

Activité antibactérienne d'actinomycètes rares isolés d'échantillons de sol aride du Sud-est Algérien

S. Reghioua, F. Boughachiche, H. Zerizer, L. Oulmi, M. Kitouni, A. Boudemagh, A. Boulahrouf

Laboratoire de génie microbiologique et applications. Département des Sciences de la Nature Université Mentouri. Constantine Route d'Ain-el-Bey. 25000 Constantine.

Correspondance : A. BOULAHROUF, voir adresse ci-dessus.

e-mail : boulahroufabderrahmane@yahoo.fr

Résumé/Abstract

Activité antibactérienne d'actinomycètes rares isolés d'échantillons de sol aride du Sud-est Algérien

S. Reghioua, F. Boughachiche, H. Zerizer, L. Oulmi, M. Kitouni, A. Boudemagh, A. Boulahrouf

Sur un lot de cinquante-cinq souches d'actinomycètes isolées à partir d'échantillons de sol aride prélevés dans la région de Biskra, dix souches à structure filamenteuse ont été purifiées.

L'activité antibactérienne de ces souches a été recherchée par deux techniques de diffusion en gélose, vis-à-vis de cinq bactéries-tests (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*).

Les dix souches d'actinomycètes ont présenté une activité antibactérienne plus ou moins importante contre toutes les bactéries-tests utilisées.

L'effet du milieu de culture sur la production d'antibactériens par les dix souches d'actinomycètes a été étudié sur cinq différents milieux de culture. Les souches cultivées sur le milieu GB ont donné les plus importantes activités contrairement au milieu ISP2 sur lequel une seule souche a produit des molécules actives contre les bactéries-test.

Mots-clés : Actinomycètes, antibiotiques, activité antibactérienne, sol aride, écosystème extrême.

Antibacterial activity of rare actinomycetes isolated from arid soil samples of the south-east of Algeria

S. Reghioua, F. Boughachiche, H. Zerizer, L. Oulmi, M. Kitouni, A. Boudemagh, A. Boulahrouf

On a batch of fifty-five strains of actinomycetes isolated from arid soil samples (the region of Biskra), ten different filamentous strains of actinomycetes were purified.

The antibacterial activity was sought by two agar diffusion techniques against five test-bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis*, and *Staphylococcus aureus*).

The ten selected strains of actinomycetes presented an antibacterial activity which was more or less important against all the used bacteria-test. The medium effect on production of antibacterial agents by the ten strains was studied on five various culture media. The GB medium was found to be the most favourable for the production of antibacterial agents in contrast to the ISP2 medium in which only one strain produced active molecules against the bacteria-test.

Key words: Arid soil, actinomycetes, antibiotics, antibacterial activity, extreme ecosystem.

Antibiotiques 2006 ; 8 : 147-152

© 2006. Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés

Introduction

Depuis l'apparition des premiers agents antibactériens, notamment la pénicilline et les sulfamides, les bactéries n'ont cessé de s'adapter à l'environnement hostile que nous leur avons imposé par l'utilisation massive d'antibactériens d'origine naturelle ou de synthèse. Cette adaptation s'est traduite par le développement de la résistance bactérienne avec en particulier une évolution vers la multirésistance de certaines bactéries pathogènes. À cela s'ajoutent de nouvelles pathologies infectieuses émergentes, de nouvelles espèces bactériennes telles que *Helicobacter pylori*, *Troperyma whipplei*, de nouvelles rickettsies, susceptibles de développer de nouveaux mécanismes de résistances. La notion de maladies infectieuses s'en trouve élargie et impose le développement de nouvelles recherches. Parmi celles-ci, le criblage au sein des molécules d'origine microbienne est la voie essentielle pour parvenir à de nouveaux agents antibactériens [1-4]. Dans ce contexte, c'est au sein des actinomycètes que se sont développées nos études telles que celles rapportées dans ce travail.

Abréviations

ATCC : American Type Culture Collection.

ISP : International *Streptomyces* project.

F : la valeur de la table de Fisher.

Mc : moyennes carrées.

dl : degrés de liberté

Do : densité optique

Rappel taxonomique

L'ordre des *Actinomycetales* rassemble certaines bactéries filamenteuses ramifiées ou pléiomorphes. Les filaments des actinomycètes peuvent s'assembler sous forme de mycélium rudimentaire ou au contraire bien développé, avec ou sans hyphes aériennes. Les actinomycètes ressemblent aux champignons (eumycètes) auxquels ils furent longtemps rattachés. Ils présentent néanmoins certaines caractéristiques des bactéries, notamment au niveau de leur paroi qui renferme parfois des énantiomères de l'acide diaminopimélique (*meso*-DAP et L-DAP), constituant du peptidoglycane, et jamais de chitine ou de cellulose. Leur organisation cellulaire est de type procaryotique. Ils sont sensibles à certains antibiotiques antibactériens mais pas aux antifongiques. Les actinomycètes sont subdivisés en deux groupes physiologiques selon la nature oxydative ou fermentaire de leur métabolisme. D'après la nouvelle classification du *Bergey's manual of systematic bacteriology*, le Phylum BXIV *Actinobacteria* est constitué d'une seule classe dénommée, également, *Actinobacteria*. Cette dernière comprend cinq sous-classes dont la cinquième est celle des *Actinobacteridae* regroupant deux ordres : *Actinomycetales* et *Bifidobacteriales*. Dix sous-ordres (de VIII à XVII) composent l'ordre des *Actinomycetales* dans lequel figurent tous les genres et espèces décrits jusqu'à ce jour [5].

Les actinomycètes, à développement mycélien, représentent la principale source de métabolites secondaires à activité antimicrobienne et parmi elles les actinomycètes dites « rares » qui constituent une source importante et peu explorée de nouveaux antimicrobiens [6, 7]. Pour cela, de nombreux laboratoires se sont efforcés de diversifier les sources d'actinomycètes en faisant appel à des échantillons provenant d'habitats extrêmes [8, 9]. L'objectif principal de cette étude est la recherche de nouveaux agents antibactériens produits, éventuellement, par des actinomycètes isolés des sols sahariens.

Matériel et méthodes

LES SOUCHES D'ACTINOMYCÈTES

Cinquante-cinq souches d'actinomycètes ont été isolées d'échantillons de sol aride

de la région de Biskra, dans des travaux antérieurs, selon les recommandations de la technique de Pochon et Tardieux [10]. Au cours de l'isolement, la reconnaissance des souches d'actinomycètes a été facilitée par leur morphologie caractéristique qui les distingue des autres microorganismes. Elles sont très souvent pigmentées, d'aspect compact, sec, lisse ou rugueux, quelques fois en forme de chou-fleur ou sous forme de cratère. La présence d'un mycélium aérien rend leur surface poudreuse.

Les colonies adhèrent souvent fortement au substrat gélosé. Leur contour est arrondi ou échancré et parfois leur centre porte des fructifications. Leur développement non envahissant et leur taille relativement petite (1-5 mm de diamètre), les différencient des champignons.

PURIFICATION DES SOUCHES

Le milieu solide amidon-caséine est utilisé pour la purification des souches [11]. Deux solutions, un antibiotique et un antifongique sont stérilisées par filtration en utilisant des filtres millipores (type HA, 0,45 µm), puis additionnées au milieu refroidi à 45 °C (acide nalidixique à concentration de 25 µg/ml et nystatine à concentration de 50 µg/ml) [12-14].

MISE EN ÉVIDENCE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

Les souches d'actinomycètes obtenues en cultures pures sont testées pour la production de substances à activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries-tests suivantes :

- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 15923.
- *Bacillus cereus* (centre hospitalo-Universitaire de Constantine).
- *Streptococcus faecalis* (centre hospitalo-Universitaire de Constantine).

Pour chaque bactérie-test, un inoculum est réalisé à partir d'une culture de 18-24 heures sur gélose Mueller-Hinton. L'inoculum standard des bactéries-test est préparé comme suit : quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide de l'anse de platine qui est déchargée dans 10 ml

d'eau physiologique stérile. Le tout est homogénéisé et l'opacité de la suspension bactérienne ainsi obtenue doit être équivalente à une DO de 0,1-0,2 (spectrophotomètre Schimadzu UV-120-02) à une longueur d'onde de 600 nm. Des essais préliminaires faisant intervenir différentes DO ont permis d'établir l'inoculum des différentes souches bactériennes utilisées.

Technique des doubles couches

Les souches d'actinomycètes sont testées par une technique voisine de celle utilisée par Peterson [15]. Cette méthode consiste à ensemercer en touches les souches d'actinomycètes, en bordure d'une boîte de pétri contenant le milieu M1 (D-glucose, 10 g ; peptone, 2 g ; extrait de levure, 2 g ; extrait de viande, 2 g ; eau distillée, 1 000 ml ; agar, 15 g ; pH, 7,3) [16] ou le milieu M2 (extrait de malt, 10 g ; extrait de levure, 4 g ; D-glucose, 2 g ; NaCl, 2,5 g ; CaCO₃, 1 g ; eau distillée, 1 000 ml, Agar, 15 g ; pH, 7,0). Les inocula des souches d'actinomycètes proviennent de cultures de sept jours d'incubation et sont constitués d'un mélange de spores et de fragments mycéliens.

Les souches d'actinomycètes sont incubées 12 jours à 28 °C [17], puis les cultures sont recouvertes avec le milieu Mueller-Hinton faiblement gélosé (0,7 % d'Agar) ensemençé en masse avec une bactérie-test en diluant l'inoculum standard au 1/10 dans cette gélose molle.

Les boîtes sont observées après 24 heures d'incubation à 37 °C et les zones d'inhibition apparues sont mesurées avec un double décimètre du bord de la colonie d'actinomycète à la limite de la zone où la bactérie-test n'est pas inhibée.

Technique des cylindres d'agar

Cette technique consiste à ensemercer en stries serrées les souches d'actinomycètes sur deux milieux gélosés : le milieu M1 et le milieu M2. Les souches d'actinomycètes sont incubées à 28 °C pendant 12 jours. Après incubation on prélève sur chaque milieu, à l'aide d'un emporte-pièce stérile, des cylindres de gélose de 5 mm qui sont déposés sur milieu Mueller-Hinton ensemençé en surcouche. La couche inférieure stérile contient 10 g d'agar par litre. La couche supérieure faiblement gélosée est ense-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3396195>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3396195>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)