

# Essais de séparation et une pré-caractérisation des activités antimicrobiennes produites par un nouveau taxon bactérien extrêmophile isolé à partir d'un lac hypersalin en Algérie.

Amina Nour Elhouda SAIBI <sup>(1)</sup>, Nadia AISSAOUI <sup>(2)</sup>, Fatima NAS <sup>(1)</sup>, Nihel KLOUCHE KHELIL <sup>(1),(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Laboratoire de Microbiologie Appliquée À l'Agroalimentaire Au biomédical et à l'Environnement . Université de Tlemcen . EX. Complexe Biomédicale, Imama. Bloc C BP 119, Tlemcen 13000 – Algérie, <sup>(2)</sup> Laboratoire de recherche et gestion durable des ressources naturelles dans les zones arides et semi-arides, Centre universitaire Salhi Ahmed-Naama Bp: 66 Naama 45000- Algérie. <sup>(3)</sup> Faculté de Médecine, Université de Tlemcen.



## Résumé

L'étude ayant pour objectif, le criblage de la production et la pré-caractérisation des molécules antimicrobiennes de bactéries issues des milieux extrêmes peu ou non exploités en Algérie. La bactérie LMB3981 issue d'un lac hypersalin d'EL Goléa a été identifiée sur le plan phénotypique et génotypique. Afin de mettre en évidence la production des composés antimicrobiens par cet isolat, l'activité a été mise en évidence par la technique des cylindres d'Agar envers 10 bactéries (Gram négatif et Gram positif) et *Candida albicans*. La pré-caractérisation des molécules a été réalisée par une chromatographie sur couche mince en gel de silice suivie par une révélation chimique des chromatogrammes et une étude spectroscopique de l'extrait chloroformique,

Les résultats des analyses phylogéniques ont conduit que le LMB3981 est un nouveau taxon des *Bacillaceae* (96% de similitude). Le screening primaire a révélé que la souche est active vis-à-vis des bactéries à Gram positif et seulement vis-à-vis de *P. aeruginosa* pour les bactéries à Gram négatif. La technique de la chromatographie sur couche mince en gel de silice a révélé la présence d'une seule molécule et la révélation chimique nous a indiqué la présence des composés phénoliques et peptidiques. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse spectrale infra-rouge.

## Introduction

Les habitats hypersalés formés depuis une longue période de l'histoire de la Terre sont caractérisés par une faible diversité microbienne. Ces dernières années, la recherche sur la biodiversité microbienne des environnements hypersalins s'est multipliée. En effet, l'aspect fondamental que présente ces nouvelles souches, c'est leur pouvoir de produire des molécules d'intérêt biotechnologique. De récents développements prouvent clairement que les composants cellulaires de ces bactéries sont uniques et fournissent de nouveaux composés [1]. Il en est de même pour la production de composés antimicrobiens. En effet, l'étude des bactéries indigènes à ces milieux extrêmes peut aider à mieux exploiter cette importante source de molécules bioactives dans le domaine clinique surtout avec l'émergence de la multirésistance des bactéries pathogènes, l'apparition de nouvelles maladies et la réémergence d'anciennes. Comme conséquence, l'intérêt pour l'isolement et la caractérisation des bactéries halotolérantes et halophiles et de leurs métabolites secondaires est de plus en plus accentué. L'Algérie est un pays riche par sa diversité écologique et géologique, il existe ainsi de nombreux écosystèmes hypersalins tels que les sebkhas, les sols désertiques. Sur lesquelles de nombreuses études ont été réalisées [2][3].

## Matériel et Méthodes

### Description du site d'EL Goléa:

La souche provient du site n° 1 de la sebkha d'EL Goléa (sebkha El Malah) située à 12 kilomètres d'El Meniâa (El Goléa), à 5 kilomètres de Hassi EL Gara et à 280 kilomètres au Sud- Ouest de la ville de Ghardaïa, chef lieu de wilaya.

### Origine de la souche

L'isolat bactérien nommé ML9831 a été isolé lors des travaux de Magister du Dr. Khelil Klouche (1998) et a été conservé à -80°C dans un laboratoire Français (IRD de Marseille),

### Revivification de la souche

### 1-Identifications

- Caractérisation morphologique
- Caractérisation physiologique
- Caractérisation biochimique
- Identification génotypique

### 2-Recherche de l'activité antimicrobienne

- Screening primaire: cylindres d'agar
- Optimisation des activités antimicrobiennes
- Préparation des extraits
- Screening secondaire: Disques en papier

### 3/ pré-caractérisation de biomolécules

- chromatographie sur couche mince
- infra-rouge

Figure 01: Protocol expérimental

## Résultats & Discussion

### 1/ Résultats de l'identification phénotypique de l'isolat

#### a- Caractérisation morphologique, physiologique et biochimique

tableau 1: résultats de la caractérisation morphologique et physiologique

caractère	forme	Mobilité	Gram
résultat	Batonnet	+	+
Paramètre	Temperature °C	NaCl % (p/v)	pH
Gamme	4-55	0-30,5	2-13
Optimum	30	7,5	7

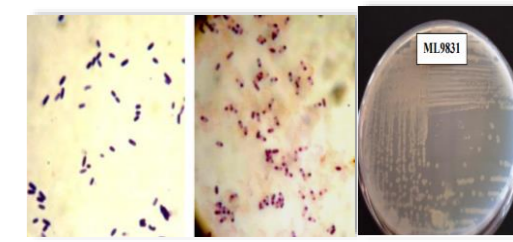


figure 2: aspect macroscopique et microscopique

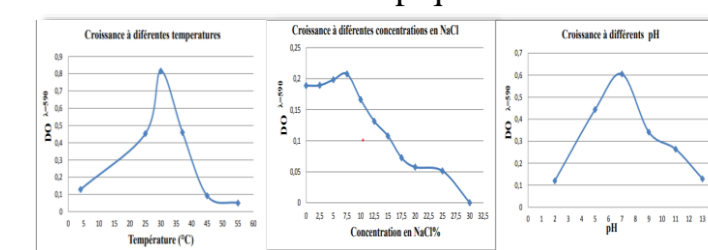


figure 3: courbes de croissance

tableau 2: résultats de la caractérisation biochimique

Test	OXY	CAT	NIT	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
résultat	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-

#### b- Résultats de l'identification génotypique de la ML9831

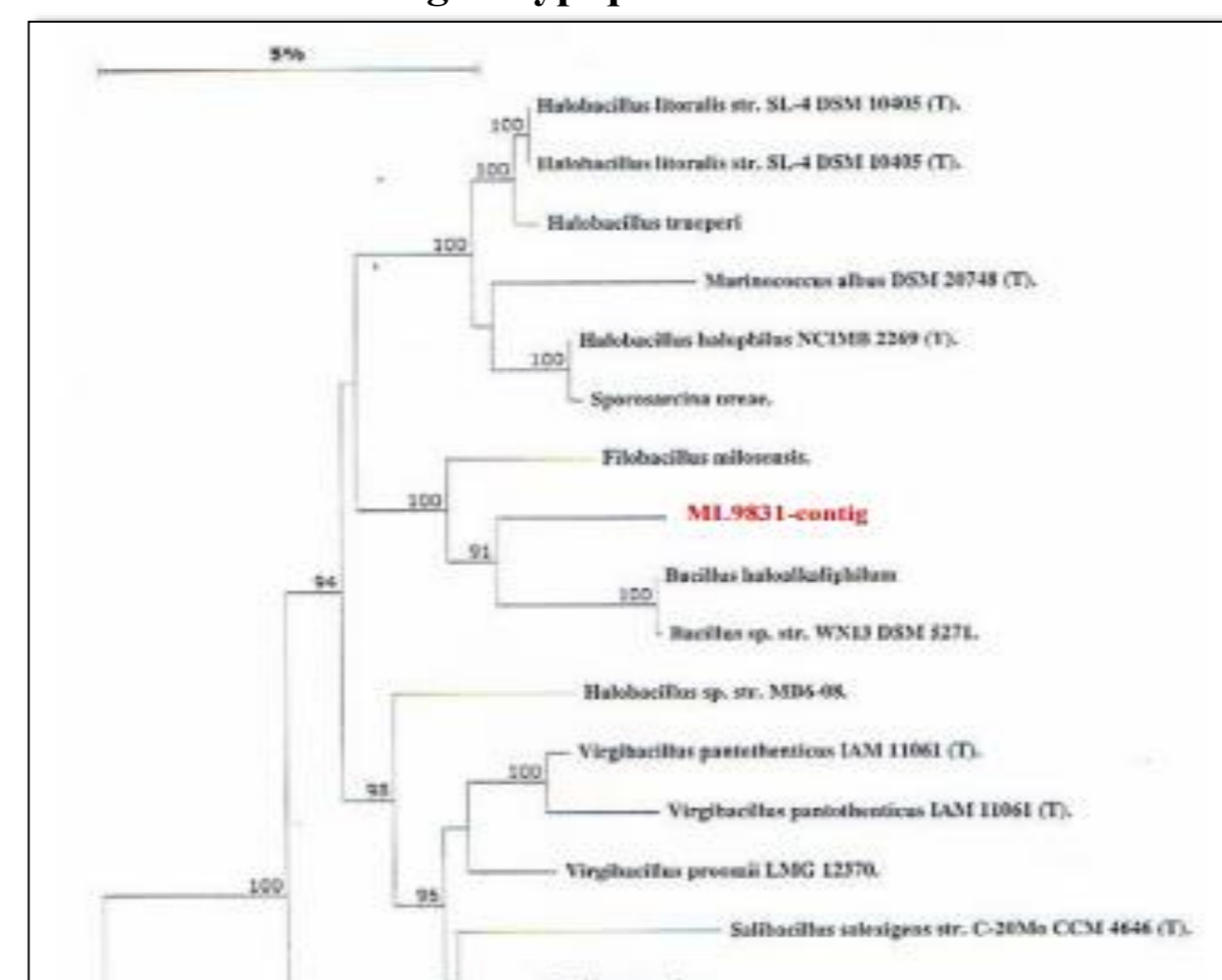


figure 4: Position phylogénique de la souche ML9831 au sein de l'ordre des Bacillales

### 2/ Résultats de la recherche des activités antimicrobiennes de la souche ML9831

Tableau 3: Résultats de l'activité antibactérienne avec les différents solvants

Test microorganisms	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)			
	méthanol	Acétate d'éthyl	Chloroforme	éther
<i>Enterococcus faecalis</i>	/	10	11	/
<i>E. coli</i>	/	9	11	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	/	9	10	/
<i>Acinetobacter baumannii</i>	/	/	9	/
<i>Salmonella enteritidis</i>	/	9	9	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.5	10	12	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.5	9	11.5	/
<i>Bacillus cereus</i>	/	12	10	/
<i>Bacillus subtilis</i>	/	9	12	/

Tableau 4: Résultats de la CCM et la révélation chromogénique

Révélateurs	Systèmes du solvants		
	C.M	AE.M	C.M.A
Ninhydrine	-	-	0.91
Aspect des spots	Tache brune à l'œil nu et rose après révélation		
Révélateur de Mollish	-	-	-
Aspect des spots	Tache brune à l'œil nu et marron foncé après révélation		
FeCl3	-	-	0.91

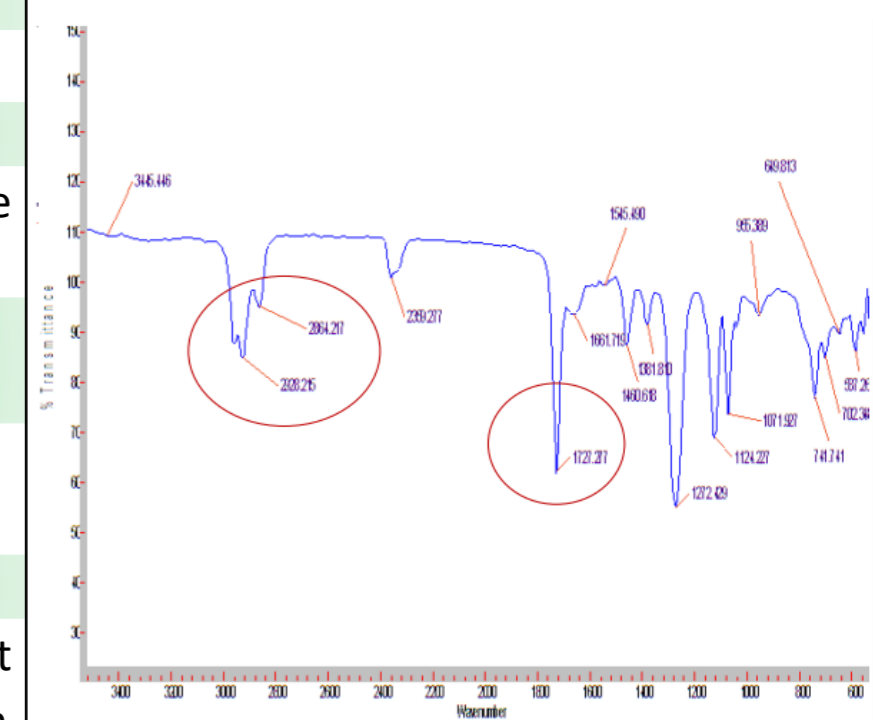


figure 5: Spectre infra-rouge de l'extrait chloroformique déshydraté de la ML9831

## Conclusion

Les lacs hypersalins constituent un exemple typique d'environnements extrême abritant des microorganismes résistants aux fortes salinités leurs conférant ainsi des caractéristiques étonnantes révélant un véritable atout biotechnologique. Cette étude n'est qu'un tout premier essai de pré-caractérisation des composés antimicrobiens issus de bactéries halotolérantes provenant de ces milieux. Cette contribution à l'étude du potentiel biotechnologique de cette souche peut être complétée par des études supplémentaires et nécessaires afin d'identifier ces composants. Par conséquent, ce travail ouvre des perspectives diverses.

## Références bibliographiques

- [1] D'Alessandro C.P., De Castro R.E., Giménez M.I. and Paggi R.A., 2006. Effect of nutritional conditions on extracellular protease production by the haloalkaliphilic archaeon *Natrialba magadii*. *Letters in Applied Microbiology* ; 44: 637-642.
- [2] Sabaou N., Amir H. et Bounaga D., 1980. Le palmier dattier et la fusariose. X. Dénombrement des actinomycètes de la rhizosphère ; leur antagonisme vis à vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albiedinis*. *Annual Review of Phytopathology*; 12: 253-257.
- [3] Khelil Klouche N., 1998. Etude des antibiotiques biosynthésés par des bactéries filamenteuses extrêmophiles, notamment *Metallogenium* sp. Thèse de magister, Université de Tlemcen, Algérie