité phénotypique et fonctionnelle entre les isolats étudiés. Les souches **S** et **B** présentent des caractéristiques proches du genre *Streptomyces*, tandis que la souche **G** pourrait appartenir à un autre genre d'actinomycètes. Par ailleurs, l'activité antibactérienne observée contre plusieurs bactéries uropathogènes confirme le potentiel biotechnologique de ces isolats comme source prometteuse de nouvelles molécules antimicrobiennes. Toutefois, des études complémentaires portant sur l'identification moléculaire, l'optimisation des conditions de culture et la caractérisation des métabolites produits demeurent nécessaires afin de mieux valoriser leur potentiel thérapeutique.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Cette étude avait pour objectif l'isolement, la caractérisation et l'évaluation du potentiel antibactérien d'actinomycètes extrémophiles isolés à partir de différents milieux extrêmes de la région d'Aïn Témouchent, dans la perspective de rechercher de nouvelles sources de molécules bioactives capables de lutter contre les bactéries impliquées dans les infections urinaires.

Trois souches d'actinomycètes, désignées S, G et B, ont été isolées à partir de la sebkha de Hassi El Ghella, de la grotte d'Ourdania et du bain d'eau minérale de Sidi Aïd. Les analyses morphologiques et microscopiques ont révélé des caractéristiques typiques des actinomycètes filamenteux, notamment la présence d'un mycélium abondant, une coloration de Gram violette ainsi qu'une sporulation caractéristique. Les souches S et B ont présenté plusieurs caractères compatibles avec le genre *Streptomyces*, tandis que la souche G s'est distinguée par certaines particularités morphologiques et physiologiques suggérant son appartenance à un autre genre d'actinomycètes.

Les tests physiologiques ont montré que les souches étudiées présentent un comportement majoritairement mésophile, avec une croissance optimale comprise entre 20 et 30 °C. Les souches S et B ont démontré une capacité de croissance à 40 °C, alors qu'aucune croissance n'a été observée à 4 °C pour l'ensemble des isolats. Les résultats relatifs à la tolérance au NaCl ont mis en évidence une adaptation modérée à la salinité, la croissance étant observée jusqu'à 7 % de NaCl selon les souches.

Sur le plan biochimique et enzymatique, les isolats ont présenté des profils différents. Les souches S et B ont montré une capacité d'hydrolyse de l'amidon, de la caséine et de la gélatine, traduisant une activité enzymatique importante, tandis que la souche G s'est révélée négative pour ces différents tests. Les souches étudiées ont également présenté une activité catalasique positive et une réaction oxydase négative, conformément aux caractéristiques généralement décrites chez les actinomycètes.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a révélé un potentiel inhibiteur variable selon les souches. Certaines d'entre elles ont montré une activité contre plusieurs micro-organismes pathogènes impliquées dans les infections urinaires, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*. En revanche, aucune activité n'a été observée contre *Proteus mirabilis*. Ces résultats confirment la capacité des actinomycètes extrémophiles à produire des métabolites secondaires bioactifs présentant un intérêt potentiel dans la lutte contre l'antibiorésistance.

Dans l'ensemble, cette étude met en évidence la richesse des milieux extrêmes de la région d'Aïn Témouchent en actinomycètes présentant des caractéristiques physiologiques et fonctionnelles intéressantes. Les résultats obtenus confirment le potentiel biotechnologique de ces microorganismes en tant que source prometteuse de nouvelles substances antimicrobiennes.

Afin de mieux valoriser ces isolats, il serait intéressant de :

- Réaliser une identification moléculaire des souches par séquençage du gène de l'ARNr 16S afin de confirmer leur position taxonomique.
- Optimiser les conditions de culture favorisant la production des métabolites secondaires.
- Procéder à l'extraction, à la purification et à la caractérisation chimique des composés bioactifs produits.
- Évaluer l'activité biologique des extraits obtenus sur un plus large éventail de microorganismes pathogènes, notamment les souches multi résistantes aux antibiotiques.
- Explorer davantage les milieux extrêmes de la région afin d'élargir la collection d'actinomycètes et d'identifier de nouvelles souches présentant un intérêt biotechnologique.

Références bibliographiques

- Afshar Naderi, H., F. Beheshti, A. A. Harati Asl, V. Hojati and O. Azizi (2026). "Chronic uropathogenic *Escherichia coli* infections in adolescence: in vitro analysis of clinical isolates, multidrug resistance, and in vivo hippocampal cognitive impacts." J Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 399(6): 8327-8346.
- Aghamirian, M. R. and S. A. Ghiasian (2009). "Isolation and characterization of medically important aerobic actinomycetes in soil of Iran (2006-2007)." The open microbiology journal 3: 53.
- Al Ghamdi, H., N. Zabermawi and M. M. Aly (2025). "Inhibition of Growth and Biofilm Formation of some Multidrug-Resistant Bacteria by Streptomyces Secondary Metabolites." Journal of Contemporary Medical Sciences 11(4).
- Alam, M. and B. K. Tiwary (2023). Extremophiles: diversity, adaptation and applications, Bentham Science Publishers.
- Alshomrani, M. K., A. A. Alharbi, A. A. Alshehri, M. Arshad, S. Dolgum, M. Alshomrani and A. Alshehri (2023). "Isolation of *Staphylococcus aureus* urinary tract infections at a community-based healthcare center in Riyadh." Cureus 15(2): 1-8.
- Atlas, R. (2010). Handbook of microbiological media. Florida, USA, CRC Press.
- Barka, E. A., P. Vatsa, L. Sanchez, N. Gaveau-Vaillant, C. Jacquard, H.-P. Klenk, C. Clément, Y. Ouhdouch and G. P. van Wezel (2016). "Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria." Microbiology 80(1): 1-43.
- Berdy, J. (2005). "Bioactive microbial metabolites." The Journal of antibiotics 58(1): 1-26.
- Bergey, D. H. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. New york, USA, Lippincott Williams & Wilkins.
- Bonkat, G., J. G. Burgos, R. Ruepp and K. Browne (2026). "The European Association of Urology Guidelines on Urological Infections: Bridging Regulatory Strategy with Proactive Clinical Leadership." European Urology Focus 12(2): 297-298.
- Bouderbala, S., H. Khelalaf and S. E. Akroum (2016). Identification des bactéries responsables des infections urinaires et activité antibactérienne des extraits de *Punica granatum*, Université de Jijel.
- Boughachiche, F., S. Reghioia, H. Zerizer and A. Boulahrouf (2012). Activité antibactérienne d'espèces rares de Streptomyces contre des isolats cliniques multirésistants. Annales de Biologie Clinique.

- Boussaber, E., I. Kadmiri, L. Hilali and A. Hilali (2012). "Isolement des souches d'actinomycètes productrices de substances antifongique." Science Lib Editions Mersenn 4: 2111-4706.
- Bunduki, G. K., E. Heinz, V. S. Phiri, P. Noah, N. Feasey and J. Musaya (2021). "Virulence factors and antimicrobial resistance of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolated from urinary tract infections: a systematic review and meta-analysis." BMC infectious diseases 21(1): 753.
- Corrado, B., A. Cammarano, S. Dello Iacono, E. Renzi, R. Moretta, M. E. Mercurio, L. Ascione, A. Cummaro, C. Meglio and L. J. I. D. R. Nicolais (2025). "A comprehensive review of progress in preventing urinary infections associated with the use of urinary catheters: A dual analysis of publications and patents." 17(3): 64.
- DasSarma, S. and P. DasSarma (2015). "Halophiles and their enzymes: negativity put to good use." Current opinion in microbiology 25: 120-126.
- Dhaouia, A., N. A. GUEROUDJ and L. OULD HOCINE (2023). L'étude desinfections urinaires aux Services: Médecine Interne et Pédiatrie de L'EPH THENIET EL HAD, Ttissemsilt.
- Djebbah, F. Z., L. Belyagoubi, D. E. Abdelouahid, F. Kherbouche, N. A. Al-Dhabi, M. V. Arasu, B. Ravindran and P. Health (2021). "Isolation and characterization of novel *Streptomyces* strain from Algeria and its in-vitro antimicrobial properties against microbial pathogens." Journal of Infection 14(11): 1671-1678.
- Djinni, I., A. Defant, M. Kecha and I. Mancini (2019). "Actinobacteria derived from Algerian ecosystems as a prominent source of antimicrobial molecules." Antibiotics 8(4): 172.
- Farda, B., R. Djebaili, I. Vaccarelli, M. Del Gallo and M. Pellegrini (2022). "Actinomycetes from caves: an overview of their diversity, biotechnological properties, and insights for their use in soil environments." Microorganisms 10(2): 453.
- Flores-Mireles, A. L., J. N. Walker, M. Caparon and S. J. Hultgren (2015). "Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options." Nature reviews microbiology 13(5): 269-284.
- Goodfellow, M., P. Kämpfer, H.-J. Busse, M. E. Trujillo, K.-i. Suzuki, W. Ludwig and W. B. Whitman (2012). Bergey's manual of systematic bacteriology Volume 5: The Actinobacteria. New York, USA, Springer.

- Hafiane, A. and M. Ravaoarinoro (2008). "Différentes méthodes de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose." Médecine et maladies infectieuses 38(5): 238-247.
- Haiag, A. (2023). Isolement et identification des actinomycètes extrémophiles du sud Algérienne, Biskra.
- Harir, M., H. Bendif, M. Bellahcene, Z. Fortas and R. Pogni (2018). Streptomyces secondary metabolites. Basic biology and applications of actinobacteria. London, UK, IntechOpen.
- Ishaq, Z., K. Khalil, F. Faiz, U. Haider, S. Nasir, H. Qayyum and A. Ali (2026). "Genomic characterization and comparative analysis of multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* strain U1 from Pakistan revealed ST131 as dominant clade." Antonie van Leeuwenhoek 119(1): 22.
- Jelić, D. and R. Antolović (2016). "From erythromycin to azithromycin and new potential ribosome-binding antimicrobials." Antibiotics 5(3): 1-29.
- Kalita, D. and P. Sciences (2012). "Antimicrobial properties of marine bacteria isolated from the Bay of Bengal and their pharmaceutical prospects as antibiotics against multi drug resistant pathogens." International Journal of Pharmacy 4(4): 260-263.
- Kämpfer, P. and S. P. Glaeser (2012). "Prokaryotic taxonomy in the sequencing era—the polyphasic approach revisited." Environmental microbiology 14(2): 291-317.
- Khaddam, W. and B. Durgham (2025). "Comparative analysis of biofilm detection methods and antibiotic resistance in catheter-associated uropathogens: a cross-sectional study from Syria." BMC microbiology 25(1): 760.
- Khaledi, H. and N. O. Obeid (2025). "Antibacterial Potential of Actinomycete Extracts and Characterization of β -Lactamase-Producing Multidrug-Resistant Uropathogenic *Escherichia coli*." MicrobiologyOpen 14(6): 70143.
- Kholkhal, W. (2005). Recherche de nouvelles souches fongiques productrices d'antibiotiques à partir du sol et des concrétions sédimentaires des grottes de Aïn Fezza, Tlemcen.
- Kitouni, M. (2007). Isolement de bactéries Actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées, Constantine.
- Kroppenstedt, R. M. and L. I. Evtushenko (2006). "The family nocardiothecaceae." The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria 3: 754-795.

- Leclerc, H. and M. S. da Costa (2004). "Microbiology of natural mineral waters." Technology of bottled water: 325-387.
- Li, Q., X. Chen, Y. Jiang, C. Jiang and b. applications (2016). "Morphological identification of actinobacteria." Actinobacteria-basics 7(1): 60-86.
- Ludwig, W., J. Euzéby, P. Schumann, H.-J. Busse, M. E. Trujillo, P. Kämpfer and W. B. Whitman (2012). Road map of the phylum Actinobacteria. Bergey's manual® of systematic bacteriology. New York, USA, Springer: 1-28.
- Madigan, M. T., K. S. Bender, D. H. Buckley, W. M. Sattley and D. A. Stahl (2018). Brock biology of microorganisms. 15th Global Edition. Harlow, UK, Pearson.
- Maldonado, L. A., W. Fenical, P. R. Jensen, C. A. Kauffman, T. J. Mincer, A. C. Ward, A. T. Bull and M. Goodfellow (2005). "*Salinispora arenicola* gen. nov., sp. nov. and *Salinispora tropica* sp. nov., obligate marine actinomycetes belonging to the family Micromonosporaceae." International journal of systematic evolutionary microbiology 55(5): 1759-1766.
- Meklat, A. (2012). Taxonomie et potentiel antagoniste des actinomycètes halophiles des sols sahariens et mise en évidence de nouvelles espèces d'Actinopolyspora, Alger.
- Meklat, A., N. Bouras, S. Mokrane, A. Zitouni, N. Djemouai, H.-P. Klenk, N. Sabaou and F. Mathieu (2020). "Isolation, classification and antagonistic properties of alkalitolerant actinobacteria from Algerian Saharan soils." Geomicrobiology Journal 37(9): 826-836.
- Menasria, T., M. Monteoliva-Sánchez, M. Benhadj, L. Benammar, M. Boukoucha and M. Aguilera (2022). "Unraveling the enzymatic and antibacterial potential of rare halophilic actinomycetes from Algerian hypersaline wetland ecosystems." Journal of Basic Microbiology 62(10): 1202-1215.
- Mokrane, S., N. Bouras, N. Sabaou and F. Mathieu (2013). "Actinomycetes from saline and non-saline soils of Saharan palm groves: Taxonomy, ecology and antagonistic properties." African Journal Microbiology Research 7(20): 2167-2178.
- Nedialkova, D. and M. Naidenova (2005). "Screening the antimicrobial activity of actinomycetes strains isolated from Antarctica." JOURNAL OF CULTURE COLLECTIONS 4(4): 29-35.
- Okami, Y. and K. Hotta (1988). "Search and discovery of new antibiotics." Actinomycetes in biotechnology: 33-67.

- Oskay, M., A. Ü. Tamer and C. Azeri (2004). "Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey." African Journal of Biotechnology 3(9): 441-446.
- Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal and M. A. Pfaller (2019). Medical Microbiology. Philadelphia, USA, Elsevier.
- Pazhanimurugan, R., V. Gopikrishnan, T. S. Sundaram, M. Radhakrishnan and R. Balagurunathan (2012). "Bioactive potential of actinobacteria against drug resistant pathogens." Journal of Applied Pharmaceutical Science 2(5): 167-173.
- Petrosyan, P., M. García-Varela, A. Luz-Madrigal, C. Huitron and M. E. Flores (2003). "*Streptomyces mexicanus* sp. nov., a xylanolytic micro-organism isolated from soil." International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology 53(1): 269-273.
- Procópio, R. E. d. L., I. R. d. Silva, M. K. Martins, J. L. d. Azevedo and J. M. d. Araújo (2012). "Antibiotics produced by *Streptomyces*." Brazilian Journal of Infectious Diseases 16(5): 466-471.
- Risdian, C., N. Safaei, M. Steinert and J. Wink (2022). Exploration of Insects and Mollusks for New Secondary Metabolites from Actinobacteria. Natural Products from Actinomycetes: Diversity, Ecology and Drug Discovery. Singapore, Springer: 47-69.
- Sanchez, S., R. del Carmen Mateos, L. Escalante, J. Rubio, H. López, A. Farres and M. Flores (1984). "Regulation of erythromycin formation in *Streptomyces erythreus*." Academic Journal FEMS Microbiology Letters 26(2): 191-194.
- Schofield, G. M. and K. P. Schaal (1981). "A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa." Microbiology 127(2): 237-259.
- Sharma, D., T. Kaur, B. Chadha and R. K. Manhas (2011). "Antimicrobial activity of actinomycetes against multidrug resistant *Staphylococcus aureus*, *E. coli* and various other pathogens." Tropical Journal of Pharmaceutical Research 10(6): 801-808.
- Shirling, E. T. and D. Gottlieb (1966). "Methods for characterization of *Streptomyces* species." International journal of systematic bacteriology 16(3): 313-340.
- Subramani, R., D. Sipkema and Biotechnology (2022). "Exploring Uncharted Sources of Rare Actinomycetes for the Discovery of Innovative Antimicrobial Compounds to Combat Multidrug-Resistant Bacterial Infections." Specialty Journal of Pharmacognosy, Phytochemistry, 2(1): 43-52.

- Sudha, S. and R. Hemalatha (2015). "Isolation and screening of antibiotic producing actinomycetes from garden soil of Sathyabama University, Chennai." Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 8(6): 4-10.
- Sung, K., M. Nawaz, M. Park, J. Chon, S. A. Khan, K. Alotaibi and A. A. Khan (2024). "Comprehensive genomic analysis of uropathogenic *E. coli*: virulence factors, antimicrobial resistance, and mobile genetic elements." Pathogens 13(9): 794.
- Suwan, N., W. Boonying and S. Nalumpang (2012). "Antifungal activity of soil actinomycetes to control chilli anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*." Journal of Agricultural Science and Technology 8: 725-737.
- Tabak, S. and A. Bensoltane (2012). "L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales." Revue Nature et Technologie 4(1): 71-79.
- Thakur, H. K., B. Tarai, A. Bhargava, P. Soni, A. K. Ojha, S. Kancharla, P. Kolli, G. Mandadapu and M. K. Jena (2025). "Comprehensive analysis of etiological agents and drug resistance patterns in ventilator-associated pneumonia." Microbiology Research 16(7): 152.
- Trinchera, M., A. Midiri, G. Mancuso, M. A. Lagrotteria, C. A. De Ani and C. Biondo (2025). "A four-year study of antibiotic resistance, prevalence and biofilm-forming ability of uropathogens isolated from community-and hospital-acquired urinary tract infections in southern Italy." Pathogens 14(1): 59.
- Ventosa, A. (2009). Halophily (halophilism and halophilic microorganisms). Oxford, UK, EOLSS Publishers Company Limited.
- Waksman, S. A., H. C. Reilly and D. B. Johnstone (1946). "Isolation of streptomycin-producing strains of *Streptomyces griseus*." Journal of bacteriology 52(3): 393-397.
- Williams, S. and F. Davies (1967). "Use of a scanning electron microscope for the examination of actinomycetes." Microbiology 48(2): 171-177.
- Williams, S., M. Goodfellow, G. Alderson, E. Wellington, P. Sneath and M. Sackin (1983). "Numerical classification of *Streptomyces* and related genera." Microbiology 129(6): 1743-1813.
- Wink, J., F. Mohammadipanah and J. Hamedi (2017). Biology and biotechnology of actinobacteria. Cham, Switzerland, Springer.

- Yuan, F., Z. Huang, T. Yang, G. Wang, P. Li, B. Yang and J. Li (2021). "Pathogenesis of *Proteus mirabilis* in catheter-associated urinary tract infections." Urologia internationalis 105(5-6): 354-361.
- Zhang, J., C. Guo, W. Chen, P. De Lajudie, Z. Zhang, Y. Shang, E. T. Wang and E. Microbiology (2018). "*Mesorhizobium wenxiniae* sp. nov., isolated from chickpea (*Cicer arietinum* L.) in China." International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology 68(6): 1930-1936.

Annexes

Annexe 01 : Milieux de culture utilisés

1. Milieu amidon–caséine agar (CAA)

Composition typique (pour 1 L) :

- Milieu utilisé pour l'isolement sélectif des actinomycètes.
- Amidon soluble10 g
- Caséine0,3 g
- KNO₃..... 2 g
- NaCl 2 g
- K₂HPO₄ 2 g
- MgSO₄ 0,05 g
- CaCO₃ 0,02 g
- FeSO₄0.01g
- Agar 15 g
- Eau distillée 1 L
- pH : 7,4 – 7,6

2. Brain Heart Infusion Broth (BHIB)

Composition (pour 1 L) :

- Milieu riche utilisé pour l'enrichissement bactérien.
- Infusion de cerveau200g
- Infusion de cœur 250g
- Peptone 10g
- Glucose 2g
- NaCl5 g
- Eau distillée 1L
- pH : 7,4

3. Mueller–Hinton agar (MH)

Composition (pour 1 L) :

- Milieu utilisé pour l'étude de l'activité antibactérienne.
- Extrait de viande2g
- Hydrolysat de caséine17,5g
- Amidon 1,5g
- Agar 17 g
- Eau distillée1L
- pH : 7,3

4. Hydrolyse de l'amidon

Composition (pour 150 ml) :

- Milieu utilisé pour l'hydrolyse de l'amidon
- Gélose nutritive (GN) 4,2 g
- Amidon 1.5 g
- Eau distillée 150 ml

5. Hydrolyse de la gélatine

Composition (pour 150 ml) :

- Milieu utilisé pour l'hydrolyse de la gélatine
- Gélose nutritive (GN) 4,2 g
- Gélatine 0,6 g
- Eau distillée 150 ml

6. Hydrolyse de la caséine

2ml de lait écrémé stérile ont été répartis aseptiquement dans chaque boîte de Pétri à l'aide d'une seringue stérile.

135ml de milieu amidon-caséine agar (CAA), stérilisé puis refroidi, a été ajouté dans les boîtes avant la solidification.

7. Tolérance au NaCl

Le milieu de base a été préparé à partir de 4.2 g de gélose nutritive dans 150ml d'eau distillée.

Différentes concentrations de NaCl ont été testées : 3 % (4.5g), 5 % (7.5g), 7 % (10.5g), 9 % (13.5g) et 10 % (15g).

Autres milieux fournis

Chapman agar : milieu sélectif pour les staphylocoques

Sabouraud agar : milieu pour levures et champignons

MacConkey agar : milieu sélectif pour bactéries Gram négatif

Annexe 02 : Colorations de Gram

Préparation du frottis :

- Une goutte d'eau physiologique stérile est déposée sur une lame propre.
- Une colonie bactérienne est prélevée à l'aide d'une anse stérile puis étalée sur la lame.
- Le frottis est laissé sécher à l'air libre.
- La fixation est réalisée en passant la lame rapidement trois fois dans la flamme du bec Bunsen.

Coloration de Gram :

- Recouvrir la lame de violet de gentiane pendant 1 minute
- Ajouter le Lugol pendant 1 minute puis rincer à l'eau
- Décolorer à l'alcool (90 %) pendant 10 secondes puis rincer immédiatement
- Recolorer à la fuchsine pendant 30 secondes à 1 minute
- Rincer à l'eau puis sécher avec du papier absorbant

الملخص:

تتفاقم الالتهابات البولية، التي تُصنف من بين الأمراض المعدية الأكثر شيوعًا في العالم، بسبب الظهور المتزايد لسلاسل بكتيرية متعددة المقاومة للمضادات الحيوية التقليدية. ومن بين الحلول التي تم تناولها، اهتمنا بدراسة الفطريات الشعاعية المحبة للظروف القاسية المعزولة من ثلاثة مواقع في منطقة عين تموشنت (سبخة حاسي الغلة، مغارة وردانية وحمام المياه المعدنية بسيدي عايد) بهدف إيجاد جزيئات بديلة مضادة للميكروبات. إن توصيف السلالات باستخدام الاختبارات المظهرية، بناءً على الخصائص العيانية والمجهريّة، بالإضافة إلى الاختبارات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية، سمح لنا بربطها بجنس *ستربتومييسيس*. أظهر تقييم النشاط المضاد للميكروبات بطريقة أسطوانة الأجار أن السلالات المعزولة تمارس تثبيطًا كبيرًا على العديد من البكتيريا المسؤولة عن التهابات المسالك البولية، بما في ذلك الإشريكية القولونية، والكلبيسيلا الرئوية، والمكورات العنقودية الذهبية، والمكورات المعوية البرازية، وكذلك على الخمائر من جنس المبيضات.

الكلمات المفتاحية: الأكتينومييسيتات المحبة للظروف القاسية، النشاط المضاد للميكروبات، عين تموشنت، البيئات القاسية، التهابات المسالك البولية، المستقلبات الثانوية، *ستربتومييسيس*.

Résumé :

Les infections urinaires, déjà classée parmi les pathologies infectieuses les plus fréquentes à l'échelle mondiale, sont aggravées par l'émergence croissante de souches bactériennes multi résistantes aux antibiotiques conventionnels. Parmi les solutions abordées, nous nous sommes intéressées à étudier des actinomycètes extrémophiles isolées à partir de trois sites de la région d'Aïn Témouchent (Sebkha de Hassi El Ghella, la Grotte d'Ourdania et le bain d'eau minéral de Sidi Aïd) dans le but de trouver des molécules antimicrobien alternatives. La caractérisation des souches en utilisant des tests phénotypiques, basée sur des caractères macroscopiques et microscopiques, ainsi que des tests physiologiques et biochimiques, nous a permis de les rattacher au genre *Streptomyces*. L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode des cylindres d'agar a démontré que les souches isolées exercent une inhibition significative sur plusieurs bactéries responsables d'infections urinaires, dont *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*, ainsi que sur des levures du genre *Candida*.

Mots clés : Actinomycètes extrémophiles, Activité antimicrobienne, Aïn Témouchent, Environnements extrêmes, Infections urinaires, Métabolites secondaires, *Streptomyces*.

Abstract:

Urinary tract infections, already the most common infectious diseases worldwide, are exacerbated by the increasing emergence of bacterial strains resistant to conventional antibiotics. Among the solutions explored, we focused on studying extremophile Actinomycetes isolated from three sites in the Aïn Témouchent region (the Hassi El Ghella salt flat, the Ourdania Cave, and the Sidi Aïd mineral spring) with the aim of finding alternative antimicrobial molecules. Characterization of the strains using phenotypic tests, based on macroscopic and microscopic features, as well as physiological and biochemical tests, allowed us to classify them within the genus *Streptomyces*. The evaluation of antimicrobial activity by the agar cylinder method demonstrated that the isolated strains exert significant inhibition on several bacteria responsible for urinary tract infections, including *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*, as well as on yeasts of the genus *Candida*.

Keywords: Extremophile actinomycetes, Antimicrobial activity, Aïn Témouchent, Extreme environments, Urinary tract infections, Secondary metabolites, *Streptomyces*.