



**Original Paper**

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

## Isolement d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de sols prélevés dans la ville de Ouagadougou, Burkina Faso

Dissinviel Stéphane KPODA<sup>1,3</sup>, François TAPSOBA<sup>2</sup>, Hama CISSE<sup>2</sup>, Sandrine OUEDRAOGO<sup>2</sup>, Roukiatou TRAORE<sup>2</sup>, Issiaka TRAORE<sup>2</sup>, Adam Patrice SOUBEIGA<sup>2,4</sup>, Mahamadi NIKIEMA<sup>3</sup>, Yéri Esther HIEN<sup>2</sup>, Cheikna ZONGO<sup>2\*</sup> et Aly SAVADOGO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centre Universitaire de Ziniaré, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021, Ouagadougou, Burkina Faso.

<sup>2</sup>Laboratoire de Biochimie et Immunologie Appliquées (LaBIA), Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021, Ouagadougou, Burkina Faso.

<sup>3</sup>Laboratoire de Microbiologie et de Biotechnologies Microbiennes (LAMBMB), Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021, Ouagadougou, Burkina Faso.

<sup>4</sup>Laboratoire National de Santé Publique, 09 BP 24, Ouagadougou, Burkina Faso.

\*Auteur correspondant ; E-mail : [cheikna.zongo@ujkz.bf](mailto:cheikna.zongo@ujkz.bf); Tél : +226 76579605.

### REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce à l'appui financier du Laboratoire de Biochimie et Immunologie Appliquées (LABIA) de l'Université Joseph KI-ZERBO, Burkina Faso, qu'il convient donc de remercier.

Received: 25-07-2023

Accepted: 29-01-2024

Published: 29-02-2024

### RESUME

L'émergence des bactéries multi-résistantes nécessite la recherche de biomolécules à activité antibactérienne. L'objectif du travail était d'isoler et de caractériser des souches d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes. Des échantillons de sol ont été prélevés sur 2 sites : le parc urbain Bangré Weogo (BW) et la serre de l'université Joseph KI-ZERBO. Les échantillons ont été analysés au LaBIA, université Joseph KI-ZERBO (Burkina Faso). L'isolement des souches d'actinomycètes a été fait sur le milieu Caséine-Amidon-Agar supplémenté de nystatine et de chloramphénicol après enrichissement au CaCO<sub>3</sub>. L'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion de puits d'agar. L'observation des souches et les tests biochimiques ont été effectués en vue d'identifier les souches. Au total, 20 souches ont été isolées, 07 avaient une activité antibactérienne. Les souches BW12 et BW13 ont présenté une activité antibactérienne aussi bien sur les bactéries pathogènes à coloration Gram négatif que sur celles à coloration Gram positif. Le plus grand diamètre d'inhibition a été obtenu avec la souche BW12 contre *Bacillus licheniformis* et le plus petit a été obtenu avec les souches BW1, BW9, BW10 contre *Bacillus spizini* et BW14 contre *Enterococcus faecalis*. Ce travail nous a permis d'isoler de présumés *Streptomyces* productrices de substances contre les bactéries.

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés** : Sol, actinomycètes, activité antimicrobienne, antibiotiques, Burkina Faso.

## Isolation of antimicrobial-producing actinomycete strains from soil samples collected in the city of Ouagadougou, Burkina Faso

### ABSTRACT

With the multi-resistant bacteria emergence and continuous progression, the search for biomolecules with antibacterial activity is now necessary. The objective of this work was to isolate and characterize strains of actinomycetes capable of antimicrobial substances producing. Soil samples were taken from two sites: Urban “Bangré Weogo” park (BW), and the greenhouse of University Joseph KI-ZERBO. The samples have been then analyzed at the LaBIA, University Joseph KI-ZERBO (Burkina Faso). Actinomycete strains were isolated using Casein-Starch-Agar medium supplemented with nystatin and chloramphenicol after CaCO<sub>3</sub> enrichment. Antibacterial activity was achieved by the agar well diffusion method. Observations of the strains as well as biochemical tests were carried out for a strain identification test. A total of 20 strains were isolated. 07 of these strains showed antibacterial activity against pathogenic strains. BW12 and BW13 strains exhibited antibacterial activity against both Gram-negative and Gram-positive pathogenic bacteria. The highest inhibition diameter was obtained with strain BW12 against *Bacillus licheniformis* and the smallest was obtained with strains BW1, BW9, BW10 against *Bacillus spizini* and BW14 against *Enterococcus faecalis*. This study has allowed us to isolate presumed *Streptomyces* producing substances against bacteria.

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.

**Keywords:** Soil, actinomycetes, antimicrobial activity, antibiotics, Burkina Faso.

### INTRODUCTION

La consommation des antibiotiques dans le monde s'est accrue d'environ 65% de 2000 à 2015 où elle avait atteint 42,3 milliards de doses engendrant des dépenses de plus 38,4 milliards de dollars US selon Louis (2018). Dans les pays développés, cette consommation a baissé de 4%, cependant, son taux a augmenté de 77% dans les pays en développement selon Louis (2018). Si la disponibilité et l'utilisation de ces antibiotiques sont d'un apport considérable dans la lutte contre les maladies infectieuses, leur consommation n'est pas sans inconvénient sur la santé humaine. En effet, l'usage abusif et non contrôlé (prescription inadaptée, doses sous-optimales, spectre d'action insuffisant ou trop large, non observance du traitement, automédication, etc.) sont en partie responsables de l'apparition et de l'évolution de la résistance bactérienne entraînant une augmentation du nombre d'échecs thérapeutiques et une augmentation de la morbidité et de la mortalité selon Loucif (2011).

De nos jours, l'émergence et la diffusion rapide de l'antibiorésistance sont un grave problème de santé publique. Malgré la mobilisation de l'Organisation Mondiale de la

Santé (OMS) pour faire face à ce phénomène, le nombre de victimes ne cesse d'accroître. De nombreux travaux à travers le monde témoignent en effet de cette résistance grandissante. Au Nigeria en 2022 une étude a montré que 82,4% des souches de *Acinetobacter baumannii* étaient résistantes à l'imipénème, 94% à la ceftazidime, 97,1% à la cefépime selon Odih et al. (2022). Quatre années d'avant (2018), une étude a montré au Kenya que 91,9% des souches de *Staphylococcus aureus* étaient résistantes à la pénicilline et 56,9% à la Triméthoprime-sulfaméthoxazole d'après Gitau et al. (2018). Au Burkina Faso, Ouédraogo et al. (2022) ont montré que sur 187 souches d'entérobactéries, 98,75% étaient résistantes à l'amoxicilline + acide clavulanique, 41,76% au ceftriaxone et 43,14% à la ceftazidime. Ces différents travaux montrent que le problème de la résistance reste quotidien et l'absence de mise sur le marché de nouveaux antibiotiques rend le phénomène plus inquiétant. En effet, vers les années 80, les industriels commencèrent à se détourner du développement des antibiotiques. En 1989, la moitié des grandes firmes américaines et japonaises, diminuèrent ou suspendirent leurs recherches en anti-infectieux justifié par

l'absence de retour sur investissement. Elles furent suivies par le laboratoire Suisse Roche en 2000. Depuis 50 ans, aucune nouvelle classe d'antibiotiques dirigée contre les bactéries à Gram négatif n'a reçu d'autorisation de mise sur le marché.

Carlet et al. (2015) ont rapporté que les pertes économiques liées à la résistance bactérienne s'élèveraient à plus de 1,5 milliards d'euros en Europe, et plus de 55 milliards de dollars aux Etats-Unis. Au niveau mondial, le coût cumulé de l'antibiorésistance dépassera 100 000 milliards de dollars d'ici 2050 si rien n'est fait pour lutter contre ce phénomène

Comme alternative pour pallier ce problème d'antibiorésistance une meilleure utilisation et/ou la réduction de la consommation des antibiotiques ont été préconisés. Cependant, l'évolution constante de la résistance bactérienne aux antibiotiques justifie l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes selon Boughachiche et al. (2005).

De par le passé, de nombreuses molécules actives ont été obtenues à partir de végétaux, d'animaux et d'organismes microscopiques notamment les actinomycètes. Si de nouvelles molécules soignantes sont obtenues par synthèse chimique, plusieurs techniques permettent leur extraction chez certains êtres vivants. En effet, Diop (2018) a rapporté dans son étude que des extraits de plantes utilisées dans une étude au Sénégal (*Combretum aculeatum* et *Guiera senegalensis*) et en Algérie ont montré une bonne activité antibactérienne. Au Burkina Faso, des travaux sur l'activité antibactérienne d'extrait de plantes (*Alternanthera pungens*; *Combretum sericeum* et *Hyptis suaveolens*) ont également montré de résultats intéressants (Zongo et al., 2011 ; Mihin et al., 2019). En outre, des souches de moisissures isolées à partir d'aliments locaux ont révélé une bonne activité antibactérienne selon Compaoré (2017). Habibèche (2013) a montré que les actinomycètes constituent l'un des groupes microbiens les plus prometteurs quant à la recherche de nouveaux antibiotiques. Cependant, au Burkina Faso, peu de recherches sont orientées vers ces microorganismes. La

présente étude avait pour objectif l'isolement et la caractérisation d'actinomycètes producteurs de molécules antibactériennes et potentielle source de nouveaux antibiotiques efficaces.

## MATERIEL ET METHODES

### Sites d'échantillonnage

Les échantillons de sol ont été prélevés dans deux sites différents de la ville de Ouagadougou. Le premier est le bas-fond de la forêt classée « Bangré-Wéogo » (12°23'13"N/1°30'7"W) et le deuxième est la serre à l'Unité de Formation et de la Recherche en Sciences de la Vie et de Terre (UFR/SVT) de l'Université Joseph KI-ZERBO (12°22'45"N/1°29'52"W).

### Matériel

Le matériel a été constitué par des échantillons de sols. Au total, 06 échantillons de sol ont été prélevés à raison de 03 échantillons par site. Les échantillons ont été acheminés au Laboratoire de Biochimie et Immunologie Appliquées (LaBIA) à l'UFR/SVT/Université Joseph KI-ZERBO où ils ont été conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'analyse.

### Méthodes

#### Détermination des paramètres physico-chimiques des échantillons de sol

Les paramètres physico-chimiques comme le pH, le taux d'humidité, et le taux de matières organique ont été analysés. Le pH a été déterminé à l'aide d'un pH-mètre à électrode (HAN-HI99121). La technique utilisée était celle de Kumar et al. (2012) pour obtenir un rapport sol/eau distillée de 2/5 (g/ml). Pour ce faire, 10 g de sol ont été mélangés à 25 mL d'eau distillée et la valeur du pH affichée a été relevée après avoir plongé le pH-mètre dans la suspension. Le taux d'humidité a été déterminé après séchage de 10 g de chaque sol à l'étuve à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant selon la formule décrit par Messaoudi (2013):

$$TH = \frac{(P1 - Pt)(P2 - Pt)}{(P1 - Pt)} * 100$$

P1 = poids de l'échantillon avec la tare avant séchage ; P2 = poids de l'échantillon avec la

tare après séchage ; Pt = poids de la tare ; TH = Taux d'humidité.

Pour la détermination du taux de la matière organique, l'échantillon du sol préalablement tamisé a été séché à l'étuve à la température de 100°C pendant 24 heures afin d'éliminer l'eau. La calcination du sol a été obtenue en incinérant 5 g du sol dans un four à moufle à haute température (475°C) pendant 16 heures. La matière organique a été calculée selon la formule de Messaoudi (2013) :

$$\%MO = \frac{\text{Poids du sol avant calcination} - \text{Poids du sol après calcination}}{\text{Poids du sol avant calcination}} * 100$$

MO = Matière organique

### **Isolement des actinomycètes**

#### *Prétraitement des échantillons de sol*

Un séchage des échantillons a été réalisé à température ambiante à 25°C +/-2 pendant 7 jours d'après Suwan et al. (2012). Un enrichissement des échantillons pour l'isolement des actinomycètes a été réalisé suivant la technique décrite par El-Nakeeb et Lechevalier (1963). Pour ce faire, une masse de 10 g de l'échantillon de sol a été prélevée et mélangée avec 1 g de CaCO<sub>3</sub> dans un tube à essai stérile. Ce mélange a ensuite été incubé pendant 7 jours à la température ambiante (25+/- 2°C).

#### *Préparation du milieu de culture*

Le milieu de culture Caséine-Amidon-Agar (CAA) additionné du NaCl (0,2%) a été dissout dans l'eau distillée. Un volume de 1 mL de la solution d'oligoéléments a été ajouté avant stérilisation à 121°C à l'autoclave pendant 15 minutes selon Messaoudi (2013). Après refroidissement, un antifongique (nystatine, 50 µg/L) et un antibactérien (chloramphénicol, 25 µg/L) y ont été ajoutés selon Sharma et al. (2011). Le milieu obtenu a été reparti dans des boîtes de Pétri.

#### *Préparation des dilutions et ensemencements*

Dilutions en cascade : les dilutions en cascade ont été faites selon la technique de référence décrite par Kumar et al. (2010). La solution mère a été préparée en ajoutant 10 g de sol préalablement soumis au prétraitement dans un flacon contenant 90 mL d'eau physiologique stérile (NaCl 90%. Le mélange

a été homogénéisé et constitue la dilution 10<sup>-1</sup>. La suspension de sol obtenue (1 mL) a été prélevée puis placée dans 9 mL d'eau physiologique stérile contenus dans un tube à essai, ce qui constitue la dilution 10<sup>-2</sup>. Par dilution successive, les dilutions 10<sup>-3</sup> et 10<sup>-4</sup> ont été réalisées.

### **Ensemencement**

L'ensemencement a été réalisé par étalement. A l'aide d'une seringue, 1 mL de chaque dilution a été prélevé et déposé sur le milieu puis des billes stérilisées ont été utilisées pour son étalement homogène. Les billes ont été retirées par la suite puis les boîtes ont été mises à incubation dans une étuve à 30°C pendant 7 à 21 jours selon Messaoudi (2013).

### **Purification des souches**

Au bout de ce temps et après observation, les colonies ayant des aspects macroscopiques proches des actinomycètes ont été repiquées par stries sur milieu CAA neuf. Pour obtenir des colonies plus ou moins uniformes (cultures pures), cette action a été répétée trois fois. La pureté des cultures a été vérifiée par observation macroscopique et microscopique après chaque repiquage. Les souches obtenues ont été conservées dans une gélose nutritive additionnée de 20% de glycérol et conservées au réfrigérateur à 4°C avant les différents tests.

### **Etude de l'activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne des souches d'actinomycètes a été évaluée sur 09 souches bactériennes à Gram positif (*Micrococcus luteus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus spizini*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella infantis*, *Lactobacillus* sp, *Shigella Flexneri*) et sur 09 souches bactériennes à Gram négatif (*Echerichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Aspergillus niger*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enterica*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella tify*, *Shigella dysenteria*, *Pseudomonas aeruginosa*). Cette évaluation a été faite en utilisant la technique des cylindres d'agar décrite par Habibeche (2013) et aussi selon celle des puits par l'utilisation du surnageant.

### **Technique des disques d'agar**

La technique utilisée était celle de Habibeche (2013). Brièvement, les souches d'actinomycètes ont été ensemencées en stries serrées à la surface du milieu CAA afin d'obtenir une couche homogène de cellules. Après ensemencement, les boîtes de Pétri ensemencées ont été conservées à 4°C pendant 2 à 4 heures pour permettre la diffusion des substances bioactives produites par les souches contrôles, puis elles ont été mises à incuber à 30°C. L'activité antibactérienne a été évaluée par la mesure des diamètres d'inhibition après 24 heures d'incubation. Les souches présentant une activité appréciable ont été retenues pour la production en milieu liquide. Un test de présélection a été effectué sur *Micrococcus luteus*, une souche bactérienne connue comme étant très sensible aux antibiotiques. Seules les souches ayant une activité positive sur cette souche pathogène, prouvant ainsi la production de substances antibactériennes, ont été testées sur les autres bactéries pathogènes.

### **Culture en milieu liquide**

Les souches d'actinomycètes présentant une activité antibactérienne sur une souche spécifique, au cours du test des disques d'Agar, ont été sélectionnées et testées en utilisant la méthode de diffusion sur gélose par les puits, sur les mêmes souches bactériennes selon Taalé (2016). Les souches d'actinomycètes ont été mises en incubation dans des tubes Erlenmeyer de 250 mL contenant chacun 100 mL du milieu liquide CA (milieu de culture CAA sans agar), sous agitation permanente à 250 rpm, à une température de 30°C. Après 14 jours d'incubation, 2 mL de milieu de culture ont été prélevés et centrifugés à 6000 rpm pendant 15 minutes. Le surnageant a été recueilli. Une suspension de dilution au Mc Farland ( $10^7$  UFC/mL) de jeunes cultures de la souche pathogène test a été ensemencée par inondation sur boîte de Pétri contenant du milieu Mueller Hinton. Des puits ont été réalisés sur la gélose à l'aide de pipettes. Chaque puits a été rempli avec 100  $\mu$ L du surnageant recueilli. L'incubation a été faite à 30°C pendant 24 heures. Les inhibitions sont caractérisées par l'apparition d'halos autour de chaque puits.

### **Caractérisation des souches productrices de substances biologiquement actives**

Cette étude a été réalisée essentiellement sur les souches présentant une activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes.

### **Étude morphologique des colonies d'actinomycètes**

L'étude macromorphologique a consisté à noter la couleur du mycélium (substrat et végétatif), l'aspect, la forme et la taille des colonies (Habibeche, 2013; Messaoudi, 2013).

L'étude micro-morphologique des souches d'actinomycètes a été étudiée par observation au microscope optique à l'état frais des souches (objectif  $\times 10$ ,  $\times 40$ ) et après coloration au Gram (objectif  $\times 100$ ) selon la technique décrite par Compaoré et al. (2012). Certaines caractéristiques biochimiques telles que : l'utilisation du citrate, la motilité et l'utilisation du mannitol, la fermentation du glucose et du lactose avec production du sulfure d'hydrogène et de gaz, la production de catalase et d'oxydase, le test de sporulation et l'utilisation des substrats carbonés ont été déterminées.

### **Détermination des paramètres physiologiques des souches**

La détermination du pH optimum a été faite selon la technique décrite par Djaballah (2009). Les souches d'actinomycètes sélectionnées ont été cultivées sur le milieu de culture CAA préparé à différentes valeurs de pH (2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 ; 9 ; 10) et incubées à 30°C pendant 7 à 14 jours, afin de déterminer le pH optimum de croissance. Les souches à identifier ont été incubées à différentes températures (25 ; 30 ; 37 ; 40 ; 44 °C) sur le milieu de culture CAA selon la technique décrite par Messaoudi (2013). Après 7 à 14 jours d'incubation, les diamètres des colonies observées à différentes températures ont été comparés, la température favorisant la meilleure croissance bactérienne a été notée. Aussi, le test de tolérance au chlorure de sodium a été réalisé en milieu CAA et contenant des concentrations croissantes de chlorure de sodium selon la technique décrite par Messaoudi (2013). Après ensemencement, les boîtes ont été incubées à 30°C. La

croissance de la souche dans les différents tubes a été observée après 14 à 21 jours d'incubation. La tolérance maximale au chlorure de sodium correspond à la dernière concentration présentant encore une croissance. Une comparaison relative a été faite entre les cultures afin de déterminer le taux de NaCl pour lequel la croissance est optimale.

### **Analyse statistique des données**

Les données collectées ont été saisies sur Excel version 2013. L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab version 2018 selon le test de Tukey au seuil de probabilité de 5%.

## **RESULTATS**

### **Paramètres physicochimiques des échantillons de sol**

#### **pH**

Une analyse du pH des sols étudiés a montré que les échantillons de sol du bas-fond « Bangré-Wéogo » (BW) et de la serre de l'Université Joseph KI-ZERBO présentaient des pH légèrement alcalins qui étaient respectivement 8,04 et 8,25.

#### **Taux d'humidité**

Les taux d'humidité observés étaient de 25,5% pour le sol du bas-fond et 3,3% pour celui de la serre.

#### **Matières organiques**

Les taux de matières organiques des sols prélevés étaient respectivement de 14,2% pour les échantillons du bas-fond du parc urbain et de 4,2% pour ceux de la serre.

#### **Souches d'actinomycètes isolées du sol**

Au total, vingt (20) souches d'actinomycètes ont été isolées au cours de nos travaux en utilisant le milieu sélectif CAA. Des isolats obtenus, 14 (BW1 à BW14) proviennent du sol de Bangré- Wéogo et 06 (S1 à S6) du sol de la serre.

#### **Activité antibactérienne**

La technique des cylindres d'agar a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur des souches d'actinomycètes sur les bactéries tests. Le test de présélection nous a permis de retenir 7 souches ayant eu une activité sur *Micrococcus luteus*. Ainsi, la Figure 1 illustre l'activité des actinomycètes sélectionnés sur

*Micrococcus luteus*. Les souches ayant eu une activité positive sur *M. luteus* ont été testées sur les 17 autres souches pathogènes (faisant au total 10 souches pathogènes). Toutes les souches présentant une activité antibactérienne sur *M. luteus* ont montré des diamètres d'inhibition sur les 17 autres souches pathogènes. Ces diamètres variaient d'une souche à une autre et d'un pathogène à un autre comme consigné dans le Tableau 1. Les moyennes de la même ligne ne partageant pas la même lettre étaient significativement différentes, selon le test de Turkey ( $p \leq 0,05$ ). Le développement d'un germe test ensemencé dans la gélose a permis, après incubation, de déceler la présence d'une substance inhibitrice qui était matérialisée par un halo translucide au niveau de la zone de diffusion de la substance bioactive. Les résultats de ce Tableau ont montré que tous les isolats présentaient une activité antibactérienne positive sur au moins une souche pathogène. La souche BW14 présentait le spectre d'action le plus restreint. Cette souche n'a inhibé que la croissance de 3 souches tests avec des diamètres faibles pour *Enterococcus faecalis* (7 mm) et *Salmonella typhi* (8 mm), et une activité relativement importante sur *Micrococcus luteus* (15 mm). Les souches BW12 et BW13 du sol de bas-fond présentaient une activité antibactérienne sur tous les pathogènes testés. Ces souches produisaient des substances qui inhibaient la croissance de bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Ces souches d'actinomycètes ont cependant une faible activité antibactérienne sur *E. coli*. La plus forte activité antimicrobienne a été reportée pour l'isolat BW12 sur *Bacillus Licheniformis* (23 mm de diamètre d'inhibition).

Par ailleurs, aucun isolat isolé à partir du sol de la serre de l'Université Joseph KI-ZERBO n'a montré une importante activité antibactérienne. L'analyse de variance (ANOVA) a montré qu'il existe une différence très significative ( $p \leq 0,0001$ ) entre les diamètres d'inhibition des souches. Néanmoins cette différence était peu significative pour *Micrococcus luteus* ( $p \leq 0,005$ ) et *Escherichia coli* ( $p \leq 0,004$ ). La sensibilité relative des

souches pathogènes vis-à-vis des isolats d'actinomycètes a été évaluée et consignée dans le Tableau 2. Ces résultats ont montré que tous les isolats avaient une activité sur *Micrococcus luteus* ainsi que sur *Enterococcus faecalis*. Ces deux souches apparaissaient donc comme les plus sensibles. Au moins 4 isolats étaient actifs sur *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, *Salmonella typhi*, *A. niger*, *P. aeruginosa*, *Y. enterocolitica*, *S. dysenteriae*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. spizini* et *S. flexneri*. De plus, 6 isolats avaient une activité significative sur *S. aureus*. Cette souche serait sensible aux substances antibiotiques produites par les isolats d'actinomycètes. Ainsi, la Figure 2 illustre l'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes sur les bactéries pathogènes.

#### **Production de substances en milieu liquide**

Au cours du test d'inhibition sur milieu liquide, l'inhibition de la croissance d'aucune souche bactérienne n'a été observée. Ainsi, les souches qui s'étaient révélées très sensibles au cours du test avec les disques d'agar (*M. luteus* et *E. faecalis*), se sont révélées résistantes.

#### **Caractérisation des souches**

Une caractérisation partielle des souches d'actinomycètes retenues pour leur activité antibactérienne a été réalisée. Cette analyse s'est basée sur des critères morphologiques et biochimiques.

#### **Morphologie des isolats**

##### **Macromorphologie**

Après ensemencement sur le milieu CAA, les colonies d'actinomycètes purifiées avaient apparu au bout de 72 heures d'incubation. Leur aspect n'était appréciable qu'après au minimum 7 jours d'incubation, période après laquelle la croissance de toutes les souches était effective. Les colonies obtenues avaient des tailles et des formes variables (bombée, aplatie, etc.). Elles étaient incrustées dans la gélose, possédaient un mycélium végétatif (mycélium de substrat) surmonté d'un mycélium aérien de couleurs différentes (blanche, marron, gris, brun, etc.). La taille des colonies était comprise entre 1 et 3 mm et étaient toutes arrondies. Hormis la souche BW14, toutes les colonies étaient

rugueuses. L'adhérence des colonies à la gélose faisait qu'elles étaient difficiles à prélever, et à mettre en suspension. Le mycélium aérien de la souche BW10 avait un aspect général blanchâtre avec au centre des colonies, un point gris. Les colonies de la souche BW12, quant à elles, apparaissaient brunes des bords mais présentaient un point blanc au centre. De par l'aspect de ces colonies, la souche BW14 a présenté quelques particularités par rapport aux six (06) autres souches. En effet, celle-ci paraissait blanchâtre les premiers jours de croissance. Cependant, elle devenait marronne ou brunâtre après 14 jours de culture. De plus, elle n'adhérait pas fortement au substrat ce qui permettait de la prélever et de la mettre en suspension plus facilement avec une pipette Pasteur. Nous avons noté également la présence de pigment diffusible se caractérisant par une coloration du substrat qui devenait tout marronne. Les caractères culturels des isolats observés après 7 jours d'incubation ont été regroupés dans le Tableau 3.

##### **Micromorphologie des isolats**

L'observation des souches au microscope optique nous a révélé des bactéries filamenteuses (Figure 3). Les mycéliums des isolats étaient très abondants et présentaient beaucoup de ramifications. Ils présentaient aussi par endroit des cloisons apparentes. Pour certaines souches (BW1, BW9, BW12), le mycélium était légèrement épais. Cependant, les autres (BW10, BW11 et BW13), présentaient un mycélium très fin et beaucoup plus enchevêtré.

De plus, la coloration au Gram a montré que les isolats étaient des bactéries à Gram positif (Figure 3).

##### **Caractéristiques biochimiques des souches**

Un ensemble de tests biochimiques : utilisation du citrate, la mobilité des isolats, recherche de catalase, utilisation d'urée, production d'indole, test d'oxydase, test de sporulation et la capacité des souches à utiliser les substrats carbonés a été réalisé. Les résultats de ces différents tests ont été résumés

dans le Tableau 3. Toutes les souches étaient sporulantes, à Gram + et catalase +. Elles utilisaient toutes le glucose, l'amidon et le glucogène. La mobilité de deux souches (BW1 et BW11) a été confirmée par la culture sur le milieu « Mannitol Mobility ». Aucune des souches ne produisait ni du sulfure d'hydrogène ni du gaz.

#### Paramètres physiologiques des souches

Le pH optimum de croissance a été déterminé pour l'ensemble des 7 isolats. Aucune souche ne croissait à un pH inférieur à 5. Les souches en présence n'étaient donc pas des bactéries acidophiles. Néanmoins, 5 d'entre elles (BW1, BW9, BW10, BW11, BW12) présentaient un développement faible à pH 5 et pouvaient être considérés comme micro-acidophiles. Toutes les souches ont poussé aux pH 6 ; 7 et 8 avec une meilleure croissance pour les cultures à pH 7. Cette dernière valeur (de pH) représentait l'optimum de croissance pour les souches. Toutes les souches présentaient des colonies bien développées à 7 jours d'incubation. Pour les

pH 10 et 11, le développement d'aucune souche n'a été constaté.

Après 7 jours d'incubation, les cultures ont été analysées afin de constater non seulement la croissance ou non, mais surtout de faire une comparaison entre l'état de développement des colonies aux différentes températures. La présente étude a révélé que la température optimale était de 30°C. Toutes les souches se développaient à partir de 25°C. Seules BW9 et BW12 se sont développées respectivement à 40°C et à 44°C (faiblement). Les résultats obtenus liés à la sensibilité des souches vis-à-vis de la concentration de sel dans le milieu de culture ont montré que les souches se sont développées en absence de NaCl (0%). A l'exception de la souche BW11 toutes les autres ont obéi à cette règle. Aussi, toutes les souches ont présenté un optimum de croissance à 5% de NaCl. Aucune croissance n'a été constatée sur un milieu à plus de 10% de NaCl. Cependant, ce dernier a montré qu'au-delà de 7% de NaCl, aucune souche ne croissait.



**Figure 1** : Photos illustrant l'activité antibactérienne des souches BW1, BW10, BW11, BW12, BW13 et B.



**Tableau 1** : Activité antibactérienne : technique des cylindres d'agar.

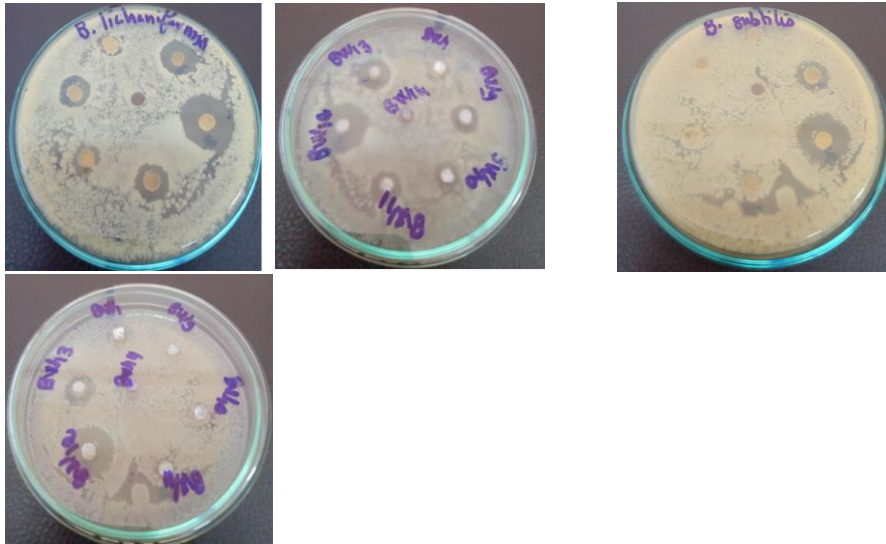
Souches tests	Tailles des diamètres d'inhibition des isolats (mm)							P value
	BW1	BW9	BW10	BW11	BW12	BW13	BW14	
<i>Micrococcus luteus</i>	10,00 <sup>c</sup> ±0,00	14,00 <sup>bc</sup> ±2,83	18,00 <sup>ab</sup> ±1,41	18,00 <sup>ab</sup> ±0,00	21,00 <sup>ab</sup> ±2,83	22,00 <sup>a</sup> ±2,83	15,00 <sup>abc</sup> ±0,00	0,005
<i>E. faecalis</i>	11,00 <sup>b</sup> ±1,41	8,00 <sup>a</sup> ±2,83	18,00 <sup>a</sup> ±1,41	17,00 <sup>b</sup> ±0,00	9,500 <sup>b</sup> ±0,707	11,00 <sup>b</sup> ±0,00	7,000 <sup>b</sup> ±0,000	0,0001
<i>E. coli</i>	6,00 <sup>c</sup> ±0,000	8,00 <sup>bc</sup> ±0,000	11,00 <sup>ab</sup> ±2,83	13,50 <sup>a</sup> ±0,707	10,00 <sup>abc</sup> ±0,00	8,00 <sup>bc</sup> ±1,41	6,00 <sup>c</sup> ±0,000	0,004
<i>Bacillus cereus</i>	6,00 <sup>c</sup> ±0,000	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	12,00 <sup>b</sup> ±1,41	12,00 <sup>b</sup> ±0,00	22,00 <sup>a</sup> ±1,41	15,00 <sup>b</sup> ±1,41	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	0,0001
<i>S. aureus</i>	10,0 <sup>bc</sup> ±0,00	8,00 <sup>c</sup> ±1,41	8,000 <sup>c</sup> ±0,000	11,0 <sup>abc</sup> ±2,83	16,00 <sup>a</sup> ±1,41	15,00 <sup>ab</sup> ±1,41	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	0,001
<i>Salmonella typhi</i>	10,00 <sup>bcd</sup> ±1,41	6,00 <sup>d</sup> ±0,000	13,00 <sup>abc</sup> ±2,83	12,0 <sup>bc</sup> ±1,41	18,00 <sup>a</sup> ±0,00	15,00 <sup>ab</sup> ±1,41	8,00 <sup>cd</sup> ±1,41	0,0001
<i>S. paratyphi</i>	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	12,00 <sup>b</sup> ±0,000	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	20,00 <sup>a</sup> ±1,41	15,00 <sup>b</sup> ±1,41	6,000 <sup>c</sup> ±1,41	0,0001
<i>Aspergillus niger</i>	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	13,00 <sup>b</sup> ±1,41	10,50 <sup>bc</sup> ±2,12	13,00 <sup>b</sup> ±1,41	22,00 <sup>a</sup> ±2,83	16,00 <sup>ab</sup> ±1,41	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	0,0001
<i>P. aeruginosa</i>	12,00 <sup>b</sup> ±1,41	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	13,00 <sup>c</sup> ±2,83	20,00 <sup>a</sup> ±1,41	16,00 <sup>ab</sup> ±1,41	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	0,0001
<i>Y. enterocolitica</i>	8,000 <sup>cd</sup> ±0,000	11,00 <sup>bc</sup> ±1,41	6,000 <sup>d</sup> ±0,000	6,000 <sup>d</sup> ±0,000	20,00 <sup>a</sup> ±1,41	12,00 <sup>b</sup> ±1,41	6,000 <sup>d</sup> ±0,000	0,0001
<i>Shigella dysenteriae</i>	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	15,00 <sup>ab</sup> ±0,00	12,00 <sup>b</sup> ±1,41	13,00 <sup>ab</sup> ±1,41	17,00 <sup>a</sup> ±1,41	15,00 <sup>ab</sup> ±1,41	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	0,0001
<i>Salmonella infantis</i>	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	8,00 <sup>b</sup> ±1,41	21,00 <sup>a</sup> ±1,41	13,00 <sup>b</sup> ±1,41	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	0,0001
<i>Lactobacillus. sp</i>	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	14,00 <sup>a</sup> ±0,00	8,00 <sup>b</sup> ±1,41	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	0,0001
<i>Salmonella enterica</i>	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	7,000 <sup>c</sup> ±0,000	18,00 <sup>a</sup> ±1,41	13,00 <sup>b</sup> ±0,00	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	0,0001
<i>B. licheniformis</i>	12,00 <sup>bcd</sup> ±1,41	13,00 <sup>bc</sup> ±1,41	10, 00 <sup>cd</sup> ±1,41	12,00 <sup>bcd</sup> ±1,41	23,00 <sup>a</sup> ±2,83	17,00 <sup>ab</sup> ±1,41	6,000 <sup>d</sup> ±0,000	0,0001
<i>Bacillus subtilis</i>	8,00 <sup>b</sup> ±1,41	8,00 <sup>b</sup> ±1,41	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	19,00 <sup>a</sup> ±1,41	15,00 <sup>a</sup> ±1,41	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	0,0001
<i>Bacillus spizini</i>	7,000 <sup>c</sup> ±0,000	7,000 <sup>c</sup> ±0,000	7,000 <sup>c</sup> ±0,000	8,00 <sup>c</sup> ±1,41	20,00 <sup>a</sup> ±1,41	14,00 <sup>b</sup> ±1,41	6,000 <sup>c</sup> ±0,000	0,0001
<i>Shigella flexneri</i>	10,00 <sup>b</sup> ±0,00	10,00 <sup>b</sup> ±1,41	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	8,00 <sup>b</sup> ±1,41	20,00 <sup>a</sup> ±1,41	16,00 <sup>a</sup> ±1,41	6,000 <sup>b</sup> ±0,000	0,0001

**Légende** : BW : Bangré-Wéogo ; chiffres : numéros affectés aux isolats ; - : absence d'inhibition ; a, b, c, d : signifient que les moyennes de la même ligne ne partageant pas la même lettre sont significativement différentes, selon le test de Turkey à  $p \leq 0,05$ .

**Tableau 2** : Caractères cultureux des isolats d'actinomycètes.

Critères	Croissance	Couleur du mycélium aérien	Couleur du mycélium de substrat	Aspect de la colonie	Taille de la colonie(mm)
<b>BW1</b>	++	Beigne, Blanchâtre	Sans couleur	Aplatie à contours arrondis, rugueuse, incrustée	1 à 3
<b>BW9</b>	++	Blanchâtre	Marron clair	Aplatie, contours irréguliers, rugueuse, incrustée	0 à 1
<b>BW10</b>	++	Blanchâtre, point gris au sommet	Marron	Bombée, arrondie, rugueuse, incrustée	0 à 1
<b>BW11</b>	++	Gris	Marron	Légèrement bombée, arrondie, rugueuse, incrustée	0 à 1
<b>BW12</b>	++	Gris-banc, point blanc au sommet	Marron	Bombé, arrondie, rugueuse, incrustée	0 à 2
<b>BW13</b>	++	Gris à blanc virant au marron	Marron	Bombée, arrondie, lisse, incrustée	0 à 1
<b>BW14</b>	++	Beigne virant au Brun	Marron	Arrondie, lisse, brillante, poudreuse	1 à 3

**Légende** : ++ : Bonne croissance ; + mauvaise croissance; - pas de croissance.



Activité des 7 isolats sur *Bacillus licheniformis*    Activité des 7 isolats sur *Bacillus subtilis*.

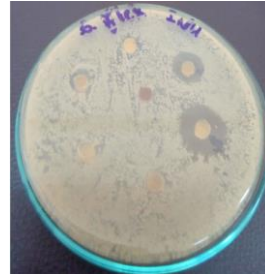
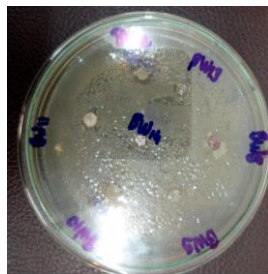
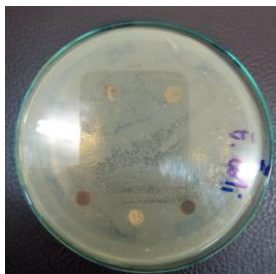


Activité des 7 isolats sur *Bacillus spizizini*.

Activité des 7 isolats sur *Bacillus cereus*.



Activité des 7 isolats sur *Staphylococcus aureus*. Activité des 7 isolats sur *Enterococcus fecalis*.



Activité des 7 isolats sur *E. coli*.

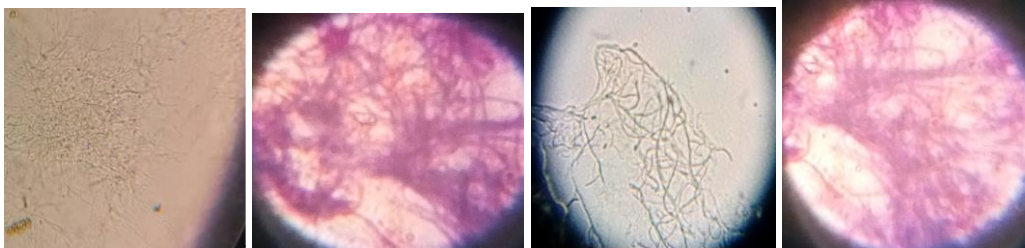
Activité des 7 isolats sur *S. flexne*.

**Figure 2:** Activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes sur les bactéries pathogènes.

**Tableau 3** : Caractérisation biochimiques et sources de carbone.

Caractères	Isolats						
	BW1	BW9	BW10	BW11	BW12	BW13	BW14
<b>Mobilité</b>	+	-	-	+	ND	ND	ND
<b>Urée</b>	-	-	+	+	+	-	-
<b>Indole</b>	+	+	+	+	-	+	+
<b>Catalase</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>Oxydase</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>Sporulation</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>Gram</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>Gaz</b>	-	-	-	-	-	-	ND
<b>H<sup>2</sup>S</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Ribose</b>	+	+	+	-	+	+	+
<b>Arabinose</b>	-	-	-	+	+	-	-
<b>Sucrose</b>	+	+	-	-	+	+	-
<b>Glucose</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>Manose</b>	+	+	-	-	+	-	-
<b>Fructose</b>	+	+	-	-	+	-	+
<b>Galactose</b>	+	+	+	+	+	-	-
<b>Lactose</b>	+	+	+	+	+	-	+
<b>Mannitol</b>	+	-	-	+	+	+	+
<b>Citrate</b>	-	+	-	+	+	-	+
<b>Saccharose</b>	+	-	-	+	+	+	+
<b>Amidon</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>Glucogène</b>	+	+	+	+	+	-	+
<b>Cellulose</b>	-	-	-	-	ND	-	-
<b>Présomption</b>	<i>Streptomyces</i>						ND

**Légende** : ND : résultat non déterminé ; - : réaction négative ; + : réaction positive



A1 : BW12

A2 : BW12

B1 : BW13

B2 : BW13

**A1 et B1** : Observation à l'état frais au microscope optique ; grossissement (Gx40) ;

**A2 et B2** : après coloration de Gram (Gx100).

**Figure 3** : Observation au microscope optique de souches.

## DISCUSSION

La croissance des microorganismes nécessite souvent certains éléments aussi bien physiques que chimiques. Ainsi, les résultats obtenus au cours de notre étude sur le pH étaient similaires à ceux de Messaoudi (2013) qui a montré une variation de pH allant de 7,85 à 9,05 sur 10 échantillons de sol analysés. Saci et Safané (2015) ont aussi noté un pH de 8,22 dans leurs travaux. Selon Djaballah (2009), le pH optimum de croissance des actinomycètes se situerait entre 5 et 9. De faibles variations de pH peuvent avoir des effets particuliers sur la productivité d'une souche. La croissance de ces bactéries nécessite un pH optimum. Les milieux trop alcalins ne sont pas favorables à la croissance des actinomycètes rapportés par Benabdallah (2014), ce qui indique que les souches d'actinomycètes isolées au cours de notre étude n'étaient pas alcalinophiles. Ces résultats obtenus correspondaient aux valeurs caractéristiques de la physiologie des actinomycètes qui stipulent que ce groupe bactérien se développe mieux à des valeurs de pH neutres à légèrement alcalines (Djaballah, 2010; Aouar, 2012). D'après Benabdallah (2014), l'intervalle de pH permettant la croissance des souches se situant entre 5,0 et 9,0, elles sont considérées comme des acidoalcalinophiles.

En ce qui concernait l'humidité et selon Lee et Wang (2002), le sol a une faible humidité si celui-ci est compris entre 2 et 9%, modéré lorsqu'il est compris entre 9,1 et 13%, et enfin élevé lorsqu'il est compris entre 13,1-20%. Nous pouvons en déduire à partir de ces connaissances que le sol de la serre avait un faible taux humidité alors que celui du bas-fond avait un taux d'humidité très élevé. Cela pourrait s'expliquer par le fait que ce dernier reste presque humide durant toute la saison sèche du fait qu'il engorge beaucoup d'eau pendant la saison pluvieuse. Aussi, il y a la présence des arbres qui diminue l'évapotranspiration. Ces résultats corroboraient avec ceux de Djaballa (2010) et de Belyagoubi (2014) qui ont montré que le taux d'humidité varie d'un sol à un autre. Selon Messaoudi (2013), ce taux influence en outre sur le nombre d'actinomycètes du sol qui lui

serait inversement proportionnel. Le pH joue aussi un rôle principal dans la dynamique et l'évolution de la matière organique. Il est donc corrélé avec l'humidité équivalente.

D'après Messaoudi (2013), la matière organique, contribuant à permettre aux sols de résister aux phénomènes de désagrégation, de tassement (stabilité de la structure) et de compaction grâce à sa capacité à former des complexes organo-minéraux stables confèrent au sol des propriétés plastiques. Elle contribue ainsi à assurer la capacité de respiration des sols (porosité), c'est à dire la bonne circulation des flux gazeux et liquides nécessaires au bon fonctionnement des sols. Au cours de cette étude, le taux élevé de MO de l'échantillon du parc Bangré-Wéogo pourrait être expliqué par le fait que le site était un bas-fond et une zone de forte densité végétale. Ainsi, il y avait certainement une accumulation de débris végétaux provenant des plantes et du flux des eaux de ruissellement. L'ensemble des résultats ont montré que les échantillons de sol étudiés ne provenaient pas d'écosystèmes extrêmes. Le sol du bas-fond pourrait ainsi être un milieu favorable au développement des actinomycètes. En effet, Messaoudi (2013) et Belyagoubi (2014) ont montré que les sols riches en MO sont propices au développement de ce type bactérien, c'est-à-dire les actinomycètes.

Par rapport à l'isolement des souches d'actinomycètes et le test de leur pouvoir antibactérien sur les souches pathogènes utilisées, les résultats obtenus étaient en accord avec ceux de Kitouni (2007), Loucif (2011) et Messaoudi (2013) qui relevaient le pouvoir antibactérien remarquable que possédait ce type de microorganisme. Aussi, les eaux usées des canaux de l'Université Joseph KI-ZERBO et du Centre Hospitalier Universitaire Yalgado OUEDRAOGO sont drainées et accumulées dans le bas-fond de Bangré-Wéogo, ce qui pourrait constituer un habitat naturel « moins sain », pouvant affecter la physiologie des bactéries, d'où la production d'antibiotiques. En effet, plusieurs écrits ont relevé que les actinomycètes des écosystèmes extrêmes produisent le plus de substances antimicrobiennes. Ces bactéries élaborent ces

substances afin de résister aux difficultés du milieu (Demain et Lancini, 2006 ; Djinni, 2009). C'est ainsi que Messaoudi (2013) a révélé que sur 18 isolats d'actinomyètes testés, 15 avaient une activité positive sur *S. aureus* et 12 isolats sur *E. faecalis*. Loucif (2011), quant à lui, a testé une collection de souches d'actinomyètes et a enregistré la plus grande zone d'inhibition sur *S. aureus* ATCC 25923 soit 36 mm. Belaidi et Sahour (2015) ont obtenu sur 20 isolats d'actinomyètes, 11 isolats ayant une activité positive sur *S. aureus*. Cependant, des discordances ont été notées entre nos résultats et ceux de Belaidi et Sahour (2015) concernant les isolats du sol agricole. En effet, sur 15 isolats testés, seulement 2 ont été actifs sur *S. aureus*. Les actinomyètes ont présenté des activités différentes en fonction de leur provenance. Ainsi, les souches qui étaient révélées très sensibles au cours du test en utilisant les disques d'agar (*M. luteus* et *E. faecalis*), ont révélé des résistances. Ce résultat pourrait s'expliquer par la physiologie des actinomyètes. En effet, la production de métabolites en milieu liquide est fonction du milieu de culture utilisé. Ainsi, des études d'optimisation de production de métabolites secondaires (antibiotiques) réalisées par Badji et al. (2006) ont montré que sur 8 milieux de culture testés, le milieu CAA est le moins favorable. Ces derniers résultats concordaient avec ceux de Messaoudi (2013) qui a rapporté le diamètre moyen le plus grand (15,33 mm) avec le milieu ISP2.

Concernant les caractéristiques des actinomyètes, les résultats sur la macromorphologie des isolats étaient similaires à ceux d'études antérieures. Ainsi, ces bactéries prenaient diverses colorations sur un même substrat. Messaoudi (2013) a montré que le Mycélium aérien (MA) était blanc et le Mycélium de substrat (MS) pourrait être incolore ou prendre diverses colorations. D'autres auteurs comme Belferkh et Megoura (2016) ont également montré que les colonies d'actinomyètes pourraient avoir des tailles et des colorations variées. Aussi, Djinni (2009) a révélé que les colonies d'un même isolat pouvaient présenter des colorations variables en fonction des substrats de cultures. Les

colonies se sont développées dans le substrat et en surface et s'attachaient à ce substrat. Des colonies d'actinomyètes pouvaient être aussi consistantes, poudreuses, rugueuses, crémeuses, etc. (Benabdallah, 2014 ; Belferkh et Megoura, 2016). Ainsi, Saci et Safané (2015) ont montré que les colonies d'actinomyètes s'incrustaient dans la gélose en croissant (environ 7 jours). Ces caractéristiques ont confirmé la présence d'actinomyètes au cours de notre étude. Par ailleurs, nos résultats ont montré que certaines souches ne s'incrustaient pas (BW14). Ces résultats étaient en accord avec ceux de Ounadjela (2016), qui a isolé des souches d'actinomyètes qui ne s'incrustaient pas dans le substrat. Messali et Senad (2017) ont également isolé des actinomyètes d'aspect poudreux qui ne s'incrustaient pas dans la gélose.

Quant aux résultats sur la micromorphologie, notre étude a montré que les mycéliums de certaines souches d'actinomyètes étaient filamenteux et épais (BW1, BW9 et BW12). D'autres avaient des mycéliums fins et enchevêtrés (BW10, BW11, BW13). Belferkh et Megoura (2016), dans leurs travaux ont montré que les souches d'actinomyètes ont des filaments fins et ramifiés. Aussi, Saci et Safané (2017), dans leurs travaux, ont notifié que les actinomyètes se présentaient en filaments enchevêtrés. Par ailleurs, des techniques de culture sur lamelles faites dans des travaux ont permis d'observer des mycéliums (substrat et aérien) et de potentielles spores (Aouar, 2012 ; Messaoudi, 2013). Ainsi, des études ont révélé qu'une bonne observation des spores d'actinomyètes a été réalisée au microscope électronique selon Belyagoubi (2014). Certains genres d'actinomyètes (*Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *micromonospora*, *Microbispora*, etc.) peuvent être identifiés avec un plus grand degré de précision par rapport aux autres genres (*Nocardia*, *Actinomadura*...) par simple observation microscopique.

L'ensemble des observations macroscopiques (croissance, couleur et aspect du mycélium) et microscopiques des souches faites ont montré au cours de notre étude des

traits spécifiques aux *Streptomyces*. Ces observations nous a permis d'affirmer, à l'exception de la souche BW14, que les isolats pourraient appartenir à ce genre bactérien. Le genre *Streptomyces* est en effet caractérisé par la présence d'un mycélium abondant, enchevêtré selon Belyagoubi (2014). Aussi, ces bactéries sont principalement retrouvées au niveau de la couche superficielle du sol où leur développement et leur dispersion sont facilités par leur croissance mycélienne et leur capacité de sporulation.

Par ailleurs, ces bactéries isolées présentaient des caractéristiques biochimiques permettant leur identification. Les souches produisaient de ce fait, des enzymes capables de dégrader les sucres simples ainsi que les glucides complexes. En effet, l'une des caractéristiques intéressantes de ce groupe bactérien, étaient leur capacité à dégrader différents substrats carbonés et à se développer sur des milieux complexes. Ces propriétés sont utilisées pour l'isolement et la caractérisation des actinomycètes dans une étude de Kitouni (2007). Ces résultats étaient en accord avec ceux d'une étude réalisée plus tard par Benabdallah (2014) qui a montré que les actinomycètes étaient des bactéries à Gram positif et à majorité productrices de catalase et d'oxydase. Selon Messaoudi (2013), le milieu de culture CAA contient la caséine comme source d'azote permettant ainsi de déduire que l'ensemble des souches produisent la caséinase, une enzyme permettant la dégradation métabolique de la caséine. La caséine et l'amidon sont deux des principaux nutriments utilisés pour l'isolement sélectif des actinomycètes. Le nitrate de potassium (KNO<sub>3</sub>), fait également parti des composés utilisés dans le milieu de culture. Les souches d'actinomycètes pourraient ainsi réduire les nitrates en nitrites, les utilisant dans différentes réactions métaboliques. La souche BW12 au cours de notre étude présentait des caractéristiques particulièrement intéressantes quant à l'utilisation des sucres. En effet, à l'exception de la cellulose où l'utilisation est « non déterminée », cette souche dégradait tous les substrats carbonés tests. Cette attitude conférerait à la bactérie le pouvoir de se

développer sur divers milieux de culture. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'elle était dotée d'une capacité enzymatique non seulement importante mais aussi à spectre d'action large (production d'enzymes de natures diverses).

Quant à la température, les actinomycètes au cours de cette étude se sont développés différemment. Des travaux antérieurs ont montré que la température optimale de croissance des actinomycètes était de 30°C (Kitouni, 2007 ; Djinni, 2009 ; Messaoudi, 2013), ce qui les range dans le groupe des bactéries mésophiles. A partir de ces connaissances et en tenant compte des résultats obtenus, la souche BW12 pourrait être considérée comme thermo-tolérante.

Selon Kitouni (2007), les actinomycètes utilisent aussi différemment le NaCl. A de très fortes concentrations en sel, certaines souches sont sensibles et voient leur croissance inhibée tandis que d'autres se développent. Ainsi, les résultats obtenus sur la sensibilité des souches vis-à-vis de la concentration de sel dans le milieu de culture ont montré que les souches se sont développées en absence de NaCl (0%). A l'exception de la souche BW11 toutes les autres ont obéi à cette règle. Ces résultats ont présenté des similitudes avec ceux de Kitouni (2007) qui ont montré que les souches d'actinomycètes se développaient à de faibles concentrations de sel (entre 0 et 5%). Par ailleurs, Aizuddin et al. (2013) ont montré que des souches se développent jusqu'à 10% de NaCl. Ces observations pourraient s'expliquer par l'origine de ces souches. En effet, les actinomycètes isolés de sols salés ou d'eaux de mer supportent de fortes salinités à l'opposé de ceux isolés de milieux peu salés. Djaballa (2010) a isolé à partir de sols extrêmement salés, des souches d'actinomycètes pouvant se développer dans des milieux de culture saturés en NaCl. Selon la littérature, si le pH optimum est 7, la température optimale est 30°C, les souches se développent à des taux faibles de NaCl jusqu'à 10% de NaCl. Elles ont en outre, un bagage enzymatique important pour la plupart et utilisent une large gamme de substrats carbonés... (Kitouni, 2007 ; Djinni, 2009 ; Djaballah, 2010). En tenant compte de

ces observations et en se référant à la bibliographie taxonomique des actinomycètes, nous pourrions dire que nos isolats appartenaient au genre *Streptomyces*. En effet, nos isolats n'étaient pas des actinomycètes rares pour les raisons qu'elles n'ont pas été isolées d'écosystèmes extrêmes (sols ou mers hypersalés, grottes, sols secs).

### Conclusion

Ce travail a consisté à isoler et caractériser des actinomycètes capables de synthétiser des substances antimicrobiennes, à partir d'échantillons de sol prélevés dans la ville de Ouagadougou. Au total, 20 souches ont été isolées. Le criblage sur la base de l'activité antibactérienne des souches par la technique des cylindres d'agar a permis d'en retenir sept (07) ayant une activité antibactérienne sur au moins une bactérie pathogène testée. Les souches BW12 et BW13 se sont montrées particulièrement intéressantes en ayant une activité positive sur toutes les dix-huit (18) souches pathogènes. Cette capacité antibactérienne de ces souches est à souligner d'autant plus qu'elles inhibent à la fois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Elle pourrait être une alternative dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques. Aussi, la souche BW12 était la plus performante et les essais de caractérisation des sept (07) souches retenues ont permis une présomption d'identification qui a montré que 05 de ces souches (BW1 ; BW9 ; BW10 ; BW11 ; BW12) pourraient appartenir au genre *Streptomyces*.

### CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont pas d'intérêts concurrents.

### CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

DSK a contribué dans la rédaction du manuscrit et à sa révision. FT a contribué dans la rédaction du manuscrit et à sa révision. SO a contribué à la collecte des échantillons de sol et à leur traitement au laboratoire. RT a facilité la conduite des analyses au laboratoire. IT a contribué à la collecte des échantillons de sol, à leur traitement au laboratoire et a rédigé le manuscrit. APS a contribué dans la rédaction

du manuscrit et à sa révision. MN a contribué à la relecture du manuscrit. YEH a facilité la rédaction du manuscrit, a participé à sa validation et à sa relecture. IHNB a facilité la rédaction du manuscrit, a participé à sa validation et à sa relecture. CZ est l'initiateur du projet de recherche objet de cet article. AS est l'investigateur principal de l'étude.

### REMERCIEMENTS

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de Biochimie et d'Immunologie Appliquées de l'Université Joseph KI-ZERBO. Nous exprimons nos sincères remerciements à l'Université Joseph KI-ZERBO, plus particulièrement au Laboratoire de Biochimie et d'Immunologie Appliquées (LABIA) pour nous avoir offert le cadre travail à ma personne.

### REFERENCES

- Aizuddin M, Athena N, Nyet Kui W. 2013. Antioxidant and antimicrobial properties of marine actinomycetes from sipadan Island, Sabah. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(2) : 750-759. DOI:10.4314/ijbcs.v7i2.29.
- Aouar L. 2012. Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse de Doctorat, Université Mentouri-Constantine, Algérie, p. 240.
- Belaidi I, Sahour F. 2015. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique d'une collection d'actinomycètes. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, p.68.
- Belferkh A, Megoura M. 2016. Isolement des actinomycètes à partir d'un sol Saharien et d'une Sebkhha de la région d'El-Oued et mise en évidence de leur capacité à dégrader quelques pesticides. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, p.78.
- Belyagoubi L. 2014. Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issues de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen, Algérie, p.209.



- Benabdallah AM. 2014. Screening de souches extrêmophiles halophiles du genre *Bacillus* de la Sebkha D'Oran (caractérisation phénotypique). Mémoire de Master, Université de Tlemcen, Algérie, p.101.
- Boughachiche F, Reghioia S, Oulmi I, Zerizer H, Kitouni M, Boudemagh A, Boulahrouf A. 2005. Isolement d'actinomycètes producteurs de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha d'Ain Mlila. *Sc. Technol.*, **23** : 5-10. <https://search.emarefa.net/detail/BIM-292221>.
- Carlet J, LE Coz P. 2015. *Tous ensemble, sauvons les antibiotiques : Rapport du groupe de travail spécial pour la préservation des antibiotiques*. Ministère des Affaires Etrangères, France, p.12.
- Compaoré H, Sawadogo-Lingani H, Samandoulougou S, Guira F, Savadogo A, Traoré AS. 2017. Aptitude de trois souches de moisissures à produire des enzymes extracellulaires en milieu solide au Burkina Faso. *J. Appl. Biosc.*, **110**: 10776-10782. DOI : 10.4314/jab.v110i1.7.
- Coulibaly EK, Bakayoko S, Karou TG, Coulibaly KJ, Goualie GB, Dosso M, Diopoh KJ. 2010. Sérotypage et antibiorésistance des souches de *Salmonella* isolées dans les foies de poulets vendus sur les marchés de Yopougon (Abidjan, Côte d'Ivoire) en 2005. *Revue Africaine de Santé et de productions Animales*, **8** : 25-30. DOI:10.13140/RG.2.1.4411.3761.
- Diop EHA. 2018. Étude de plantes médicinales et contrôle de qualité des préparations utilisées dans le traitement de la tuberculose au Sénégal. Thèse de doctorat, Université de Genève, Suisse, p.227.
- Djaballah C. 2010. Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolées de la Sebkha de Ain M'Lila. Mémoire de Master, Université Mentouri Constantine, Algérie, p.102.
- Djinni I. 2009. Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées productrices de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Béjaia. Mémoire de Master, Université A. Mira de Bejaia, Algérie, p.154.
- EL-Nakeeb MA, Lechevalier HA. 1963. Selective isolation of aerobic Actinomycetes. *Appl. Microbiol.*, **11**(2): 75-77. DOI: 10.1128/am.11.2.75-77.1963.
- Gitau W, Masika M, Musyoki M, Museve B, Mutwiri T. 2018. Antimicrobial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolates from clinical specimens at Kenyatta National Hospital. *BMC Res Notes*, **3**; **11**(1): 226. DOI: 10.1186/s13104-018-3337-2.
- Habibeche L. 2013. Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices d'antibiotiques. Mémoire de Master, Université Abderrahmane Mira de Bejaia, Algérie, p.67.
- 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. Thèse doctorat, Université Mentouri-Constantine, Algérie, p.206.
- Kumar N, Singh RK, Mishra SK, Singh AK, Pachouri UC. 2010. Isolation and screening of soil Actinomycetes as source of antibiotics active against bacteria. *International J. Microbiol. Res.*, **2**: 12-16.
- Kumar V, Bharti A, Negi YK, Gusain O, Pandey P, Bisht GS. 2012. Screening of actinomycetes from earthworm castings for their antimicrobial activity and industrial enzymes. *Braz. J. Microbiol.*, **43**(1): 205-214. DOI: 10.1590/S1517-838220120001000022.
- Lancini G, Demain, AL. 2013. Bacterial Pharmaceutical Products. In *The Prokaryotes*, Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F (eds). Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-31331-8\_28.
- Lee JY, Hwang BK. 2002. Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative oils of Korea. *Can. J.*

- Microbiol.*, **48**: 407–417. DOI: 10.1139/w02-025.
- Loucif K. 2011. Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Mémoire de magister, Université Mentouri-Constantine, Algérie, p.133.
- Messali R, Senad K. 2017. Etude du potentiel antioxydant de deux souches d'actinobactéries *Streptomyces* sp D1 et *Streptomyces* sp D2. Mémoire de Master, Université A. MIRA – Bejaia, Algérie, p.71.
- Messaoudi O. 2013. Contribution à la caractérisation de souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolés de la sebkhia de Kenedsa (Bechar). Mémoire de Master, Université Abou Bakr BELKAID de Tlemcen, p.106.
- Mihin H.B, Somda MK, Kabore D, Sanon S, Akakpo AY, Semde Z, Traore AS, Ouattara AS. 2019. Biopreservation of meat using the essential oil from *Hyptis suaveolens* Poit. (Lamiaceae) in Burkina Faso. *Afr. J. Biotechnol.*, **18**(29): 808-818. DOI: 10.5897/AJB2019.16888.
- Odih EE, Irek EO, Obadare TO, Oaikhena AO, Afolayan AO, Underwood A, Adenekan AT, Ogunleye VO, Argimon S, Dalsgaard A, Aanensen DM, Okeke IN, Aboderin AO. 2022. Rectal Colonization and Nosocomial Transmission of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in an Intensive Care Unit, Southwest Nigeria. *Front. Med. (Lausanne)*, **7**; **9**: 846051. DOI: 10.3389/fmed.2022.846051.
- Ouedraogo S, Kpoda DS, Ouattara LP, Zongo C, Hien YE, Karfo P, Nezien D, Kabre E, Pillar, AB, Savadogo A. 2022. Identification of Bacteria Strains Isolated in Urinary Tract Infections and Their Antibiotic Susceptibility at the National Public Health Laboratory, Ouagadougou. *Open J. Med. Microbiol.*, **12**: 83-95. DOI: 10.4236/ojmm.2022.123008.
- Ounadjela FZ. 2016. Isolement des microorganismes (actinomycètes et moisissures) producteurs de substances antimicrobiennes à partir du sol d'une grotte dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master, Université De Tlemcen, Algérie, p.126.
- Saci K, Safané A. 2015. Isolement des souches d'actinomycètes d'un sol agricole contaminé par l'herbicide Apyros et étude de leur capacité à le dégrader. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, p.111.
- Sharma D, Kaur T, Chadha BS, Manhas RK. 2011. Antimicrobial Activity of Actinomycetes against Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *E. coli* and Various Other Pathogens. *Trop. J. Pharm. Res.*, **10**(6): 801. DOI: 10.4314/tjpr.v10i6.14
- Shirling EB, Gottlieb D. 1976. Retrospective evaluation of International Streptomyces Project taxonomy criteria. In *Actinomycetes the boundary microorganisms*. Edition: Arai T. Tokyo, Pp. 9–42.
- Suwan N, Boonying W, Nalumpang S. 2012. Antifungal activity of soil actinomycetes to control chilli anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *J. Agr. Technol.*, **8**(2) : 725-737.
- Taale E. 2016. Recherche de molécules bioactives d'origine microbienne : caractérisation biochimique et moléculaire des souches de bactéries isolées du Soumbala, du Bikalga et de certains yaourts consommés au Burkina Faso, productrices de bactériocines. Thèse de Doctorat, Université Joseph KI-ZERBO, Burkina Faso, p.206.
- Zongo C, Savadogo A, Somda MK, Koudou J, Traore AS. 2011. In vitro evaluation of the antimicrobial and antioxidant properties of extracts from whole plant of *Alternanthera pungens* H.B. et K. and leaves of *Combretum sericeum* G. Don. *Intern. J. Phytomed.*, **3**(2): 182-191.