

République Algérienne Démocratique et Populaire

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA-BEJAIA**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité : Biotechnologie microbienne



Réf :

**Mémoire de fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme
Master
Thème**

**Isolement et criblage de souches
d'actinobactéries et évaluation de leur
potentiel de dégradation des antibiotiques**

Présenté par :

Djebar Nabila et Djermoune Mehdi

Soutenu le 26-06-2023

Devant le jury composé de :

M ^{me} Djinni Ibtissam	Promotrice
M ^r Nouri Hamid	Président
M ^{me} Souagui Samiha	Examinatrice

Année universitaire : 2022/2023

Nos sincères remerciements s'adressent, d'abord, à notre promotrice,

M^{me} Djinni Ibtissam

Nous voudrions présenter nos vifs remerciements pour sa disponibilité, son encadrement efficace, ses remarques et ses conseils précieux, sa compréhension, pour la confiance qu'elle nous a toujours témoignée et pour sa grande gentillesse.

Nous tenons à remercier l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail, à l'éclairage de leur expertise.

*Nous exprimons notre sincère reconnaissance à **Monsieur Nouri Hamid**, Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de jury.*

*Nous exprimons également nos sincères remerciements à **M^{me} Souagui Samiha**, pour avoir accepté d'examiner ce travail..*

Sans oublier de remercier

Les doctorantes Hanane Belabbas, Wissam Reti, Sara Haddad et Sarah Balit pour nous avoir aidé et conseillé dans notre travail.

Dédicace

Je dédie ce travail.

A la mémoire de mon très cher père

*à qui je dois ce que je suis devenue aujourd'hui, qui m'a toujours poussé et soutenu
dans ma vie*

A ma mère,

Pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices

A mes frères, pour m'avoir guidée depuis mon enfance.

A mes sœurs, qui ont toujours été à mes côtés.

A mes meilleures amies, Thiziri et Mélissa.

*« Il n'y a rien de plus précieux que de voir la fierté dans les
yeux des gens qu'on aime »*

Nabila_ CéLia

Dédicace

J'ai l'honneur et le plaisir de dédier ce modeste travail de fin de cycle à mes parents qui ont été d'un grand soutien tout au long de mes études particulièrement à ma mère qui a toujours veillé à ce que je réussisse du premier jour il y a de cela bientôt 18 ans jusqu'à aujourd'hui

Je dédie ce travail à ma binôme Celia qui a fait preuve de patience et de dévouement tout au long de ce modeste projet

Je dédie également ce travail à mes amis notamment Ferhat Lamine Amine et Walid avec qui j'ai passé des moments inoubliables et à qui je souhaite une grande réussite

Mehdi

Liste des abréviations	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Chapitre I. Revue bibliographique	
I. Les antibiotiques	
1. Définition et généralités.	3
2. Principales classes d'antibiotiques et leur mode d'action.	3
3. Le céfotaxime.	5
3.1. Généralités.	5
3.2. Mode d'action.	6
4. Problématique environnementale des antibiotiques.	7
4.1. Risque sur l'environnement.	8
4.2. Impact sur les écosystèmes aquatiques et terrestre.	8
4.3. Risque pour l'homme.	8
II. Les actinobactéries	
1. Définition et caractéristiques	9
2. Écologie et distribution dans la nature	9
3. Les principaux genres	9
4. Importance des actinobactéries dans la production de substances bioactives	10
4.1. Les antibiotiques	10
4.2. Les enzymes	10
III. Bioremédiation et bioaugmentation	
1. La bioremédiation	11
2. La bioaugmentation	11
3. Mécanismes de dégradation du céfotaxime par les actinobactéries	12
Chapitre II. Matériels et méthodes	
I. matériels	14
II. méthodes	14
1 isolement et criblage de souches d'actinobactérie dégradant le céfotaxime	14
1.1 Site de prélèvement des échantillons	14
1.2 Enrichissement des échantillons	14
1.3 Isolement de souches d'actinobactéries	15
1.4. Purification des souches.	15
2. Etude de la sensibilité au céfotaxime.	15
3. mise en évidence de la concentration minimale inhibitrice des souches isolées et sélection de la souche performante.	15

4. Etude des caractères morphologiques de la souche sélectionnée	16
4.1 Caractères macromorphologiques	16
4.2. Caractères micromorphologiques	16
5. Mise en évidence des activités enzymatiques	16
5.1. Activité cellulasique	16
5.2 Activité lipasique	17
6. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne	17
6.1. Standardisation de l'inoculum	17
6.2. Test des cylindres d'agar	18
7. Etude de la croissance de l'isolat sélectionné sur milieu liquide	18
7.1. Evaluation du poids sec et du pH	18
8. Etude de la dégradation du céfotaxime par l'isolat sélectionné	18
Chapitre III. Résultats et Discussion	
1. Isolement et criblage de souches d'actinobactéries dégradant la céfotaxime	20
2. Etude de la sensibilité des souches au céfotaxime	22
3. Mise en évidence de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des souches isolées et sélection de la souche performante.	24
4. Etude des caractères morphologiques de la souche sélectionnée OSMC130	25
4.1. Caractères macromorphologiques.	25
4.2. Caractères micromorphologiques.	26
5. Mise en évidence de l'activité enzymatique.	27
5.1. Activité cellulasique.	27
5.2. Activité lipasique.	27
6. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne.	28
7. Etude de la croissance de OSMC130 sur milieu liquide	31
8. Etude de la dégradation du céfotaxime par la souche OSMC130.	32
Conclusion et perspectives	35
Références bibliographiques	
Annexes	

MSM : Mineral Salts Medium.

CTX : Céfotaxime.

DO : Densité Optique.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistante à la Méricilline.

ISP : International *Streptomyces* Project.

PBP : Penicillin Binding Proteins.

CMC : Carboxyméthylcellulose.

CLHP : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

MH : Muller-Hinton.

ATCC : American Type Culture Collection.

MS : Mycélium du Substrat.

MA : Mycélium Aérien.

Numéro	Titre de la figure	Page
Figure 1	Les principales cibles bactériennes des antibiotiques et les mécanismes majeurs de résistance bactérienne aux antibiotiques.	4
Figure 2	Structure moléculaire du céfotaxime (C ₁₆ H ₁₇ N ₅ O ₇ S ₂) ; masse molaire : 445,46 g/mole.	6
Figure 3	Mode d'action des bêta-lactamines.	7
Figure 4	L'inactivation de beta-lactame par une bêta-lactamase.	13
Figure 5	Photographies du site de prélèvement des échantillons de sédiments de l'oued Soummam.	14
Figure 6	Photographies des colonies d'actinobactéries apparues après incubation à 28C.	20
Figure 7	Variation du nombre de colonies d'actinobactéries isolées sur milieu MSM additionné de 50mg/L de céfotaxime en fonction du temps d'incubation.	21
Figure 8	Distribution des colonies d'actinobactéries isolées sur milieu MSM additionné de 50 mg/L de céfotaxime en fonction des couleurs des mycélia aériens.	21
Figure 9	Photographies du test de sensibilité au céfotaxime (30µg) de certaines souches d'actinobactéries isolées OSMC (95, 140, 142, 149, 150, 151) après incubation à 28	24
Figure10	Photographie des résultats de la CMI des quatre souches résistantes OSMC (105,130,148,161) sur le milieu MSM additionné de 225µg/ml de céfotaxime après 7 jours d'incubation à 28°C.	25
Figure 11	Macromorphologie de la souche OSMC130 cultivée pendant 14 jours à 28°C sur milieux ISP 3 et ISP 4.	26
Figure 12	Observation microscopique de la souche 130 cultivée pendant 21 jours à 28°C, vu au microscope optique : des filaments du mycélium aérien et chaînes de spores. Gr x400.	26
Figure 13	Schéma représentatif d'un mycélium aérien de type RF	26
Figure 14	Photographie sur la mise en évidence de l'activité cellulolique de la souche OSMC 130 sur la gélose CMC.	27
Figure 15	Photographie présentant le résultat positif de l'activité lipasique de la souche OSMC 130 étudiée sur la gélose nutritive (GN) additionnée de l'huile d'olive.	28
Figure 16	Evaluation de l'activité antibactérienne de l'isolat S130 par la méthode des cylindres d'agar à l'encontre de bactéries à Gram positif et négatif.	29

Figure 17	Photographies des résultats des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de la souche OSMC 130 vis-à-vis de 11 souches bactériennes, une levure et quelques moisissures obtenus après incubation 24H à 37°C, par la méthode des cylindres d'agar.	30
Figure 18	Effet des différentes concentrations de céfotaxime sur la croissance et le pH de la culture de la souche S130 cultivée sur milieu MSM à 28°C pendant 7 jours.	31
Figure 19	Variation du pourcentage de dégradation du céfotaxime par la souche S130 en fonction du temps.	33
Figure 20	Variation de l'absorbance du surnagent de culture de la souche S130 en fonction du temps.	34
Figure 21	Evaluation de la biomasse et de la valeur du pH du surnagent de culture de la souche S130 en fonction du temps, dans le milieu MSM additionné de 50mg/L de céfotaxime.	34

Numéro	Titre du tableau	Page
Tableau. I	Principales classes d'antibiotiques, leur sources et mode d'action.	4
Tableau. II	Les infections bactériennes traitées par le céfotaxime	6
Tableau. III	Les principaux genres d'actinobactéries et leurs habitats.	10
Tableau. IV	Germes cibles utilisés dans le test de l'activité antimicrobienne de la souche OSMC 130.	17
Tableau. V	Les valeurs de différentes concentrations minimales inhibitrices de 22 souches vis-à-vis du céfotaxime.	23

Introduction

Depuis la découverte de la pénicilline en 1928, un nombre croissant d'antibiotiques ont été introduits pour traiter les infections bactériennes ou fongiques chez les humains et les animaux (**Kümmerer, 2009**).

Ces dernières années, les antibiotiques et les céphalosporines en particulier ont été fréquemment détectées dans différents contextes environnementaux tels que le lait bovin (**Baeza et al., 2016**), les stations d'épuration des eaux usées (SEE) (**Xu et al., 2007**), ainsi que les eaux de surface et les sédiments (**Song et al., 2016**) car une quantité importante de ces composés ne peut pas être éliminés des eaux usées en raison de l'efficacité d'élimination limitée des procédés classiques de traitement des eaux usées (**Liu et al., 2020**). De plus, les résidus d'antibiotiques et leurs métabolites réactifs dans l'environnement peuvent avoir des effets néfastes sur les organismes non ciblés, contaminer les aliments et l'eau potable, augmenter la résistance bactérienne, et favoriser la propagation des gènes de résistance aux antibiotiques (**Kong et al., 2019**).

En effet la fréquence de cette résistance est en croissance continue menant parfois à un blocage thérapeutique (**Motachakir et al., 2015**). Par conséquent, il est urgent de trouver une méthode rentable pour traiter les résidus d'antibiotiques dans l'environnement.

Les méthodes courantes de traitement des résidus d'antibiotiques comprennent l'oxydation avancée, la phototransformation, l'électrolyse et l'adsorption (**Kong et al., 2019**). Les méthodes traditionnelles de traitement des résidus d'antibiotiques présentent généralement les inconvénients d'une faible efficacité, d'une forte toxicité, d'un coût élevé et d'une élimination incomplète (**Yang et al., 2021**).

Ainsi, certains chercheurs ont utilisé des traitements biologiques pour traiter les résidus de céphalosporines tels que la levure *Ustilago* sp. SMN03 isolée des eaux usées de l'industrie pharmaceutique (**Selvi et al., 2014**) et les souches probiotiques telles que *Bacillus clausii* (**Kong et al., 2019**) ainsi que des actinobactéries en raison de leur riche métabolisme (**Djinni et al., 2019**). L'un des avantages d'appliquer ces souches dans la bioremédiation de sites contaminés est qu'elles sont sûres et non pathogènes pour l'homme. Elles constituent, de part, le développement du mycélium et la colonisation relativement rapide de substrats sélectionnés, leur capacité en tant qu'excellents agents de bioremédiation (**Jain et al., 2021**).

Par conséquent, le but principal de cette étude était d'isoler de nouvelles souches d'actinobactéries à partir des sédiments de Oued Soummam (Bejaia) suite au fait qu'il représente le lieu de déversement de plusieurs rejets des usines et des établissements de santé et ce en utilisant le céfotaxime comme seule source de carbone.

le cefotaxime a été choisie car c'est un antibiotique de la famille des beta lactamine soit la famille la plus utilisée et la plus susceptible d'être retrouvée dans la nature la sélection de la souche la plus performante pour ainsi évaluer son potentiel de dégradation de ce polluant émergent en fonction du temps

Notre travail s'organise autour de trois chapitres : Le premier chapitre fait état des connaissances existantes sur les antibiotiques, les actinobactéries et la bioremediation.

Le deuxième chapitre expose l'ensemble des méthodes expérimentales mises en œuvre pour l'isolement, le criblage et la sélection de souches d'actinobactéries, l'étude morphologique et antagoniste de la souche performante sélectionnée ainsi que la mise en évidence du potentiel de dégradation de l'antibiotique. Le troisième et dernier chapitre rapporte et discute les résultats obtenus au cours de cette étude, enfin la conclusion revient sur les expériences réalisées et leurs résultats et donne des perspectives pour la suite de l'étude

Premier Chapitre

Revue

Bibliographique

I. Les antibiotiques

1. Définition et généralités

Les antibiotiques ont été définis par Selman Waksman en 1947 comme « une substance chimique, produite par des micro-organismes, qui a la capacité d'inhiber la croissance et même de détruire des bactéries et d'autres micro-organismes » pour l'inhibition on parlera d'effet bactériostatique et pour la destruction on parlera d'effet bactéricide. Depuis lors, la définition a subi de nombreuses modifications. Aujourd'hui, le terme antibiotique fait généralement référence à des agents thérapeutiques antimicrobiens, qui peuvent être des composés naturels obtenus à partir de micro-organismes, des éléments semi-synthétiques qui sont des produits naturels structurellement modifiés ou bien des substances entièrement synthétiques (**Baranova et al., 2023**).

La découverte des agents antimicrobiens représente l'un des accomplissements remarquables de la science contemporaine, ayant apporté des bénéfices significatifs aux soins de santé à travers le monde (**Thakare et al., 2020**). En plus du traitement des maladies infectieuses, les antimicrobiens ont rendu possibles de nombreuses procédures médicales moderne, notamment le traitement du cancer, les greffes d'organes et la chirurgie à cœur ouvert (**Hutchings et al., 2019**). De plus, les antibiotiques ont permis l'amélioration de la nutrition, d'eau potable, de l'assainissement et de la vaccination (**Browne et al., 2021**), stimuler la croissance du bétail, de la volaille et des poissons (**Kulik et al., 2023**).

2. Principales classes d'antibiotiques et leur mode d'action

La pénicilline est le premier antibiotique naturel, isolé à partir de *Penicillium notatum* par Alexander Fleming en 1928. Elle est la première à avoir été introduite dans la pratique clinique en 1941. La plupart des antibiotiques en usage aujourd'hui ont été découverts et mis sur le marché avant 1987 appelé l'âge d'or des antibiotiques (**Hasan et al., 2021**). Ces dernières années, plusieurs molécules antibiotiques ont été mises au point grâce à l'amélioration des antibiotiques traditionnels et à la découverte de composés dotés de nouveaux mécanismes d'action (**Shi et al., 2023**) ; tels que les lipoglycopeptides naturels produits par *Streptomyces* sp, nommés gausemycines A et B (**Tyurin et al., 2021**). Les antibiotiques qu'ils soient d'origine biologique, synthétique ou semi synthétique appartiennent à différentes classes de produits chimiques, possèdent des modes d'actions sélectifs (**Tableau I**) (**Hasan et al., 2021**).

En effet, les antibactériens agissent sur différentes parties des bactéries, ciblant un large éventail de composants cellulaires, notamment le matériel génétique, les protéines, la membrane cytoplasmique et d'autres composants de la paroi cellulaire (**Figure 1**) (**Koch et al., 2021**). Et pour se défendre ces bactéries utilisent plusieurs stratégies et mécanismes de résistances (**Figure1**).

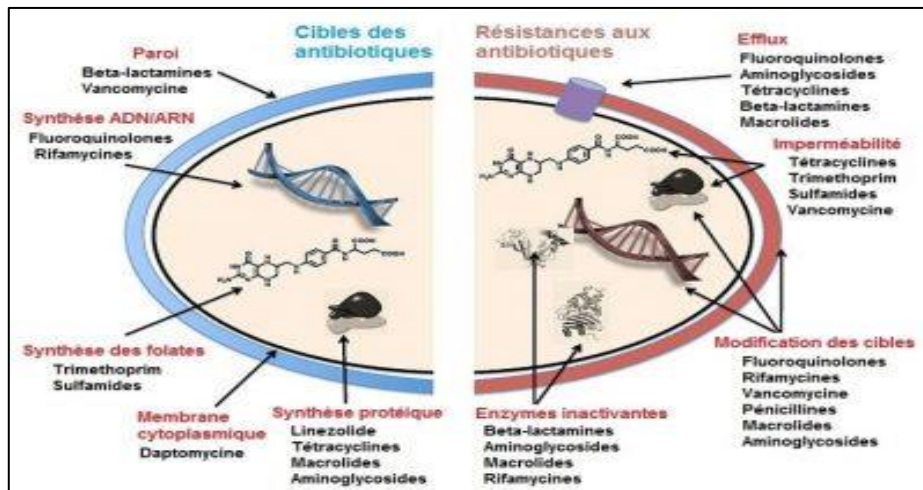


Figure 1. Les principales cibles bactériennes des antibiotiques et les mécanismes majeurs de résistance bactérienne aux antibiotiques (**Maurin, 2018**)

D’après **Hutchings et al., (2019)**, les actinobactéries filamenteuses produisent 64% des classes d’antibiotiques naturels, le reste étant produit par d’autres bactéries et champignons.

Tableau I : Principales classes d’antibiotiques, leur sources et mode d’action (**Hutchings et al., 2019 ; Hasan, 2021**).

Classe d’antibiotique	Antibiotique	Mode d’action
Antibiotiques produit par des actinobactéries		
Aminoglycosides	Kanamycine A (<i>Streptomyces kanamyceticus</i>).	Liaison avec la sous-unité ribosomique 30S entraînant une mauvaise lecture du code génétique suivie d’une interruption de la traduction microbienne
Tétracyclines	Tetracycline (<i>Streptomyces aureofaciens</i>).	Inhibe de manière réversible la sous-unité ribosomique 30S des bactéries
Macrolides	Erythromycine (<i>Saccharopolyspora erythrea</i>).	Inhibe de manière réversible la sous-unité ribosomique 50S des bactéries
Lincosamides	Clindamycine dérivé semi-synthétique de la lincomycine (<i>Streptomyces lincolnensis</i>)	Inhibe de manière réversible la sous-unité ribosomique 50S des bactéries
Streptogamines	Pristinamycine (<i>Streptomyces Pristinaespiralis</i>)	Inhibe de manière réversible la sous-unité ribosomique 50S

Carbapénèmes	Méropénam : molécule synthétique à base de thiénamycine (<i>Streptomyces cattleya</i>)	La liaison avec les protéines de liaison à la pénicilline et l'inactivation de ces protéines entraînent une interruption de la synthèse de la paroi cellulaire
Antibiotiques produit par d'autres bactéries		
Polymixines	Colistine (<i>Paenibacillus polymixa</i>).	Se lie au lipide A du LPS et interfère avec la perméabilité de la membrane externe
Monobactames	Aztréonam : Molécule synthétique à base d'un antibiotique monobactame naturel : SQ 26 180 (<i>Chromobactérium violaceum</i>).	Ils agissent par liaison aux PBP (Penicillin-binding proteins) des bactéries et inhibent la synthèse de la paroi bactérienne
Antibiotiques produit par des champignons		
Pénicillines	Amoxicilline : dérivé semi-synthétique de la pénicilline (<i>Penicillium chrysogenum</i>)	Inhibent de manière compétitive l'enzyme transpeptidase entraînant un blocage de la réticulation dans la paroi cellulaire
Céphalosporines	Céfacétrile : dérivé semi-synthétique de la céphalosporine C (<i>Acremonium chrysogenum</i>)	Inhibent de manière compétitive l'enzyme transpeptidase entraînant un blocage de la synthèse de la paroi cellulaire
Antibiotiques synthétiques		
Sulfamides	Mafénide	Inhibition compétitive de la synthèse des bases de l'ADN. Ils inhibent la synthèse des folates par l'action des inhibiteurs compétitifs de la dihydroptéroate synthétase
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	Inhibent la gyrase de l'ADN bactérien ou la topoisomérase IV, entraînant l'inhibition de la répllication et la transcription de l'ADN
Oxazolidinones	Linézolide	Inhibent de manière réversible la sous-unité ribosomique 50S des bactéries

3. Le céfotaxime

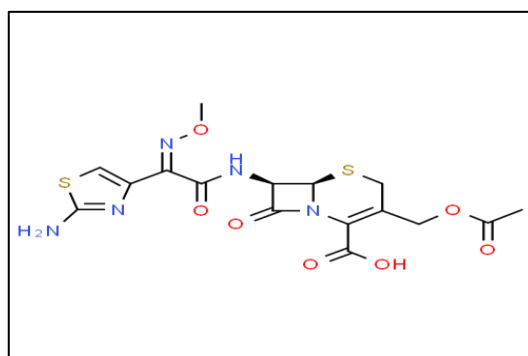
3.1. Généralités

Le céfotaxime est un antibiotique de la famille des céphalosporines de troisième génération (**Figure 2**). Il appartient à la classe des bêta-lactamines, qui agissent en perturbant la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries. Cette perturbation entraîne la destruction de la paroi, ce qui conduit à la mort des bactéries. Le céfotaxime est largement utilisé dans le domaine médical pour traiter les infections bactériennes. Il est particulièrement efficace contre un large éventail de micro-organismes, notamment les bactéries à Gram positif et négatif. Ces bactéries incluent des souches résistantes à d'autres antibiotiques, ce qui fait du céfotaxime un choix précieux dans le traitement des infections graves et des cas où les options thérapeutiques sont limitées (**Zakaria et al., 2016**).

Le céfotaxime est utilisé pour traiter diverses infections bactériennes (**Tableau II**).

Tableau II : Les infections bactériennes traitées par le céfotaxime (Husain *et al.*, 2010).

Infections traitées	Exemple (s)
Des voies respiratoires	Pneumonie, bronchite, sinusite, infection de l'oreille moyenne.
Urinaire	Cystite, repcystite, pyélonéphrite (infection rénale), urétrite.
De la peau et des tissus mous	Cellulite, infections des plaies, abcès.
Intra-abdominale	Péritonite, infections de la vésicule biliaire.
gynécologique	Infection du col de l'utérus, infection post-partum.
Du système nerveux central	Méningite.
Osseuse et articulaire	Ostéomyélite, arthrite septique.
Du sang	Septicémie.

**Figure 2.** Structure moléculaire du céfotaxime (C₁₆H₁₇N₅O₇S₂) ; masse molaire : 445,46 g/mole (Al-Hakkani, 2022).

3.2. Mode d'action

Le céfotaxime possède un large spectre d'activité contre les bactéries à Gram positif et négatif et son activité est supérieure à celle des céphalosporines de première et deuxième génération, en particulier contre les bactéries à Gram négatif (Al-hakkani, 2022).

En effet, son mécanisme d'action est fondé sur sa liaison aux enzymes participant à la synthèse de la paroi bactérienne, les PLP (Protéines liant la Pénicilline). La conséquence de cette interaction moléculaire est l'inhibition de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane

Composant essentiel de la paroi bactérienne. Ainsi, les transpeptidases bactériennes, PLP intervenant dans la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, vont reconnaître le cycle

bêta-lactame du fait de son analogie structurale avec leur substrat naturel. En effet, les bêta-lactamines sont des analogues structuraux du substrat naturel dipeptidique D-ala D-ala qui termine les chaînes polypeptidiques des précurseurs du peptidoglycane et vont donc se lier avec les enzymes responsables de la réticulation du peptidoglycane : les transpeptidases intervenant au moment de l'élongation (assemblage des chaînes peptidiques par formation de ponts interpeptidiques). Ainsi, en conséquence de cette fixation, la réaction de transpeptidation est inhibée, la synthèse du peptidoglycane bloquée provoquant la lyse cellulaire (**Figure 3**) (Chemelle, 2010).

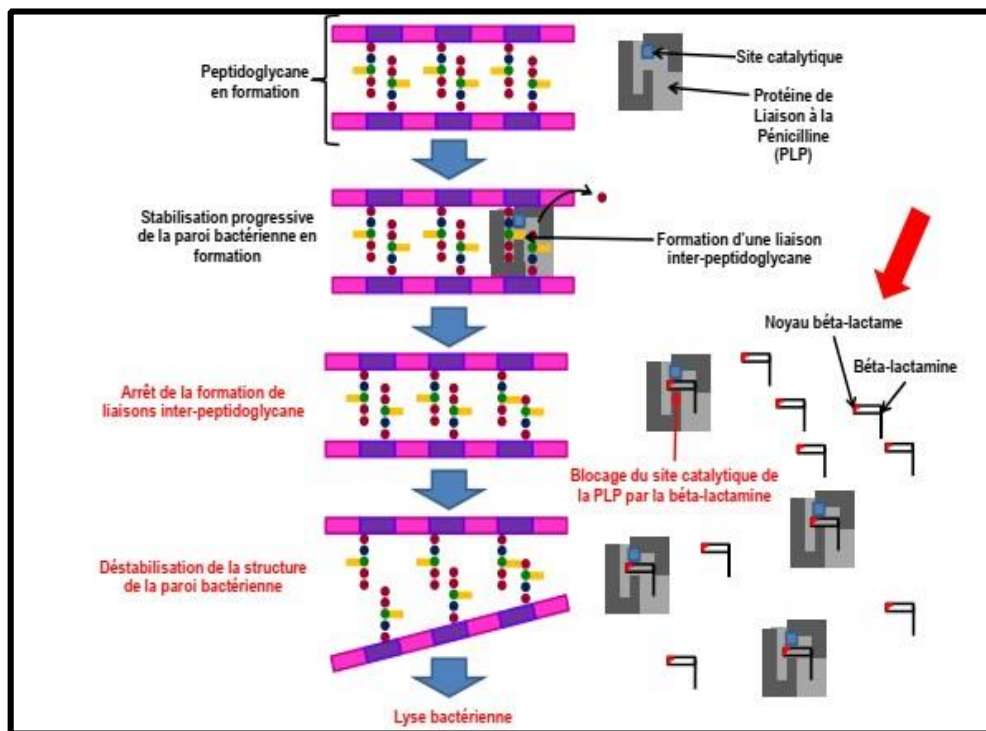


Figure 3. Mode d'action des bêta-lactamines (Kohanski *et al.*, 2007).

4. Problématique environnementale des antibiotiques

L'utilisation généralisée des antibiotiques en médecine humaine, vétérinaire et en agriculture est liée à la contamination de divers environnements les eaux de surface, les eaux souterraines, les eaux usées, l'eau potable, le sol, les légumes et les boues (Polianciuc *et al.*, 2020). Leur présence dans l'environnement est due principalement à l'utilisation inappropriée et excessive de ces molécules (Chin *et al.*, 2022). Klein *et al.* (2018) ont rapporté que la consommation mondiale d'antibiotiques a augmentée de 65% au cours de la période 2000-2015. De plus, la plupart des antibiotiques ingérés par l'organisme sont hydrosolubles et difficilement absorbés par l'intestin ; 30 à 90 % sont généralement rejetés sous forme de déchets métaboliques (tels que les matières fécales et l'urine) pour atteindre les stations d'épuration

(Kulik *et al.*, 2023) Ne pouvant pas être éliminés efficacement par ces dernières, ils atteignent l'environnement et les milieux aquatiques par les effluents des stations d'épurations, des fosses septiques, des effluents hospitaliers, des activités d'élevage et du stockage souterrain des déchets ménagers et industriels (Naranjo *et al.*, 2023).

4.1 Risque sur l'environnement

Les antibiotiques présents dans l'eau peuvent pénétrer dans le sol affectant la fonction du biote qui joue un rôle essentiel dans le cycle biogéochimique des éléments (Hernandez *et al.*, 2021). Même en présence de faibles concentrations dans les sols agricoles, les agents antibactériens pourraient entraîner des retards dans la germination des plantes ou réduire leur biomasse, ce qui pourrait avoir des effets néfastes sur le rendement des terres agricoles fertiles contenant du fumier contaminé (Minden *et al.*, 2017).

4.2 Impact sur les écosystèmes aquatique et terrestre

La présence des résidus antibiotiques dans les eaux de surface influencerait la composition et les fonctions des communautés microbiennes. En effet, les antibiotiques dissous dans les eaux de surface atteignent des concentrations sub-inhibitrices qui affectent l'écologie microbienne en augmentant le taux de mutations, en provoquant un transfert horizontal de gènes de résistance aux médicaments et en entraînant la sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques (Kulik, *et al.*, 2023). De plus, l'exposition des poissons à de faibles concentrations d'agents antimicrobiens, peut entraîner des perturbations physiologiques telles que des altérations hématologiques, un stress oxydatif, des lésions histopathologiques, une immunosuppression, des troubles métaboliques, des dommages génotoxiques, et une altération de la reproduction (Bojarski *et al.*, 2020).

4.3 Risque pour l'homme

La résistance aux antimicrobiens (RAM) causée principalement par la présence d'antibiotiques dans l'environnement est une menace omniprésente pour la santé publique. La RAM entraîne des complications dans le traitement des infections, ce qui contribue à une augmentation du taux de mortalité qui peut atteindre 10 millions de personnes en 2050 (Ahmed *et al.*, 2023). De plus, les résidus d'antibiotiques peuvent provoquer des réactions allergiques, telles que les éruptions cutanées, la maladie sérique, la thrombocytopénie, l'érythème polymorphe, l'anémie hémolytique auto-immune, les vascularites et la néphrite tubulo-interstitielle. La plupart des allergies signalées sont liées aux résidus d'antibiotiques bêta-lactamines, en particulier les céphalosporines (Arsène *et al.*, 2022).

II. Les actinobactéries

1. Définition et caractéristiques

Les actinobactéries sont des bactéries à Gram positif ayant un coefficient de Chargaff élevé ($G=C\% \geq 55\%$) (Kämpfer, 2006 ; Nanjwad *et al.*, 2010). La morphologie des différents groupes est variable. En effet, les espèces du genre *Mycobacterium* possèdent une morphologie peu évoluée contrairement aux *Streptomyces* plus évolués par le fait qu'ils possèdent un mycélium végétatif qui pénètre dans la gélose et un mycélium aérien produisant et libérant des spores chez la plupart des espèces (Hasley et Leclerc, 1993 ; Horinouchi, 2002 ; Smaoui, 2010).

Les actinobactéries sont généralement réparties en deux groupes :

Le premier étant les actinobactéries possédant un métabolisme oxydatif que l'on retrouve dans le sol comme le genre *Streptomyces*.

Le second étant les actinobactéries possédant un métabolisme fermentatif que l'on retrouve dans les cavités de l'être humain et des animaux tels que le genre *Bifidobacterium* (Essaid *et al.*, 2015).

2. Écologie et distribution dans la nature

Les actinobactéries sont des microorganismes ubiquitaires que l'on retrouve dans différents milieux comme les sols forestiers, désertiques et polaires, le tube digestif, les sources thermales, les sédiments marins et fluviales (Moncheva *et al.*, 2002 ; Khana *et al.*, 2011 ; Djinni *et al.*, 2019). Elles sont pour la plupart des aérobies mésophiles chimio-hétérotrophes et la majorité des espèces sont saprophyte qui dégradent la matière organique morte. Cependant, il existe également des espèces qui se développent en symbiose avec les plantes ou les animaux tirant profit mutuel les uns des autres (symbiose) (Omura, 1992 ; Ensign *et al.*, 1993 ; Suzuki *et al.*, 1994).

3. Les principaux genres

Le genre le plus fréquemment retrouvé est le genre *Streptomyces*, il représente 80% des actinobactéries isolées du sol (Lacey, 1973 ; Elwan *et al.*, 1985).

Tableau III : Les principaux genres d'actinobactéries et leurs habitat (**Khana et al., 2011**).

Actinobactéries	Habitat
<i>Actinomadura, Actinosynnema, Amycolatopsis, Arthrobacter, Frankia, Geodermatophilus, Micromonospora, Mycobacterium, Nocardioides, Nocardiosis, Pseudonocardia, Rhodococcus, Saccharopolyspora, Salinispora, Streptomyces, Streptosporangium, Tsukamurella, Verrucosipora, Marinispora</i>	Sédiments marins
<i>Actinomadura, Amycolatopsis, Microbispora, Micromonospora, Nocardia,</i>	Sol acide et sol basique
<i>Bifidobacterium, Rhodococcus, Nocardia, Gordonia</i>	Eaux usées
<i>Actinomadura, Micromonospora, Microtetraspora Saccharomonospora, Streptomyces, Thermomonospora</i>	Sources thermales
<i>Actinomadura, Saccharomonospora, Microbispora, Microtetraspora, Nocardia, Nocardiosis, Saccharothrix</i>	Sols désertiques
<i>Arthrobacter, Friedmanniella, Modestobacterium, Nocardia, Nocardiosis, Pseudonocardia, Streptomyces</i>	Echantillon glaciaire
<i>Amycolatopsis, Arsenicococcus, Catellatospora, Frankia</i>	Rhizosphère
<i>Amycolatopsis, Arsenicococcus, Catellatospora, Fodinicola</i>	Sol agricole

4. Importance des actinobactéries dans la production de substances bioactives

Les actinobactéries sont connues comme des producteurs de divers métabolites tels que les antibiotiques, les enzymes, les pesticides, insecticide, antitumoraux immunosupresseurs et immunostimulants (**Chun et al., 1997 ; Sanglier et Trujillo, 1997 ; Moore et al., 1999 ; Petrosyan et al., 2003 ; Djinni et al., 2019**).

4.1. Les antibiotiques

Les actinobactéries sont des organismes remarquables dans la production d'antibiotiques. Plus de 80% des antibiotiques connus sont produits par le genre *Streptomyces* tels que la streptomycine et la nystatine. Par ailleurs, il existe d'autres genres producteurs comme *Nocardia*, *Micromonospora* et *Saccharothrix* dont les métabolites sont très recherchés étant donné que ce sont des genres rares (**Djinni et al., 2019**).

4.2. Les enzymes

Les actinobactéries sont des bactéries saprophytes, jouent un rôle dans la dégradation de la matière organique donc un rôle dans le recyclage des biopolymères complexes comme la cellulose, la lignocellulose, la pectine et le xylane par la production d'enzymes, de ce fait, elles produisent des cellulases, pectinases, chitinases, amylases, xylanases, lipases, protéases Ces enzymes sont souvent utilisées dans les industries agroalimentaires (**Demain et Solomon, 1985 ; Sanglier et al., 1993 ; Mason et al., 2000**).

III. Bioremédiation et bioaugmentation

1. La bioremédiation

La bioremédiation est une méthode basée sur l'utilisation des microorganismes, tels que les bactéries, les champignons ou bien les plantes (phytoremédiation), afin de détruire ou réduire la concentration de déchets dangereux présents dans l'environnement (**Boopathie, 2000**). C'est une approche écologique et durable utilisée pour remédier à la pollution et restaurer les écosystèmes pollués. Elle peut être appliquée à différents types de polluants tels que les hydrocarbures, les métaux lourds, les pesticides, les solvants et les plastiques (**Borthakur et al., 2021**). Elle peut être mise en œuvre dans des environnements variés, tels que les sols contaminés, les eaux souterraines, les lacs, les rivières, les marais et même les sites industriels. L'avantage de la bioremédiation réside dans son approche naturelle et respectueuse de l'environnement, qui peut réduire ou éliminer la nécessité d'utiliser des méthodes plus invasives ou coûteuses telles que l'excavation ou l'incinération des sols contaminés. En effet, elle est classée parmi les innovations biotechnologiques les plus économiques et respectueuses de l'environnement (**Bala et al., 2022**).

2. La bioaugmentation

La bioaugmentation est une technique de bioremédiation qui implique l'ajout délibéré de microorganismes spécifiques, tels que des bactéries ou des champignons, dans un environnement contaminé. Ces microorganismes sont sélectionnés pour leur capacité à dégrader les contaminants présents dans le milieu.

L'objectif de la bioaugmentation est d'augmenter la population de micro-organismes bénéfiques capables de décomposer les polluants spécifiques présents dans le site contaminé. Les micro-organismes ajoutés peuvent être des souches indigènes, c'est-à-dire des micro-organismes déjà présents dans l'environnement, ou des souches exogènes, provenant d'autres sources (**Nzila et al., 2016**). L'ajout de microorganismes bénéfiques peut accélérer la dégradation des contaminants en fournissant des enzymes spécialisées ou des capacités métaboliques spécifiques. Ces micro-organismes peuvent également aider à créer des conditions environnementales favorables à la dégradation des contaminants, tels que l'ajustement du pH ou la stimulation de la croissance des micro-organismes indigènes. L'avantage de la bioaugmentation réside dans sa capacité à cibler des contaminants spécifiques et à accélérer leur dégradation, ce qui peut réduire le temps nécessaire pour la remédiation d'un site contaminé (**Nzila et al., 2016**).

3. Mécanismes de dégradation du céfotaxime par les actinobactéries

Les eaux usées contiennent des composés organiques toxiques, des sels inorganiques et des ingrédients pharmaceutiques actifs (IPA) qui constituent une menace potentielle pour les organismes présents dans l'environnement et le céfotaxime représente un exemple de contaminant émergent (**Das et al., 2019**). De nombreuses études ont rapporté que le céfotaxime pouvait être détecté à une concentration supérieure à 300 mg/L dans les effluents, après le traitement des eaux usées des usines, des drains d'hôpitaux et des installations de traitement des eaux usées. Bien que, la toxicité du céfotaxime dans l'environnement aquatique soit relativement faible, l'augmentation des bactéries résistantes et des gènes de résistance résultant de l'utilisation de cet antibiotique est un problème plus immédiat (**Al hakkani, 2020**). En outre, en raison de sa biodégradabilité, le céfotaxime ne peut être éliminé avec succès par les techniques habituelles de traitement des eaux usées. Il est donc nécessaire de trouver des solutions alternatives innovantes au problème de la contamination par les antibiotiques (**Al hakkani, 2022**). Par conséquent, plusieurs méthodes ont été introduites pour résoudre ce problème environnemental telles que des méthodes chimiques (méthode d'oxydation par oxydant fort et méthode d'oxydation avancée), des méthodes physiques (adsorption, filtration membranaire et traitement par résine ionique) et des méthodes biologiques qui représentent une technologie de traitement biologique artificielle améliorée basée sur l'auto-épuration de l'environnement, qui utilise l'action métabolique des microorganismes pour oxyder et décomposer les polluants organiques dans l'eau et les convertir en substances inorganiques stables et inoffensives (**Huang et al., 2022**).

Les principaux mécanismes d'élimination des antibiotiques par traitement biologique reposent sur deux voies : la biodégradation et la biosorption. Certains antibiotiques peuvent être dégradés sous l'action des enzymes correspondantes sécrétées par la communauté microbienne, afin d'être utilisés comme sources de carbone et substrats énergétiques pour leur croissance. Par conséquent les microorganismes peuvent décomposer et transformer les antibiotiques par eux-mêmes (**Huang et al., 2022**).

La résistance et dégradation des bêta-lactamines est due à la production d'enzymes bêta-lactamases par les bactéries, qui hydrolysent la liaison amide dans le cycle beta lactame (**wilke et al., 2005**).

Le mécanisme de résistance le plus courant aux antibiotiques bêta-lactamines est la production d'enzymes extracellulaires par les bactéries, qui ont la capacité de les hydrolyser. Il s'agit de protéase à sérine actif, qui se lie aux beta-lactames avec plus d'affinité que les PLP, Elles hydrolysent la liaison amide du cycle beta-lactame, pour former une acyl-enzyme, mais

la différence majeure entre les deux types d'enzymes concerne la vitesse avec laquelle l'acyl-enzyme est hydrolysée. En effet, si les PLP ne sont capables d'hydrolyser qu'une beta-lactame par heure, de telle sorte que l'acyl-enzyme apparait dans ce cas comme un intermédiaire stable. Les bêta-lactamases les plus efficaces en hydrolysent 1000 fois par seconde, rendant l'antibiotique totalement inactif (**Figure 4**) et régénérant l'enzyme pour une nouvelle réaction d'hydrolyse (**Chemelle, 2010**).

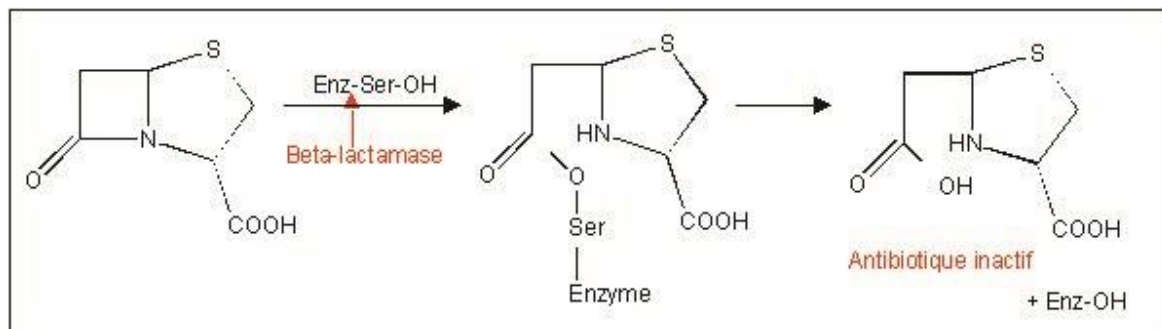


Figure 4. Inactivation de beta-lactame par une bêta-lactamase (**chemelle, 2010**)

Deuxième Chapitre

***Matériels et
Méthodes***

Ce chapitre expose l'ensemble des expériences effectuées dans le laboratoire de Génie Biologique de l'Université Abderrahmane MIRA de Bejaia.

I. Matériels

Le matériel utilisé dans cette étude est rapporté en (**annexe 2**).

II. Méthodes

1. Isolement et criblage de souches d'actinobactéries dégradant la céfotaxime

1.1. Site de prélèvement des échantillons

Le prélèvement de trois échantillons de sédiments a été réalisé le 24 avril 2023. Les échantillons proviennent de la rive de l'oued Soummam qui traverse la ville de Bejaïa. Ce site a été choisi car le cours d'eau en question est sujet à diverses sources de pollutions provenant des rejets des usines et des établissements de santé.

Les prélèvements ont été effectués dans des conditions d'asepsie à l'aide de trois flacons stériles après avoir écarté les premiers centimètres de la couche superficielle puis transportés au laboratoire. Les photographies de la (**figure 5**) Présentent une vue générale du site.



Figure 5. Photographies du site de prélèvement des échantillons de sédiments de l'oued Soummam.

1.2. Enrichissement des échantillons

20 g de sédiments ont été, en premier lieu, placés dans un erlenmeyer de 500mL contenant 200 mL d'un milieu d'enrichissement, qui consiste en un milieu minéral salin (MSM) (**Thiam et al., 2023**), dont la composition est donnée en annexe 1 additionné de 0.8g de glucose et 50mg/L de céfotaxime puis incubé à 28°C pendant 7 jours sous agitation permanente 120 tours/min. Cette solution servira de solution mère pour la suite de l'étude

1.3. Isolement de souches d'actinobactéries

La méthode utilisée est celle des suspensions dilutions qui consiste à prélever et à diluer 1ml de la culture mère dans un tube contenant 9 mL d'eau physiologique stérile. Des dilutions décimales sont ensuite réalisées jusqu'à 10^{-8} . Un volume de 1 mL de suspension est déversé sur les boîtes de Petri à raison de 3 boîtes par dilution. Le milieu utilisé pour l'isolement sélectif des actinobactéries est le milieu minéral additionné de 50 μ g/mL de céfotaxime comme seule source de carbone (Thiam *et al.*, 2023). Les boîtesensemencées sont incubées à 28°C pendant 30 jours et la lecture est réalisée à intervalles réguliers 3j, 7j, 14j, 21j, 30j

1.4. Purification des souches

Les colonies d'actinobactéries sont reconnues d'après leur aspect macroscopique caractéristique. Elles sont alors repiquées etensemencées par la méthode des stries sur des boîtes de pétri contenant le même milieu d'isolement, puis incubées à 28°C jusqu'à obtention de souches pures exemptes de toutes contamination aussi bien bactérienne que fongique puis des noms leur ont été attribués et conservées à 4°C pour une utilisation ultérieure.

2. Etude de la sensibilité au céfotaxime

La résistance ou sensibilité au céfotaxime des isolats obtenus a été testé en ensemencant ces derniers en stries serrées à la surface du milieu Mueller Hinton avant de déposer un disque de céfotaxime (CTX 30 μ g) au centre de la boîte. Parallèlement, une souche d'*Escherichia coli* (ATCC) 25922 a étéensemencée comme témoin positif. Les boîtes ainsi Préparées sont Incubées, à 28°C pendant 7 jours et à 37°C pendant 24h, pour les souches étudiées et *E. coli*, respectivement.

3. Mise en évidence de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des souches isolées et sélection de la souche performante

Dans le but d'évaluer l'effet de différentes concentrations de céfotaxime (0 mg/L, 25mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L et 225 mg/L) sur la croissance des isolats obtenus et de déterminer leurs concentrations minimales inhibitrices, les souches ont étéensemencées sur milieu MSM agar additionné des solutions de céfotaxime, préalablement stérilisées par filtration en utilisant des filtres seringue de 0,22 μ m. Les boîtes sont par la suite incubées à 28°C pendant 7 jours. La CMI est définie comme la plus faible concentration de céfotaxime inhibant la croissance des souches microbiennes.

La souche la plus performante sera sélectionnée sur la base de sa résistance à la plus forte concentration de l'antibiotique.

4. Etude des caractères morphologiques de la souche sélectionnée

4.1. Caractères macromorphologiques

Cette étude consiste à déterminer l'aspect des colonies, la couleur des mycéliums aériens (MA) et du substrat (MS) ainsi que celle des pigments solubles produits, sur différents milieux de culture : ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5 et ISP7 préconisés par « l'International *Streptomyces* Project » (ISP) (Shirling et Gottlieb, 1966), ainsi que sur les milieux MSM et SCA. La composition des milieux est donnée en annexe 1 Les boîtes sont incubées à 28°C et les observations effectuées après 3, 7 et 14 jours.

4.2. Caractères micromorphologiques

Cette étude consiste à voir la sporulation caractéristique de la souche étudiée, ainsi que la fragmentation ou non des hyphes végétatifs et des hyphes aériens. Des observations ont été réalisées directement sur la boîte de Pétri à l'aide d'un microscope optique à deux grossissements (x10 et x40) après 14 jours d'incubation à 28°C sur le milieu ISP3.

5. Mise en évidence des activités enzymatiques

Les actinobactéries sont connues pour leur capacité à produire diverses enzymes d'importance industrielle, telles que les amylases, les protéases, les lipases, les cellulases, les xylanases, les dextranases et les kératinases. Ces enzymes jouent un rôle crucial dans de nombreux processus industriels, tels que la production alimentaire, la transformation des déchets, la fabrication de produits pharmaceutiques et cosmétiques, et bien d'autres encore (Passari *et al.*, 2016 ; Salwan, 2018). Dans le but d'évaluer le potentiel enzymatique de la souche performante, les tests suivants ont été réalisés.

5.1 Activité cellulasique

Les cellulases sont des enzymes inductibles qui sont synthétisées par des microorganismes lors de leur croissance sur des matières cellulosiques (Gaur *et al.*, 2015). L'activité cellulasique a été recherchée sur une gélose carboxy méthyl cellulose (CMC) . Après incubation de la souche pendant 7 jours à 28°C, une solution de rouge de Congo à 0,1 % (Annexe 1) est rajoutée à la surface des boîtes de Petri. Après 30min de réaction à température ambiante, la boîte est lavée 3 fois à l'aide d'une solution de NaCl 1M (Annexe1).

L'activité cellulasique est exprimée par l'apparition d'un halo jaunâtre autour des colonies (Oikawa, 1998 ; Korish, 2003)

5.2 Activité lipasique

Le milieu gélose nutritive additionné d'huile d'olive a été utilisé pour la mise en évidence de l'activité lipasique. La boîte est incubée à 28°C pendant 7 jours.

Le résultat de l'activité lipasique est visible directement sur la boîte par l'apparition d'une zone opaque autour des colonies.

6. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne

L'activité antagoniste de la souche sélectionnée a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar à l'encontre de bactéries pathogènes aussi bien Gram positif que Gram négatif, une levure et des moisissures. Le tableau ci-dessous rapporte l'ensemble des germes étudiés.

Tableau IV : Germes cibles utilisés pour la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de l'isolat sélectionné.

Bactéries	Moisissures
<i>Escherichia coli</i> ST131(141)	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Botrytis cinerea</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthiciline (SARM) ATCC 43400	<i>Penicillium</i> sp.
<i>Vibrio cholerae</i> ATCC 14035	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
<i>Salmonella Typhi</i> ATCC 14028	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	
<i>Listeria innocua</i> IP	
<i>Bacillus subtilis</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	

6.1. Standardisation de l'inoculum

Des cultures bactériennes âgées de 24h sontensemencées sur gélose nutritive ainsi que des cultures fongiques âgées de 48h sur milieu Sabouraud ont été utilisées.

Des suspensions de densités optiques allant de 0,08 à 0.1 sont préparées dans des tubes contenant 10mL d'eau physiologique stérile. La charge cellulaire est représentative d'une concentration de 10⁷ UFC/mL. Après agitation rigoureuse au vortex, la suspension a étéensemencée par écouvillonnage sur le milieu Mueller-Hinton pour les bactéries et sabouraud pour les moisissures.

6.2. Test des cylindres d'agar

La souche étudiée est ensemencée en stries serrées sur le milieu MSM additionné de 50mg/L de céfotaxime et incubée à 28°C pendant 7 jours. Des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre sont ensuite prélevés stérilement à l'aide d'un emporte-pièce et déposés à la surface des milieux Mueller Hinton et sabouraud préalablement ensemencé par écouvillonnage avec les germes cibles. Les boîtes portant les cylindres d'agar sont placées à 4°C pendant 2 heures pour permettre une bonne diffusion de(s) substance(s) bioactive(s) éventuellement produite(s) tout en inhibant momentanément la croissance des microorganismes cibles, puis incubées à 37°C pendant 24 heures pour les germes bactériens et à 28°C pendant 48 heures pour les moisissures. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et exprimées en millimètre.

7. Etude de la croissance de l'isolat sélectionné sur milieu liquide

Dans le but d'évaluer l'effet de différentes concentrations de céfotaxime sur la croissance de la souche sélectionnée, des erlenmeyers de 250 mL contenant 100 mL de milieux minéral additionnés de concentrations croissantes de céfotaxime, allant de 25 mg/L à 150mg/L, sont préparés puis inoculés avec cinq cylindres d'agar de la souche, préalablement ensemencée sur MSM agar additionné de cefotaxime pendant 7 jours à 28°C.

7.1. Evaluation du poids sec et du pH

La croissance est estimée à travers l'évaluation de la biomasse mycélienne exprimée en mg/L du poids sec.

En effet, après 7 jours d'incubation, les cultures ont fait objet d'une centrifugation à 4000g/15 min afin de séparer la biomasse du surnageant. Le poids humide de la biomasse est mesuré à l'aide d'une balance puis déposé dans une étuve afin d'obtenir un poids sec. La lecture du poids sec est prise après sa stabilisation. Parallèlement à cela, le surnageant de culture est utilisé pour la mesure du pH des cultures.

8. Etude de la dégradation du céfotaxime par l'isolat sélectionné

Afin d'évaluer le rendement de dégradation du céfotaxime par l'isolat sélectionné, des erlenmeyers de 250mL contenant 100 mL de milieu MSM additionné de 50 mg/L de l'antibiotique puis inoculés de 5 cylindres d'agar de la souche préalablement ensemencée sur milieu MSM agar additionné de 50mg/L de céfotaxime et mis à incuber à 28°C pendant 7 jours, sont préparés. Les cultures sont incubées à 28°C pendant 12 jours sous agitation permanente 120 tours /min.

Au cours de l'incubation, la dégradation du céfotaxime a été estimée par mesure de la DO à 237 nm pendant six temps différents 2j, 4j, 6j, 8j, 10j, 12j, en utilisant la courbe d'étalonnage (**annexe 4**) et en appliquant la relation suivante :

$$\text{Dégradation du céfotaxime}\% = (C_0 - C_1 / C_0) \times 100$$

Des témoins positif et négatif, qui consistent en le milieu MSM + la souche et MSM + céfotaxime, ont été également préparés.

Parallèlement, la biomasse ainsi que le pH du milieu ont été estimé à chaque intervalle de temps.

Troisième Chapitre

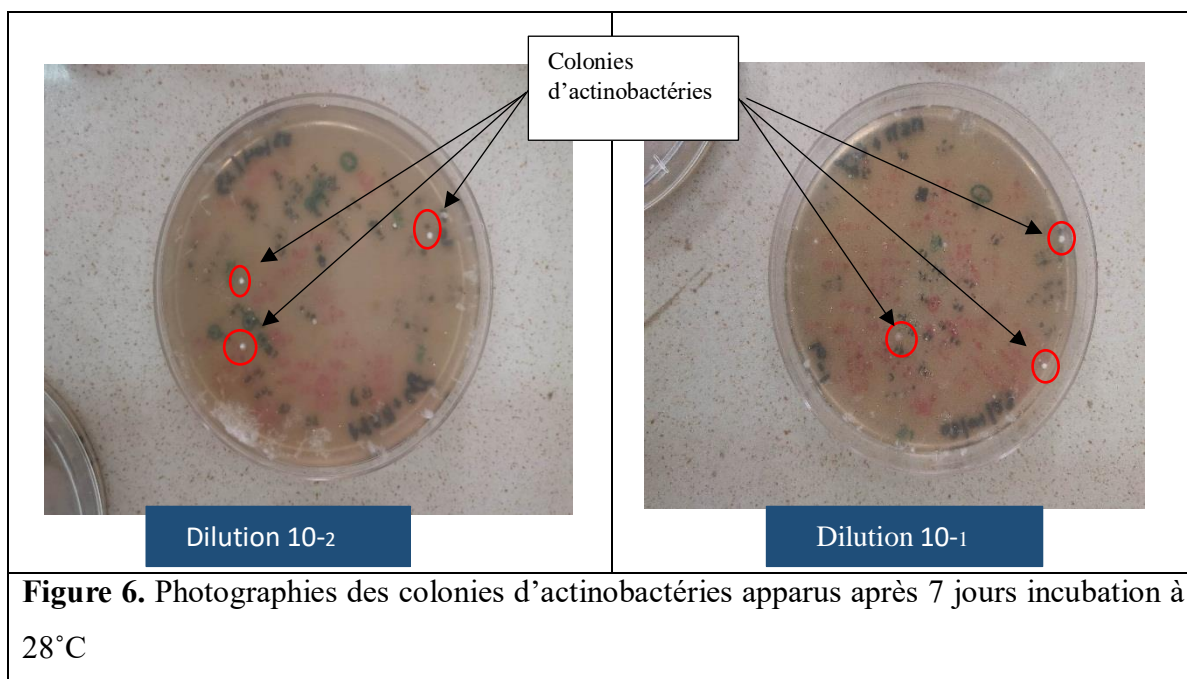
***Résultats et
Discussion***

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Génie biologique de l'Université de Bejaia durant la période allant du 07 mai au 15 juin 2023. Dans ce chapitre seront présentés les résultats et discussions des cinq parties de ce travail, à savoir : l'isolement sélectif de souches d'actinobactéries en présence de céfotaxime comme seule source de carbone, la détermination de leurs concentrations minimales inhibitrices, l'étude des caractères morphologiques de la souche performante sélectionnée, la mise en évidence de son activité antagoniste vis-à-vis des germes pathogènes suivie de l'étude de la dégradation du céfotaxime par cette dernière.

1. Isolement et criblage de souches d'actinobactéries dégradant la céfotaxime

Dans la présente étude, trois échantillons provenant des sédiments d'Oued Soummam de la wilaya de Bejaia ont été utilisés pour isoler et cribler des souches d'actinobactéries dégradant le céfotaxime en utilisant un milieu minéral additionné de 50 µg/ml de céfotaxime comme seule source de carbone. Au bout de 3 jours d'incubation à 28°C, les premières colonies ont commencé à apparaître **Figure 6**.

Au total 33 souches d'actinobactéries dégradant le céfotaxime ont été obtenues par la méthode des suspensions-dilutions à travers des dénombrements réguliers après 3, 7, 14, 21 et 30 jours d'incubation à 28°C **Figure 7**. Reconnues par leur aspect morphologique caractéristique, elles apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, adhérent à la gélose et présentant un mycélium végétatif et /ou aérien. Elles ont été classées selon l'aspect de leurs colonies, la couleur de leur mycélia aérien et de substrat ainsi que la production ou non de pigments diffusibles (**Voir annexe 3**).



D'après les résultats obtenus **Figure 8**, 61% des isolats présentent un mycélium aérien de couleur beige, 33% de couleur grise et 3% leur mycélium aérien est de couleur marron et blanc. Par ailleurs, aucune des souches n'a produit de pigments diffusibles.

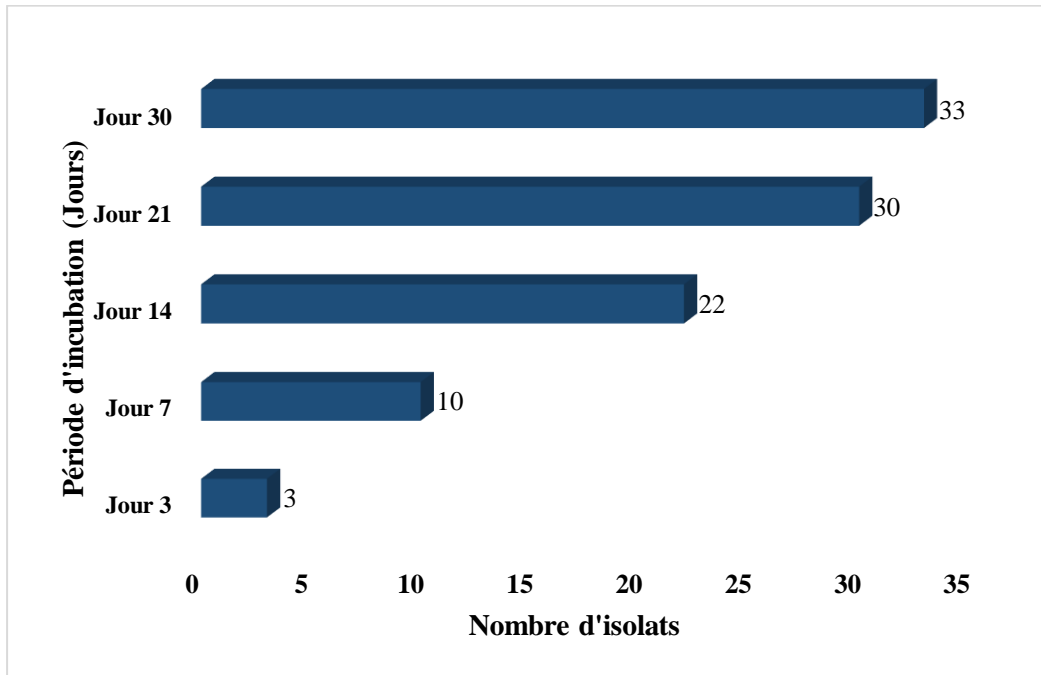


Figure 7. Variation du nombre de colonies d'actinobactéries isolées sur milieu MSM additionné de 50mg/L de céfotaxime en fonction du temps d'incubation.

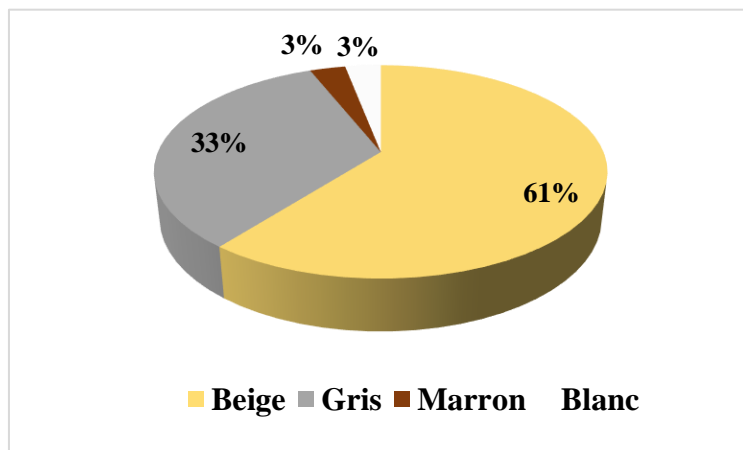


Figure 8. Distribution des colonies d'actinobactéries isolées sur milieu MSM additionné de 50 mg/L de céfotaxime en fonction des couleurs des mycéliums aériens.

Les 33 souches obtenues ont été repiquées plusieurs fois sur le milieu minéral contenant 50µg/ml de céfotaxime dans un but de purification. Au total, 22 isolats purs sont retenus puis conservées à 4°C pour la suite du travail.

Djinni *et al.* (2019) et **Messaoudi *et al.* (2021)** ont rapporté que les actinobactéries isolées des milieux extrême et particulier ont la particularité de présenter un métabolisme adapté à leur écosystème en produisant des métabolites primaires et secondaires à caractéristiques novatrices. En effet, les sédiments de l'oued Soummam ont été sélectionnés comme site d'échantillonnage dans le but d'isoler de nouvelles souches capables de dégrader le céfotaxime, antibiotique de la famille des Beta- lactamines. Un milieu minéral a été sélectionné pour cela, auquel 50mg/L de céfotaxime a été additionné comme seule source de carbone, comme milieu d'isolement. Cet écosystème peu exploré pour l'isolement des actinobactéries a été choisi pour sa richesse en matières organiques suite au fait qu'il représente le lieu de déversement de plusieurs rejets des usines et des établissements de santé.

2. Etude de la sensibilité des souches au céfotaxime

L'étude de la sensibilité au céfotaxime des 22 isolats a été effectuée par la méthode de diffusion par disque de céfotaxime (30µg).

A la lumière des résultats obtenus, les 22 souches étudiées ont présenté une résistance à l'antibiotique en raison de l'absence totale de zones d'inhibitions autour des disques de céfotaxime. Parallèlement, la souche *E. coli*, utilisée comme témoin, a présenté une sensibilité au céfotaxime avec la présence d'une zone d'inhibition autour du disque d'antibiotique de 16mm.

La croissance des souches en présence de céfotaxime implique que ces dernières ont la capacité de contourner son action et de ce fait en sont résistante.

Cette résistance peut être le résultat de mécanismes différents et complexes développés par les bactéries pour échapper à l'effet de cet antibiotique. Ces mécanismes sont :

1. Production de bêta-lactamases qui sont des enzymes produites par certaines bactéries pour dégrader les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, tels que le céfotaxime. Ces enzymes hydrolysent le cycle bêta-lactame présent dans la structure du céfotaxime, ce qui entraîne une inactivation de l'antibiotique.
2. Modification de cibles : les bactéries résistantes peuvent modifier la structure de leurs cibles cellulaires, appelées protéines de liaison aux pénicillines (PBPs), qui sont les sites d'action des céphalosporines comme le céfotaxime. Ces modifications rendent les PBPs moins sensibles à l'antibiotique, ce qui réduit son efficacité.

3. Pompes efflux : Certaines bactéries peuvent posséder des systèmes d'efflux actifs qui pompent le céfotaxime hors de la cellule avant qu'il puisse atteindre une concentration suffisante pour les inhiber. Cela permet aux bactéries résistantes de maintenir des niveaux internes d'antibiotique suffisamment bas pour survivre.
4. Altération de la perméabilité : Les bactéries peuvent également développer des mécanismes pour réduire l'entrée du céfotaxime dans la cellule en altérant les porines, qui sont les canaux de transport des antibiotiques à travers la membrane externe bactérienne.
5. Acquisition de gènes de résistance : Les bactéries peuvent acquérir des gènes de résistance par transfert horizontal, ce qui leur confère une résistance au céfotaxime. Ces gènes de résistance peuvent coder pour des enzymes de dégradation, des modifications de cibles ou d'autres mécanismes de résistance (Sharma *et al.*, 2014).

La figure 10 ci-dessous rapporte des photographies de quelques souches résistantes au céfotaxime en comparaison à la souche témoin *E. coli*.

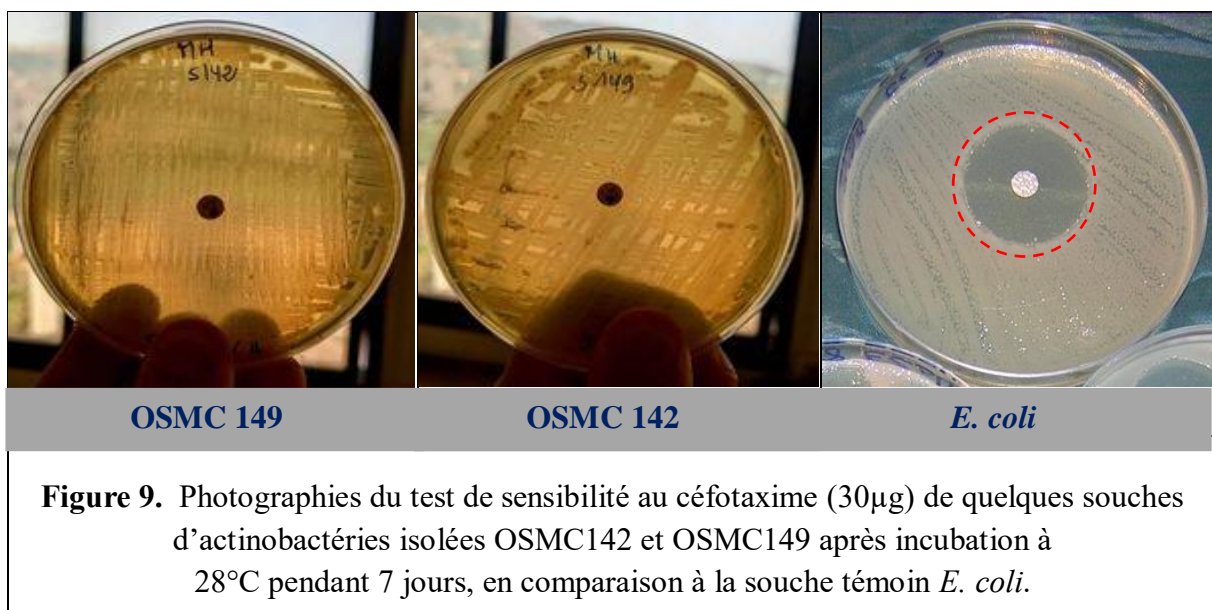


Figure 9. Photographies du test de sensibilité au céfotaxime (30µg) de quelques souches d'actinobactéries isolées OSMC142 et OSMC149 après incubation à 28°C pendant 7 jours, en comparaison à la souche témoin *E. coli*.

3. Mise en évidence de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des souches isolées et sélection de la souche performante.

Les 22 souches retenues pour l'étude ont fait objet de l'évaluation de leur résistance à différentes concentrations de céfotaxime, et ainsi la détermination de leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI), après les avoir ensemencé sur gélose MSM additionnée de différentes concentrations de céfotaxime, allant de 0mg/ml à 225mg/ml.

Les résultats obtenus montrent que la totalité des souches (100%) peuvent se développer à une concentration de 150 µg/ml et l'augmentation de la concentration du céfotaxime à 200 mg/ml a entraîné l'inhibition de la croissance de 10 souches (45,45%). Tandis que les 12 autres isolats (54,54%) semblent être plus résistants à l'antibiotique et leurs concentrations minimales inhibitrices peuvent atteindre une valeur supérieure à 225µg/ml. Les résultats des concentrations minimales inhibitrices sont résumés et représentés dans le **Tableau V**.

La **figure 9** illustre la croissance des quatre souches sur milieu MSM+ céfotaxime à 225mg/L

Tableau V : Les valeurs de différentes concentrations minimales inhibitrices de 22 souches vis-à-vis du céfotaxime.

Souches	Concentration minimale inhibitrice (µg/ml)
OSMC 70	200
OSMC 74	200
OSMC 95	200
OSMC 97	200
OSMC 99	200
OSMC 105	>225
OSMC 106	200
OSMC 112	200
OSMC 130	>225
OSMC 133	200
OSMC 136	200
OSMC 140	200
OSMC 142	200
OSMC 148	>225
OSMC 149	200
OSMC 150	200
OSMC 151	200
OSMC 154	200
OSMC 157	200
OSMC 160	200
OSMC 161	>225
OSMC 170	200

Suite aux résultats de la concentration minimale inhibitrice des isolats OSMC 105, OSMC130, OSMC 148, OSMC 161 à 225 mg/L d'antibiotique après 7 jours d'incubation, la souche OSMC130 a été sélectionnée pour la suite du travail en raison de sa croissance plus prononcée sur ce milieu comparativement aux trois autres **Figure 9**

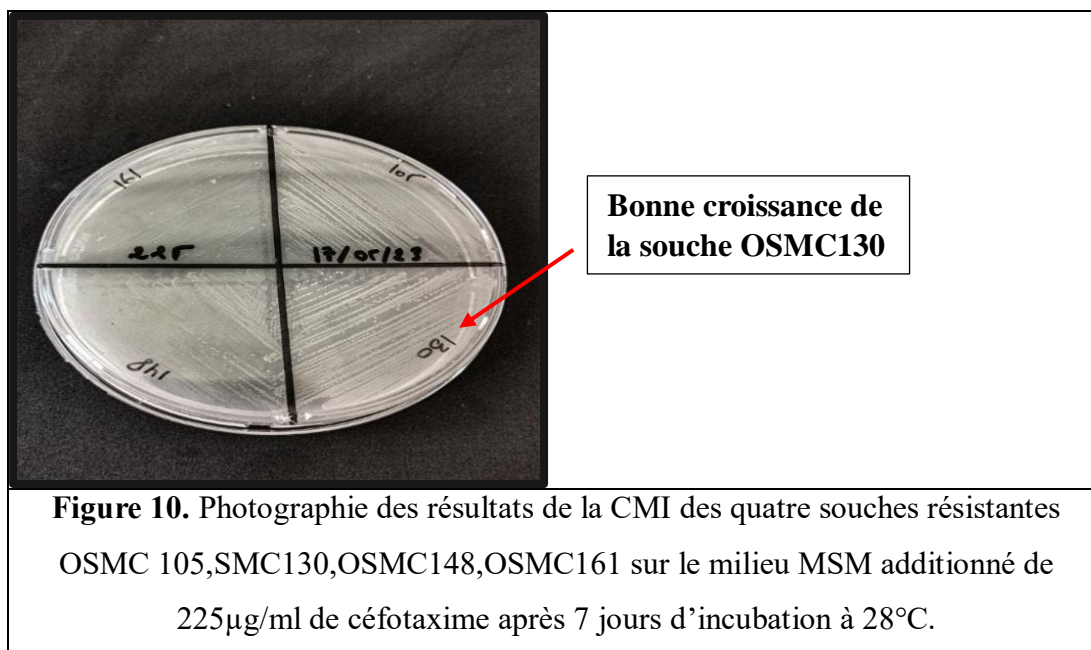


Figure 10. Photographie des résultats de la CMI des quatre souches résistantes OSMC 105,SMC130,OSMC148,OSMC161 sur le milieu MSM additionné de 225µg/ml de céfotaxime après 7 jours d'incubation à 28°C.

4. Etude des caractères morphologiques de la souche sélectionnée OSMC130

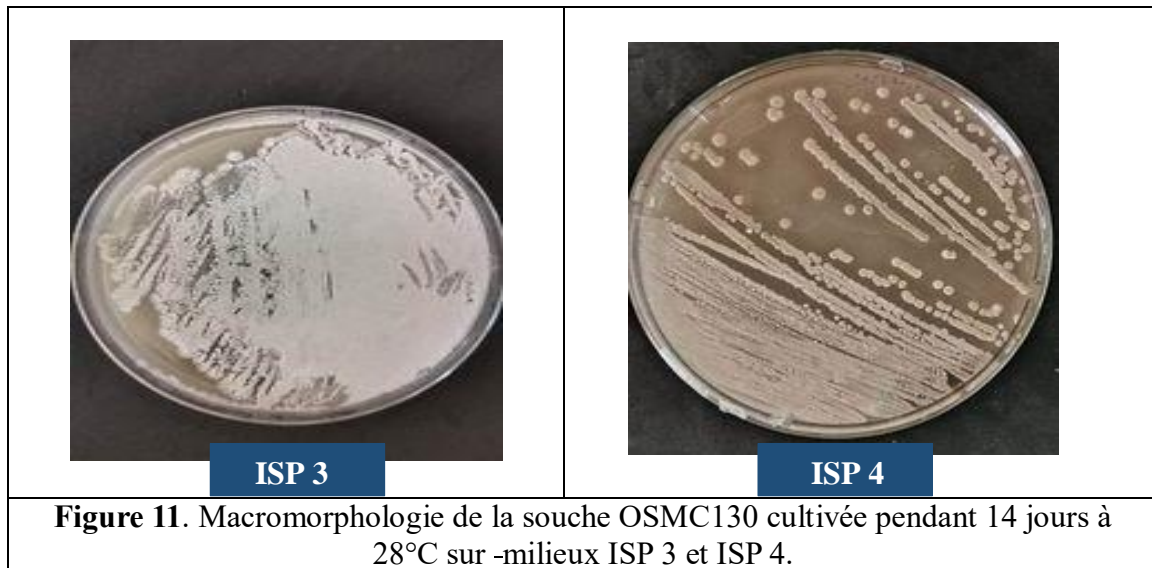
Celle-ci a porté sur des critères macromorphologiques et micromorphologiques.

4.1. Caractères macromorphologiques

Les propriétés culturales de l'isolat OSMC130 cultivé sur les milieux préconisés par International *Streptomyces* project (ISP) (Shirling et Gottiel, 1996) pendant 14 jours à 28°C sont présentés dans la **Figure 11**.

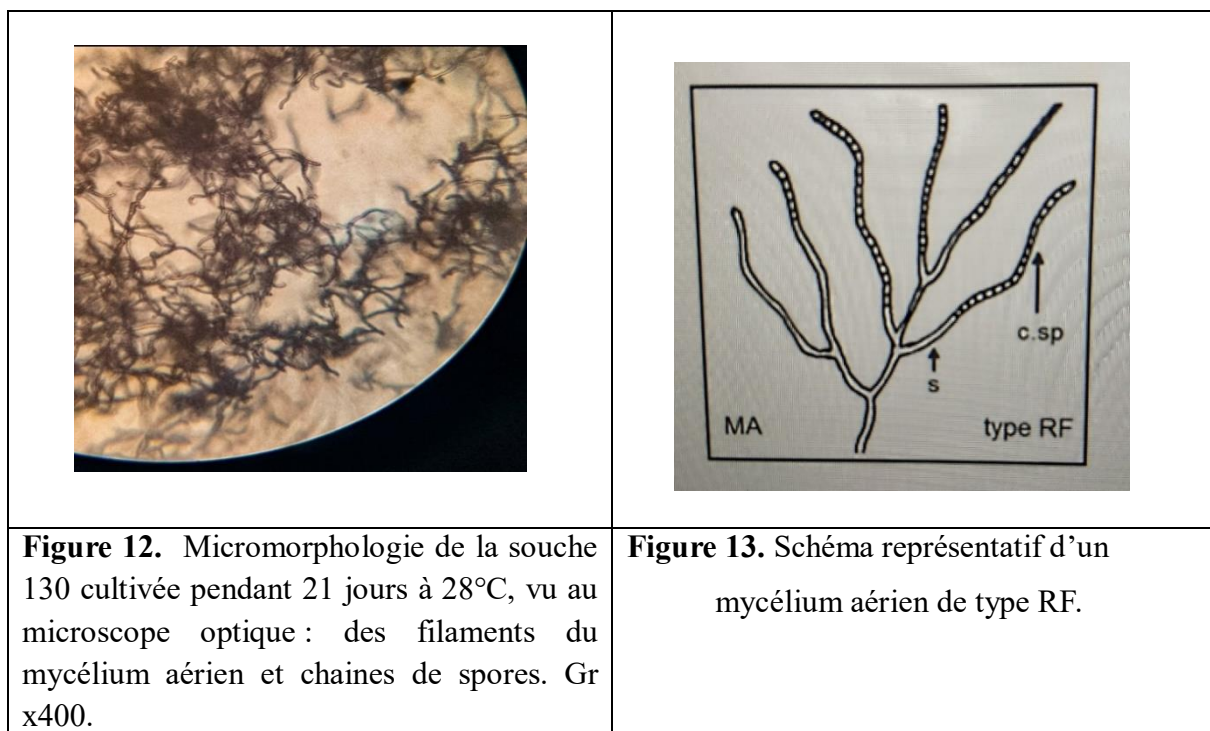
Deux milieux ISP ont été utilisés ISP 3 et ISP4 ; la souche a présenté une bonne croissance sur les deux milieux ainsi que sur le milieu amidon caséine agar (SCA) .

En effet, les colonies de la souche OSMC 130 apparaissent après 3 jours d'incubation. Elles sont rondes bien délimitées, d'une taille de 1 à 4 millimètre de diamètre. Les colonies sont incrustées dans la gélose, sèches, à surface lisse. Le mycélium aérien (MA) est gris sur les deux milieux utilisés avec une légère différence mycélium du substrat (MA). Celui-ci varie selon le milieu du gris clair au beige foncé, et sans formation de pigments diffusibles **Figure 11**. Les milieux ISP 1, ISP 2, ISP 5, ISP 7 n'ont pas été utilisés car ils ont présenté une contamination et les cultures n'ont pu être refaites faute de temps et de disponibilité de ces milieux.



4.2. Caractères micromorphologiques

L'observation microscopique a été réalisée avec un microscope optique (L IIOOA) en utilisant le grossissement (x40) directement sur boîte de Petri, du milieu MSM après 7 jours d'incubation. Les filaments du mycélium du substrat (MS) se présentent sous forme de filaments fins et non fragmentés, Ils se développent en surface et pénètrent dans la gélose, puis donne naissance à un mycélium aérien (MA) long, non cloisonné et ramifié, et porte des chaînes de spores droites à flexueuses (type RF : *Rectus Flexibilis*). La figures 12 et 13 présentent le résultat de cette observation



Sur la base des observations macroscopiques (croissance, aspect et coloration) et microscopiques (forme des chaînes de spores), la souche OSMC 130 montre les traits typiques liés aux *Streptomycètes*, ce qui laisse supposer son appartenance au genre *Streptomyces*.

5. Mise en évidence des activités enzymatiques

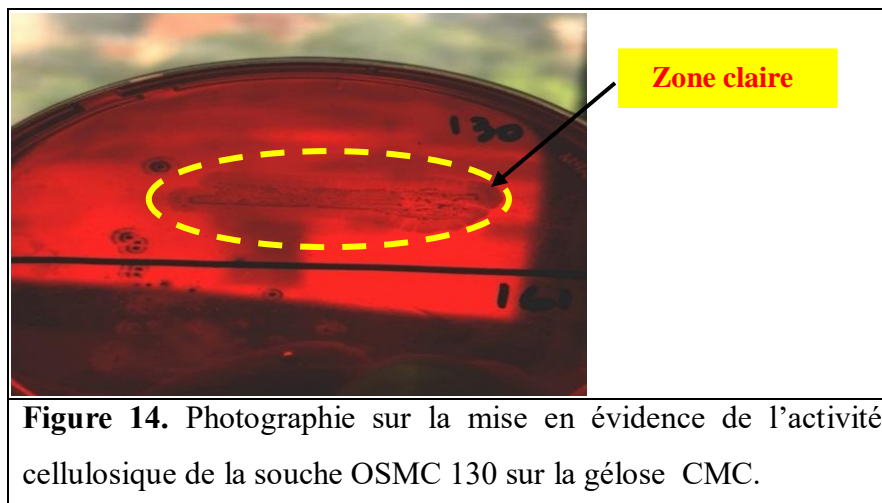
Les enzymes jouent un rôle essentiel dans la dégradation des substances dans les systèmes biologiques. L'une de leurs fonctions principales est de catalyser la dégradation des substances complexes en molécules plus simples.

Dans le but d'évaluer le potentiel enzymatique de l'isolat OSMC130 et par conséquent mettre en évidence sa capacité de dégradation, deux activités enzymatiques ont été étudiées.

5.1 Activité cellulosique (Hydrolyse de la cellulose)

L'activité cellulosique est exprimée par l'apparition d'un halo jaunâtre autour des colonies (**Oikawa, 1998 ; korish, 2003**). D'après le résultat obtenu et illustré dans la **Figure 14**, cette activité a été observée chez la souche OSMC 13

En effet, la capacité de la souche à dégrader la cellulose se traduit par leur capacité à produire des cellulases. De plus, l'intensité de cette activité est d'autant plus importante que les diamètres des halos autour des colonies sont importants.



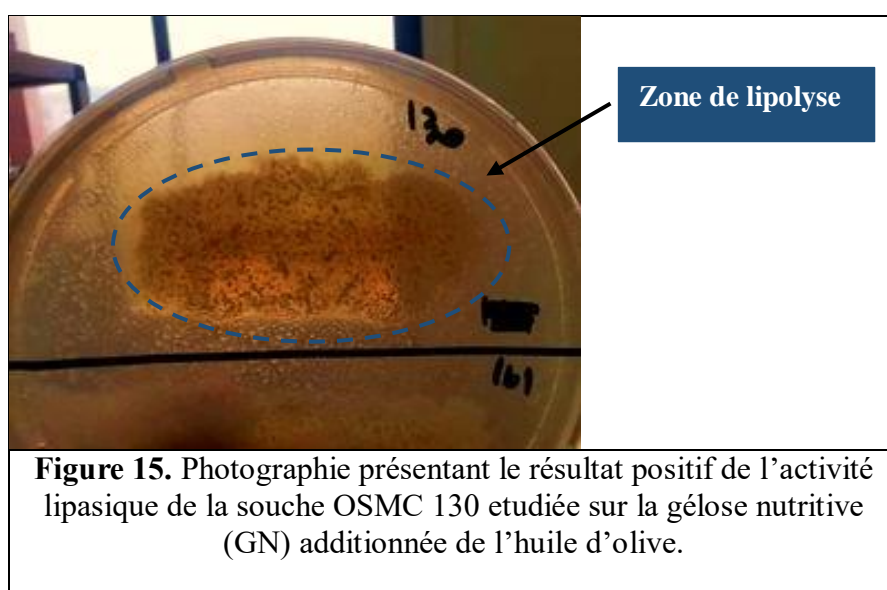
5.2 Activité lipasique (Hydrolyse de la lipase)

Une importante activité lipasique a été constatée en utilisant l'huile d'olive comme substrat chez l'isolat OSMC130, traduite par l'apparition d'une zone opaque autour des colonies dû à la précipitation d'acides gras issue de la lipolyse (**Vos et al., 2009**).

La mise en évidence de la production de lipase chez la souche OSMC 130 isolée et cultivée sur le milieu sur gélose nutritive additionnée d'huile d'olive a été effectuée.

Après incubation, la présence de l'activité lipasique est détectée par l'apparition d'une zone opaque entourant la croissance de la souche. Le résultat est représenté par la **Figure 15**.

De nombreux travaux de recherche ont rapporté la capacité des actinobactéries à hydrolyser les huiles et les graisses (**Patel et al., 2021 ; Benhoula et al., 2023**). Les lipases et les estérases forment divers groupes d'hydrolases qui catalysent les lipides comme les triglycérides. Les lipases possèdent diverses applications telles que le traitement des huiles et des graisses et les industries cosmétique et détergents (**Mukhtar et al., 2017**).



6. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne

L'une des caractéristiques des actinobactéries est leur capacité à ralentir et/ ou inhiber l'activité et la croissance microbienne de certaines bactéries et champignons. Les métabolites secondaires produits sont libérés dans le milieu au cours de leur croissance.

Dans le but de mettre en évidence l'activité antimicrobienne de la souche OSMC 130 vis-à-vis de 11 bactéries à Gram positif ou négatifs, une levure et 4 moisissures, la méthode des cylindres d'agar a été utilisée car elle permet une meilleure visualisation et observation des zones d'inhibition. La **figure 16** rapporte les résultats obtenus des diamètres des zones d'inhibitions après 24h d'incubation à 37°C pour les bactéries et 48h à 28°C pour les moisissures.

A la lumière des résultats obtenus la souche OSMC 130 a démontré un potentiel antagoniste remarquable. En effet, l'isolat a montré une capacité à inhiber la croissance, aussi bien, de bactéries à Gram positif que négatif avec des diamètres des zones d'inhibition allant

de 14 mm à l'encontre de *E. coli* ST131 à 30 mm dirigé contre *L. innocua*. Toutefois, aucune activité n'a été décelée à l'encontre de *P. aeruginosa*.

Par ailleurs, il y'a lieu de noter que l'isolat 130 a démontré un potentiel tout aussi important à l'égard de bactéries multirésistantes telles que *E. coli* ST 131 uropathogène (14,5 mm), *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) (19 mm) et *A. baumannii* (15mm).

Le potentiel antifongique de l'isolat OSMC 130 à l'encontre de la levure *C. albicans* et de quelques moisissures a également été mis en évidence et les résultats démontrent clairement que la souche présente un pouvoir antagoniste remarquable à l'encontre de la levure avec un diamètre d'inhibition de 39 mm suivi de *Fusarium oxysporum* avec 32,5 mm et *Aspergillus niger* avec 14 mm de diamètre.

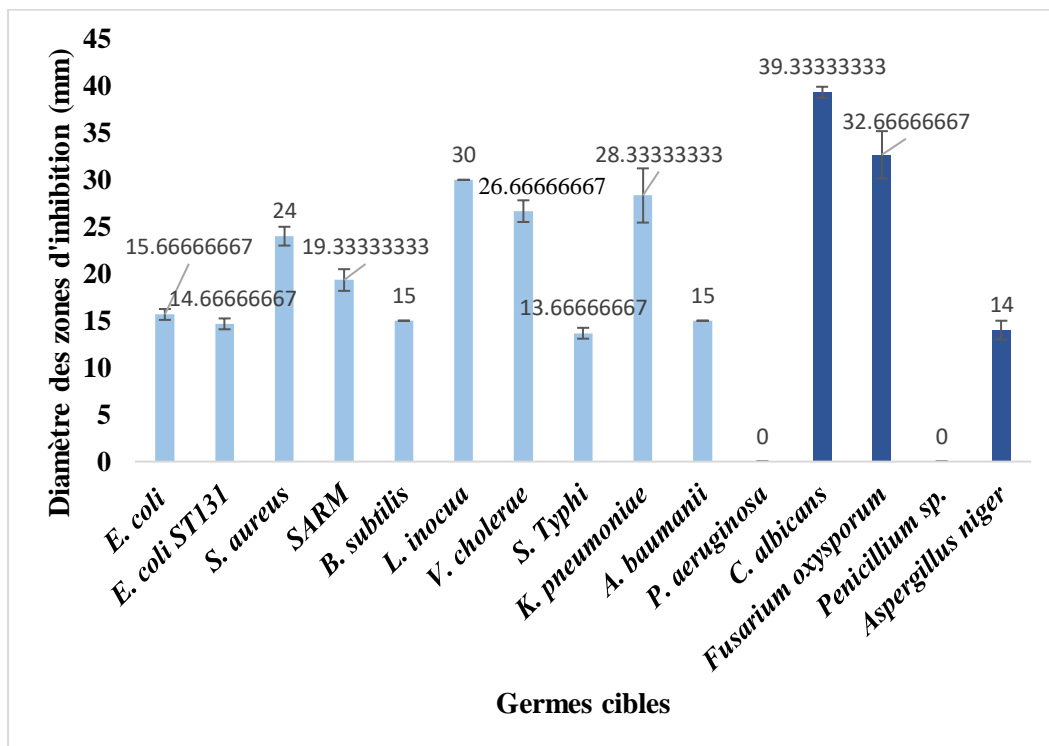


Figure 16. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'isolat 130 par la méthode des cylindres d'agar à l'encontre de germes pathogènes.

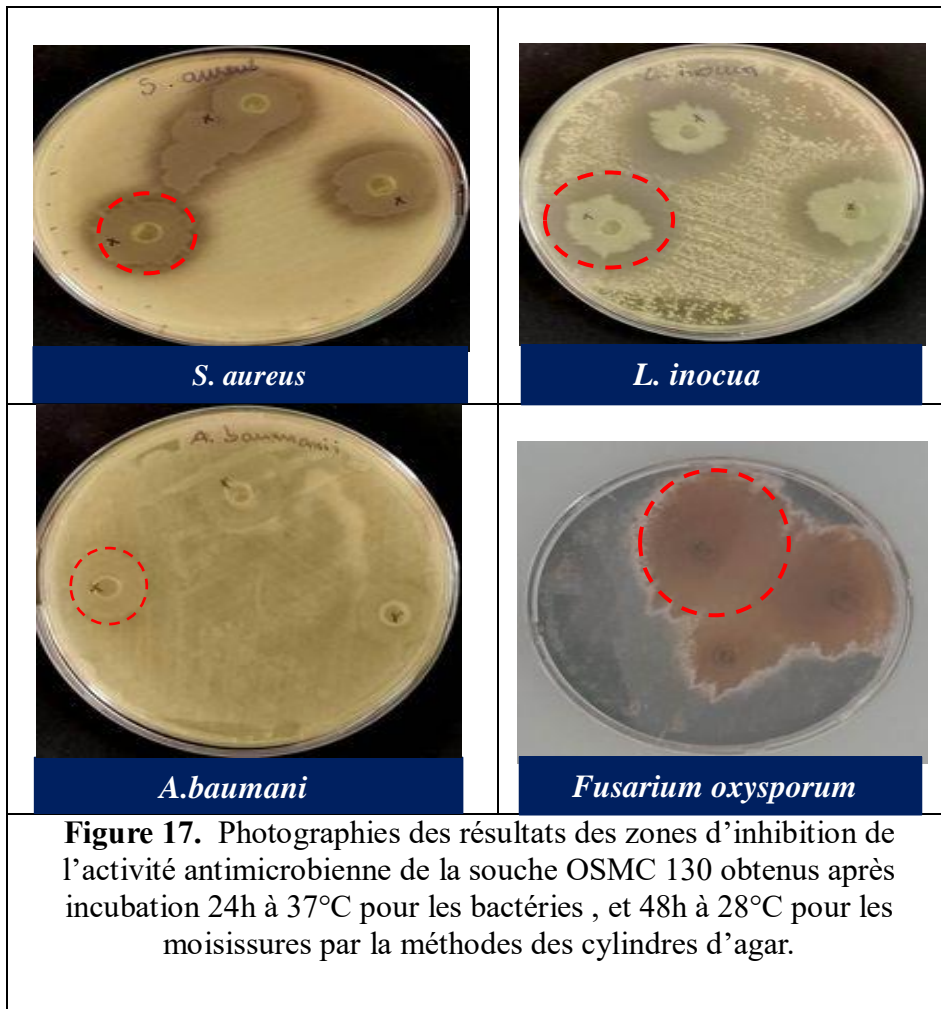
Les actinobactéries du sol ont été largement étudiées dans le monde entier pour leur production d'agents antimicrobiens. En Algérie, plusieurs études ont rapporté l'isolement d'actinobactéries à partir de nombreux biotopes et ont démontré leur potentiel antimicrobien. Récemment, **Djinni et al. (2022, 2023)** ont mis en évidence l'isolement d'espèces de *Streptomyces* à partir de sols Sahariens d'une mine de charbon présentant des potentiels

antimicrobiens essentiellement dirigés à l'encontre des espèces résistantes uropathogène *E. coli* ST131 et SARM. **Souagui et al. (2023)**, ont rapporté le potentiel anti-*Candida albicans* de la souche halo-alkaline *Nocardiopsis* sp. S10 isolée des eaux usées.

Les études rapportées par **Djinni et al. (2019)**, **Meklat et al. (2020)** et **Messaoudi et al. (2021)** montrent la diversité des actinobactéries isolées de la rhizosphère des palmiers dattiers et des environnements salins sahariens qui peuvent fournir de nouveaux métabolites bioactifs.

Cependant, les actinobactéries des sédiments des oueds algériens ne sont pas étudiées pour leur potentiel de dégradation des substances polluantes et plus particulièrement les antibiotiques.

Cela montre l'intérêt de notre étude pour la valorisation des actinobactéries vivant dans ces biotopes en recherchant leur potentiel antimicrobien, d'une part, et de dégradation, d'autre part.



7. Etude de la croissance de OSMC 130 sur milieu liquide

Dans le but d'évaluer la croissance et le développement de la souche OSMC 130 sur milieu liquide MSM additionné de solutions de céfotaxime à concentrations croissantes allant de 25 mg/L à 150 mg/L, la biomasse, à travers l'estimation du poids sec, ainsi que le pH de la culture ont été mesurés après 7 jours d'incubation à 28°C. Les résultats obtenus sont résumés dans la **Figure 18**.

Il est clairement remarqué que la meilleure croissance de la souche est obtenue à une concentration de 25mg/L de céfotaxime avec une valeur du poids sec de 358 mg/L. Cette biomasse tend à diminuer avec l'augmentation de la concentration en céfotaxime dans le milieu pour atteindre 15,6 mg/L à 100 mg/L de l'antibiotique.

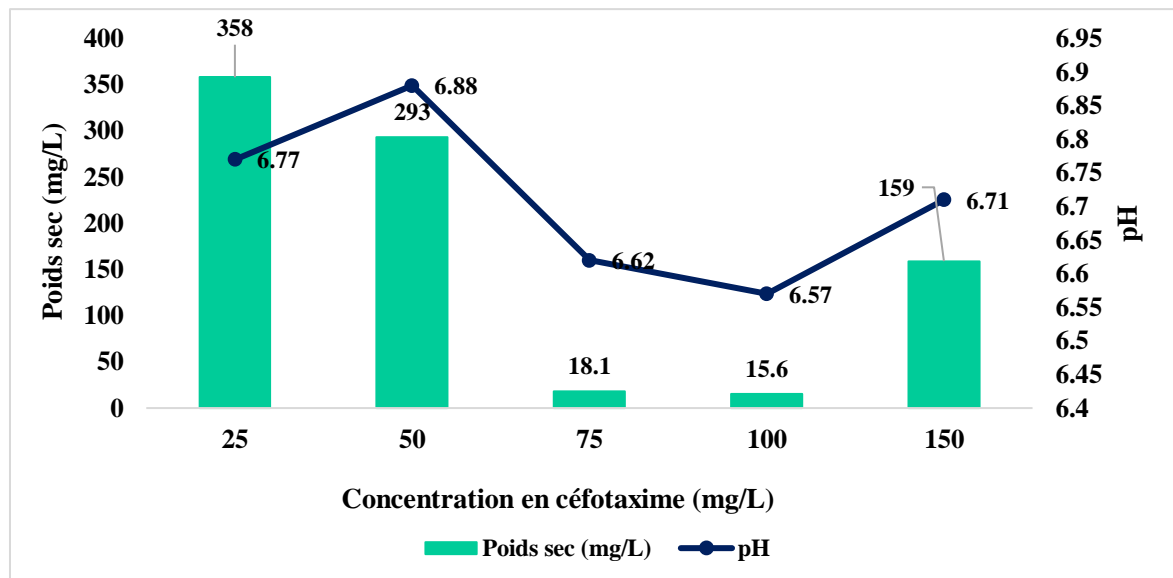


Figure 18. Effet des différentes concentrations de céfotaxime sur la croissance et le pH de la culture de la souche 130 cultivée sur milieu MSM à 28°C pendant 7 jours.

8. Etude de la dégradation du céfotaxime par la souche OSMC 130

L'évaluation de l'efficacité d'élimination par l'estimation du pourcentage de dégradation du céfotaxime à une concentration finale de 50mg/L par la souche OSMC 130 en fonction du temps a été entreprise.

. Les résultats de la dégradation du cefotaxime ont été évalués par la mesure de la DO à 237nm, du pH de la culture et du poids sec à intervalle régulier de 48h pendant 12 jours. Les trois figures **19**, **20** et **21** rapportent les résultats obtenus.

Dans le but d'effectuer ces mesures, la détermination de la longueur d'onde maximale d'absorption (λ_{\max}) est nécessaire pour la suite de notre étude. Pour ce faire, un balayage qui correspond à la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde dans l'intervalle de l'UV –Vis [200 nm-800nm] a été réalisé. La longueur d'onde maximale de mesure correspond à la valeur où l'absorbance de la solution de l'antibiotique est maximale. La valeur obtenue est de $\lambda_{\max}= 237$ nm.

Une courbe d'étalonnage qui correspond à la variation de la densité optique en fonction de la concentration de céfotaxime est également réalisée (**Voir annexe 4**).

Le pourcentage de dégradation du céfotaxime est donné par la relation suivante $(C_0-C_1/C_0) \times 100$

A la lumière des résultats obtenus, l'élimination du céfotaxime augmente avec l'augmentation de la période d'incubation. En effet, le céfotaxime a atteint une dégradation maximale de 26,67% au 12^{ème} jour dans le milieu MSM additionné d'antibiotique. Par ailleurs, l'isolat a présenté une dégradation de 22,37% après 2 jours d'incubation.

Parallèlement, le maximum de la biomasse a été atteint au jour 10 avec un poids sec estimé à 427 mg/L.

La biomasse a suivi une évolution comparable à celle de l'élimination du céfotaxime. En effet, avec un poids sec de 12 mg/L au 2^{ème} jour d'incubation, pour atteindre 418 et 427 mg/L le 8^{ème} et 10^{ème} jour, respectivement avec, toutefois, une diminution pour atteindre une valeur de 300 mg/L le jour 12. Cette dernière pourrait être expliquée par l'inhibition de la croissance de la souche suite à la libération et accumulation de composés toxiques issus de la dégradation du céfotaxime (**Kong et al., 2019**) et ou l'épuisement du milieu. Cette hypothèse pourrait être vérifiée par la réalisation d'une chromatographie liquide (HPLC) avec une chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse (LC-MS) afin d'identifier les composés de dégradation du céfotaxime.

La variation du pH des cultures en fonction du temps est relativement faible. En effet, les valeurs varient entre 6,88 atteinte le jour 6 et 6,53 obtenue le jour 12.

D'après **Kong et al., (2019)**, les méthodes traditionnelles de traitement des résidus de céphalosporines sont la biodégradation, la dégradation électrochimique et la phototransformation. Cependant, il a été constaté que les produits de la phototransformation sont plus toxiques que leurs composés mères (**Wang et Lin, 2012**). Ainsi, l'étude menée par **Kong et al. (2019)** en utilisant l'espèce *Bacillus clausii* a permis d'augmenter non seulement l'efficacité d'élimination des antibiotiques, mais a également réduit la biotoxicité du céfotaxime même en tenant compte de leurs produits de dégradation.

Le mécanisme probable de dégradation du céfotaxime, selon les travaux de **Kong et al., (2019)**, sont l'hydrolyse, la déacétylation et la décarboxylation où un pourcentage de 100% d'élimination a été obtenu avec l'espèce *Bacillus clausii* après 8h de culture. Ainsi, les résultats obtenus dans notre étude sont prometteurs laissant présager des investigations plus avancées, notamment dans l'amélioration du pourcentage de dégradation à travers les cultures en consortium et des optimisations statistiques.

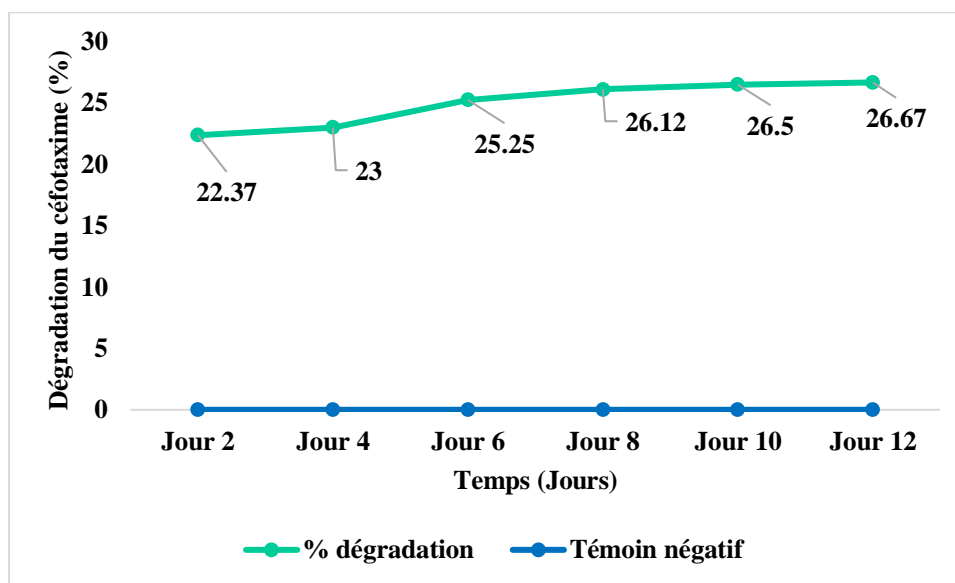


Figure 19. Variation du pourcentage de dégradation du céfotaxime par la souche OSMC 130 en fonction du temps

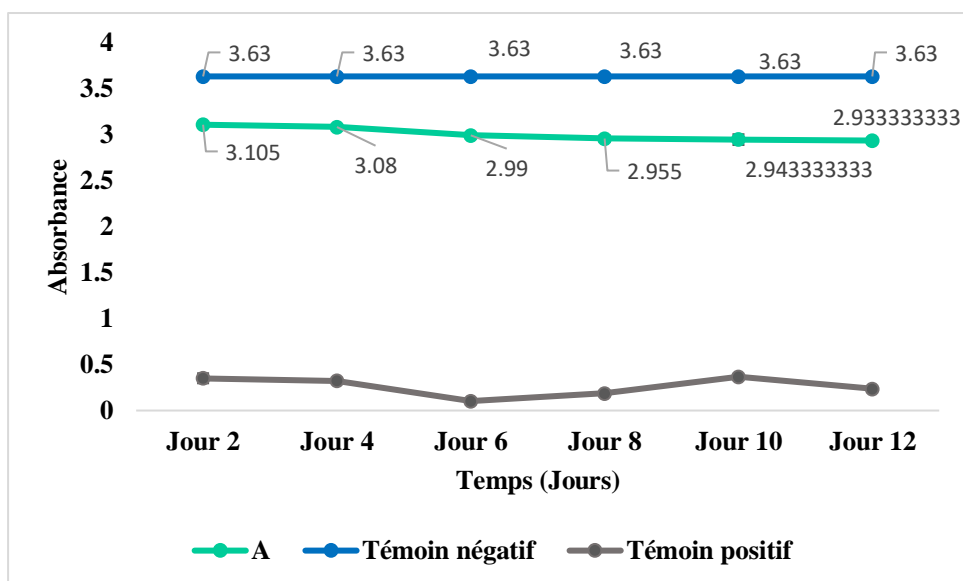


Figure 20. Variation de l'absorbance du surnageant de culture de la souche S130 en fonction du temps

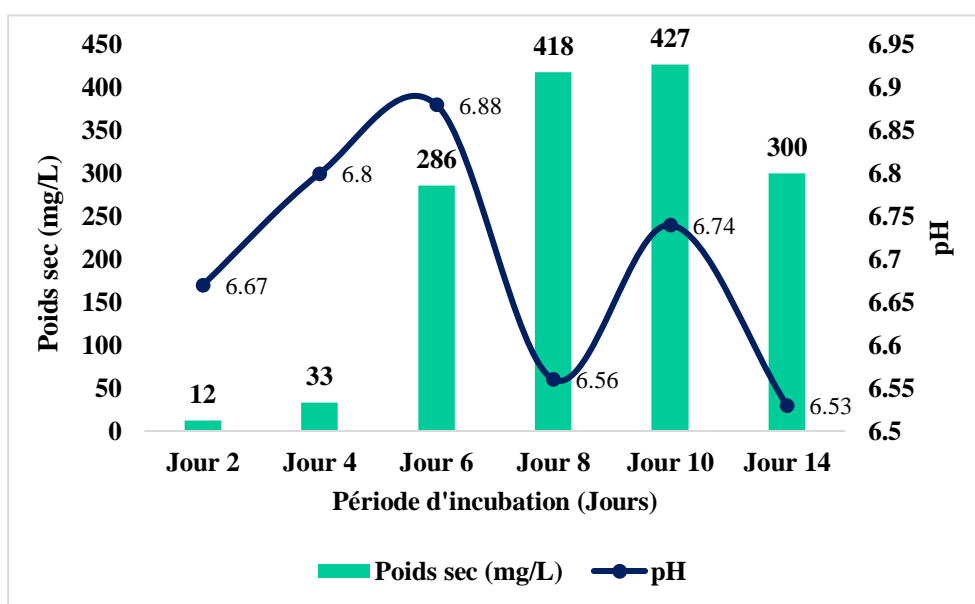


Figure 21. Evaluation de la biomasse et de la valeur du pH du surnageant de culture de la souche S130 en fonction du temps, dans le milieu MSM additionné de 50mg/L de céfotaxime.

*Conclusion et
perspectives*

Suite à la problématique des rejets des produits pharmaceutiques, plus particulièrement le céfotaxime qui est un antibiotique de la famille des beta lactamines, dans l'environnement et leur impact négatif sur la santé humaine, il est urgent de trouver une méthode rentable pour traiter ces résidus d'antibiotiques dans l'environnement.

Les objectifs visés à travers cette présente étude sont l'isolement de nouvelles souches d'actinobactéries capables de dégrader le céfotaxime d'une part, et la mise en évidence du potentiel de dégradation, d'autre part.

Afin d'atteindre ces objectifs, les points suivants ont été traités :

- L'enrichissement et l'isolement sélectif de souches d'actinobactéries provenant des sédiments de l'oued Soummam en utilisant un milieu minéral MSM additionné de 50mg/L de céfotaxime comme seule source de carbone ce qui a permis l'obtention de 33 isolats présentant les caractéristiques morphologiques des actinobactéries.
- La mise en évidence de leurs concentrations minimales inhibitrice en présence de concentrations croissantes en céfotaxime a permis d'avoir 22 isolats capables de se développer en présence de 150 mg/L et 4 souches ont présenté des CMI de 225mg/L.
- Sélection de la souche performante OSMC 130 présentant une CMI supérieure à 225mg/L.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'isolat OSMC 130 par la technique des cylindres d'agar a révélé un potentiel antagoniste aussi bien antibactérien qu'antifongique remarquables avec des inhibitions allant de 30 mm à 13,5 mm à l'encontre de *L. innocua* et *S. Typhi*, respectivement, mais aussi un antagonisme important dirigé à l'encontre de bactéries résistantes telles que le SARM, *E. coli* ST131 et *A. baumannii*. De plus, l'isolat a présenté un potentiel antifongique non négligeable estimé à 34 mm à l'égard de *Fusarium oxysporum* et *Candida albicans* (39 mm)
- L'étude des caractéristiques morphologiques basée sur la macro et micromorphologie laisse présager le rattachement de l'isolat OSMC130 au genre *Streptomyces*.
- L'étude de la croissance de l'isolat OSMC130 en présence de différentes concentrations de céfotaxime, à travers l'évaluation de la biomasse, a permis d'avoir une croissance plus importante à 25 mg/L d'antibiotique.
- Le suivi de la dégradation du céfotaxime par la souche 130 en fonction du temps a permis d'atteindre une élimination maximale de 26,67 % après 12 jours d'incubation avec toutefois, 22% de dégradation après 2 jours seulement d'incubation.

Bien que les objectifs de notre étude soient atteints, celle-ci reste incomplète et laisse lieu à d'innombrables perspectives à envisager.

- ✓ Caractérisation physiologique de la souche, notamment des tests d'hydrolyses enzymatiques plus approfondis sur le potentielle et la cinétique de dégradation.
- ✓ L'identification moléculaire de la souche OSMC130.
- ✓ Amélioration du rendement de dégradation du céfotaxime à travers l'optimisation des conditions de culture par modélisation statistique, d'une part, et par culture en consortium, d'autre part.
- ✓ Utilisation de la chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse (LC-MS) sur les surnagent afin de déterminer les profils de dégradation ainsi que les produits de dégradation du céfotaxime ce qui va permettre de retracer et de donner une hypothèse sur une voie de dégradation du céfotaxime par l'isolat.
- ✓ Tester le potentiel de dégradation de l'isolat en présence d'un mélange de molécules antibiotiques.

*Références
bibliographiques*

A

Ahmed, S., Ahmed, M. Z., Rafique, S., Almasoudi, S. E., Shah, M., Jalil, N. A. C., & Ojha, S. C. (2023). Recent Approaches for Downplaying Antibiotic Resistance: Molecular Mechanisms. *BioMed Research International*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/5250040>

Al-Hakkani, M. (2020). HPLC Analytical Method Validation for Determination of Cefotaxime in the Bulk and Finished Pharmaceutical Dosage Form. *Sustainable Chemical Engineering*, 1, 33. <https://doi.org/10.37256/sce.112020199.33-42>

Al-Hakkani, M. F., Gouda, G. A., Hassan, S. H. A., Saddik, M. S., El-Mokhtar, M. A., Ibrahim, M. A., Mohamed, M. M. A., & Nagiub, A. M. (2022). Cefotaxime removal enhancement via bio-nanophotocatalyst α -Fe₂O₃ using photocatalytic degradation technique and its echo-biomedical applications. *Scientific Reports*, 12(1), 11881. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14922-3>

Almeida-Naranjo, C. E., Guerrero, V. H., & Villamar-Ayala, C. A. (2023). Emerging Contaminants and Their Removal from Aqueous Media Using Conventional/Non-Conventional Adsorbents: A Glance at the Relationship between Materials, Processes, and Technologies. *Water*, 15(8). <https://doi.org/10.3390/w15081626>

Arsène, M. M. J., Davares, A. K. L., Viktorovna, P. I., Andreevna, S. L., Sarra, S., Khelifi, I., & Sergueïevna, D. M. (2022). The public health issue of antibiotic residues in food and feed: Causes, consequences, and potential solutions. *Veterinary World*, 15(3), 662–671. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.662-671>

B

Baeza, A. N., Urraca, J. L., Chamorro, R., Orellana, G., Castellari, M., & Moreno-Bondi, M. C. (2016). Multiresidue analysis of cephalosporin antibiotics in bovine milk based on molecularly imprinted polymer extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography. A*, 1474, 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.10.069>

Bala, S., Garg, D., Thirumalesh, B. V., Sharma, M., Sridhar, K., Inbaraj, B. S., & Tripathi, M. (2022). Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. *Toxics*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/toxics10080484>

Bojarski, B., Kot, B., & Witeska, M. (2020). Antibacterials in Aquatic Environment and Their Toxicity to Fish. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 13(8). <https://doi.org/10.3390/ph13080189>

Boopathy, R. (2000). Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*, 74(1), 63–67. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00144-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3)

Browne, A. J., Chipeta, M. G., Haines-Woodhouse, G., Kumaran, E. P. A., Hamadani, B. H. K., Zarea, S., Henry, N. J., Deshpande, A., Reiner, R. C. J., Day, N. P. J., Lopez, A. D., Dunachie, S., Moore, C. E., Stergachis, A., Hay, S. I., & Dolecek, C. (2021). Global antibiotic consumption and usage in humans, 2000-18: a spatial modelling study. *The Lancet. Planetary Health*, 5(12), e893–e904. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(21\)00280-1](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(21)00280-1)

C

Chin, K. W., Michelle Tiong, H. L., Luang-In, V., & Ma, N. L. (2023). An overview of antibiotic and antibiotic resistance. *Environmental Advances*, 11, 100331. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100331>

D

Das, N., Madhavan, J., Selvi, A., & Das, D. (2019). An overview of cephalosporin antibiotics as emerging contaminants: a serious environmental concern. *3 Biotech*, 9(6), 231. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1766-9>

Djinni, I., Defant, A., Kecha, M., & Mancini, I. (2019). Actinobacteria Derived from Algerian Ecosystems as a Prominent Source of Antimicrobial Molecules. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040172>

Djinni, I., Djoudi, W., Harfi, N., Stambouli, I., Khamtache, S., Makhlouf, D., Yanat, B., Souagui, S., & Kecha, M. (2021). Enhanced Anti- E. coli ST131 Metabolites Production by a Novel Streptomyces sp. CMB51 Strain Isolated from a Coal Mining Soil Using Statistical Optimization. *Geomicrobiology*, 39–52. <https://doi.org/10.1080/01490451.2021.2005186>

Djinni, I., Djoudi, W., Boumezoued, C., Barchiche, H., Souagui, S., Kecha, M., & Mancini, I. (2023). Statistical Medium Optimization for the Production of Anti-Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Metabolites from a Coal-Mining-Soil-Derived Streptomyces rochei CMB47. *Fermentation*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/fermentation9040381>

E

Elwan S.H., Dab A. and Al-Gounaim Y. (1985). Ecology of the Streptomyces flora in the desert soil of Kuwait. *Syst. Appl. Microbiol.*, 6, 99-104.

Ensign, J. C., Normand, P., Burden, J. P., & Yallop, C. A. (1993). Physiology of some actinomycete genera. *Research in Microbiology*, 144(8), 657–660. [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(93\)90070-i](https://doi.org/10.1016/0923-2508(93)90070-i)

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>

H

Hasan, C. M., Dutta, D., & Nguyen, A. N. T. (2021). Revisiting Antibiotic Resistance: Mechanistic Foundations to Evolutionary Outlook. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010040>

Haslay C., Leclerc H. 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. Lavoisier TEC & DOC.

Hayakawa, M., & Nonomura, H. (n.d.). Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *JOURNAL OF FERMENTATION TECHNOLOGY, RESEARCH*. <http://worldveg.tind.io/record/44879>

Horinouchi, S. (2002). A microbial hormone, A-factor, as a master switch for morphological differentiation and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*. *Frontiers in Bioscience : A Journal and Virtual Library*, 7, d2045-57. <https://doi.org/10.2741/A897>

Huang, S., Yu, J., Li, C., Zhu, Q., Zhang, Y., Lichtfouse, E., & Marmier, N. (2022). The Effect Review of Various Biological, Physical and Chemical Methods on the Removal of Antibiotics. *Water*, 14(19). <https://doi.org/10.3390/w14193138>

Husain, M., Tasleem, S., Baqir, S., & Naqvi, S. (2010). An evaluation of the resistance pattern of different clinical isolates of bacteria against Cephadrine and Cefotaxime. 27.

Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 51, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>

J

Jain, M., Khan, S. A., Sharma, K., Jadhao, P. R., Pant, K. K., Ziora, Z. M., & Blaskovich, M. A. T. (2022). Current perspective of innovative strategies for bioremediation of organic pollutants from wastewater. *Bioresource Technology*, 344(Pt B), 126305. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126305>

K

Kämpfer, P. (2006). The Family Streptomycetaceae, Part I: Taxonomy. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, & E. Stackebrandt (Eds.), *The Prokaryotes: Volume 3: Archaea. Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes* (pp. 538–604). Springer New York. https://doi.org/10.1007/0-387-30743-5_22

Klein, E. Y., Van Boeckel, T. P., Martinez, E. M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S. A., Goossens, H., & Laxminarayan, R. (2018). Global increase and geographic convergence in antibiotic

consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(15), E3463–E3470. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717295115>

Koch, N., Islam, N. F., Sonowal, S., Prasad, R., & Sarma, H. (2021). Environmental antibiotics and resistance genes as emerging contaminants: Methods of detection and bioremediation. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100027. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100027>

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

Kong, X.-X., Jiang, J.-L., Qiao, B., Liu, H., Cheng, J.-S., & Yuan, Y.-J. (2019). The biodegradation of cefuroxime, cefotaxime and cefpirome by the synthetic consortium with probiotic *Bacillus clausii* and investigation of their potential biodegradation pathways. *The Science of the Total Environment*, 651(Pt 1), 271–280. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.187>

Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment--a review--part I. *Chemosphere*, 75(4), 417–434. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>

Kulik, K., Lenart-Boroń, A., & Wyrzykowska, K. (2023). Impact of Antibiotic Pollution on the Bacterial Population within Surface Water with Special Focus on Mountain Rivers. *Water*, 15(5). <https://doi.org/10.3390/w15050975>

L

Lacey, J. (1973). Actinomycetes in soils, composts and fodders. *Society for Applied Bacteriology Symposium Series*, 2, 231–251.

Liu, H., Xia, J., Zou, L., & Huo, R. (2022). Comprehensive quantitative evaluation of the water resource carrying capacity in Wuhan City based on the “human–water–city” framework: Past, present and future. *Journal of Cleaner Production*, 366, 132847. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132847>

M

Messaoudi, O., Wink, J., & Bendahou, M. (2020). Diversity of Actinobacteria Isolated from Date Palms Rhizosphere and Saline Environments: Isolation, Identification and Biological Activity Evaluation. *Microorganisms*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121853>

Minden, V., Deloy, A., Volkert, A. M., Leonhardt, S. D., & Pufal, G. (2017). Antibiotics impact plant traits, even at small concentrations. *AoB PLANTS*, 9(2), plx010. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx010>

Moncheva, P., Tishkov, S., Dimitrova, N., Chipeva, V., & Bogatzevska, S. (2002). Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica. *Journal of Culture Collections*, 3.

Moutachakkir, M., Chinbo, M., Elkhoudri, N., & Soraa, N. (2015). La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 28(1), 16–22. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpp.2014.10.007>

N

Nanjwade, B., Chandrashekhara, S., Goudanavar, P., Mohammed, S., & Manvi, F. (2010). Production of Antibiotics from Soil-Isolated Actinomycetes and Evaluation of their Antimicrobial Activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v9i4.58933>

Nzila, A., Razzak, S. A., & Zhu, J. (2016). Bioaugmentation: An Emerging Strategy of Industrial Wastewater Treatment for Reuse and Discharge. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/ijerph13090846>

O

Omura, S. (1992). Trends in the search for bioactive microbial metabolites. *Journal of Industrial Microbiology*, 10(3), 135–156. <https://doi.org/10.1007/BF01569759>

P

Polianciuc, S. I., Gurzău, A. E., Kiss, B., Ștefan, M. G., & Loghin, F. (2020). Antibiotics in the environment: causes and consequences. *Medicine and Pharmacy Reports*, 93(3), 231–240. <https://doi.org/10.15386/mpr-1742>

S

Selvi, A., Salam, J. A., & Das, N. (2014). Biodegradation of cefdinir by a novel yeast strain, *Ustilago* sp. SMN03 isolated from pharmaceutical wastewater. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 30(11), 2839–2850. <https://doi.org/10.1007/s11274-014-1710-4>

Song, C., Wang, G., Sun, X., Chang, R., & Mao, T. (2016). Control factors and scale analysis of annual river water, sediments and carbon transport in China. *Scientific Reports*, 6(1), 25963. <https://doi.org/10.1038/srep25963>

Souagui, S., Djoudi, W., Boudries, H., Béchet, M., Leclère, V., & Kecha, M. (2019). Modeling and Statistical Optimization of Culture Conditions for Improvement of Antifungal Compounds Production by *Streptomyces albidoflavus* S19 Strain of Wastewater Origin. *Anti-Infective Agents*, 17(1), 39–49. <https://doi.org/10.2174/2211352516666180813102424>

Sosa-Hernández, J. E., Rodas-Zuluaga, L. I., López-Pacheco, I. Y., Melchor-Martínez, E. M., Aghalari, Z., Limón, D. S., Iqbal, H. M. N., & Parra-Saldívar, R. (2021). Sources of antibiotics pollutants in the aquatic environment under SARS-CoV-2 pandemic situation. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 4, 100127. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cscee.2021.100127>

Shi, Z., Zhang, J., Tian, L., Xin, L., Liang, C., Ren, X., & Li, M. (2023). A Comprehensive Overview of the Antibiotics Approved in the Last Two Decades: Retrospects and Prospects. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(4). <https://doi.org/10.3390/molecules28041762>

Smaoui S. (2010). Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat, Spécialité Génie de Procédés et Environnement, Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse).251p.

Stackebrandt, E., Rainey, F., & Ward-Rainey, N. (1997). Proposal for a New Hierarchic Classification System, Actinobacteria classis nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47, 479–491. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-479>

Suzuki K., Nagai K., Shimizu Y. and Suzuki Y. (1994). Search for actinomycetes in screening for new bioactive compounds. *Actinomycetologica*, 8, 122–127.

T

Thakare, R., Kesharwani, P., Dasgupta, A., & Nanduri, S. (2020). Antibiotics: past, present, and future (pp. 1–8). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818480-6.00001-1>

Tyurin, A. P., Alferova, V. A., Paramonov, A. S., Shuvalov, M. V, Kudryakova, G. K., Rogozhin, E. A., Zherebker, A. Y., Brylev, V. A., Chistov, A. A., Baranova, A. A., Biryukov, M. V, Ivanov, I. A., Prokhorenko, I. A., Grammatikova, N. E., Kravchenko, T. V, Isakova, E. B., Mirchink, E. P., Gladkikh, E. G., Svirshchevskaya, E. V, ... Korshun, V. A. (2021). Gausemycins A,B: Cyclic Lipoglycopeptides from *Streptomyces* sp.*. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 60(34), 18694–18703. <https://doi.org/10.1002/anie.202104528>

W

Wilke, M. S., Lovering, A. L., & Strynadka, N. C. J. (2005). Beta-lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Current Opinion in Microbiology*, 8(5), 525–533. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.08.016>

Z

Zakaria, A. S., Afifi, S. A., & Elkhodairy, K. A. (2016). Newly Developed Topical Cefotaxime Sodium Hydrogels: Antibacterial Activity and In Vivo Evaluation. *BioMed Research International*, 2016, 6525163. <https://doi.org/10.1155/2016/6525163>

Annexes

Annexe 1

Milieux de cultures et solutions utilisées.

1. Milieux MSM

Eléments de composition	Concentration g/L	Concentration g/500ml	Concentration g/200ml	Concentration g/100ml
K ₂ HPO ₄	1.5g	0.75g	0.3g	0.15g
KH ₂ PO ₄	0.5g	0.25g	0.1g	0.05g
NaCl	1g	0.5g	0.2g	0.1g
NH ₄ Cl	1.5	0.75g	0.3g	0.15g
MgSO ₄ -7H ₂ O	0.2g	0.1g	0.04g	0.02g
FeSO ₄ -7H ₂ O	0.003g	0.0015g	0.0006g	0.0003g
ZnSO ₄ -7H ₂ O	0.0045g	0.00252g	0.0009g	0.00045g
Cefotaxim	0.05g	0.025g	0.01g	0.005g
Agar (pour le milieu solide uniquement)	18g	9g	3.6g	1.8g
Glucose (pour le milieu d'enrichissement uniquement)	4g	2g	0.8g	0.4g

2. Eau physiologique

Chlorure de sodium9g.
Eau distillée1000ml.

3. Rouge congo à 0.1%

Rouge congo.....0.1g.
Eau distillé.....100ml.

4. Solution de chlorure de sodium(NaCl) 1M

Chlorure de sodium.....38g.
Eau distillé.....1000ml.

5. ISP 3

Farine d'avoine : 20g de solution saline standard.....	1ml.
Agar.....	20g.
Eau distillé.....	1L.
PH = 7,2.	

6. ISP 4

Amidon.....	10g.
K ₂ HPO ₄	1g.
MgSO ₄	1g.
NaCl.....	1g.
(NH ₄) ₂ SO ₄	2g.
CaCO ₃	2g.
Agar.....	20g.
Eau distillé.....	1L.
PH= 7.2	

7. Milieu CMC

CMC.....	20g.
Extrait de levure.....	5g.
Agar.....	15g.
Eau distillé.....	1000ml.

8. Milieu sabauraud

Sabauraud	63g.
Agar	14g.
Eau distillé.....	1000ml.
pH= 6	

Annexe 2

Matériels utilisés:

- _ Autoclave (Pbi ALFA-10-Plus).
- _ Bain marie (Raypa)
- _ Balance (Ohaus).
- _ Microscope optique
- _ Centrifugeuse (Bejing era belili centrifuge co.ltd)
- _ Spectrophotomètre (RAYLEIGH)
- _ Bec bunsen (28°C , 37°C).
- _ Etuve (memmert).
- _ Etuve ventilé (Venticell)
- _ pH mètre (Aqwa) .
- _ Réfrigérateur
- _ Vortex
- _ Plaque agitatrice et chauffante

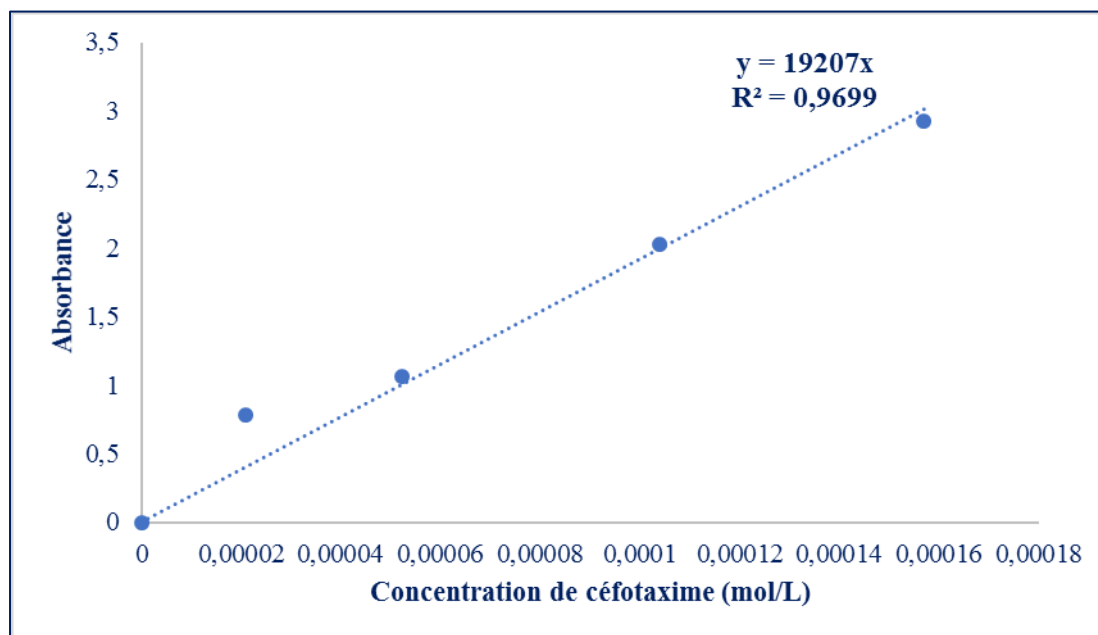
Annexe 3

Tableau de description des souches isolées

SOUCHE	MORPHOLOGIE APRE 7J	COULEUR MICEILLIUM AERIEN	CPULEUR MICELLIUM DE SUBSTRAT	ASPECT DES COLONIE	PIGMENTS DIFFERANCIER
OSMC 70	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	
OSMC 74	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 94	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 95	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	
OSMC 97	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 99	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 100	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 101	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 105	colonies rondes	gris	rose	aspect de craie	
OSMC 106	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	
OSMC 107	colonies rondes	beige	gris	aspect de craie	
OSMC 110	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 112	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	
OSMC 122	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 124	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 125	colonies rondes	beige	begie	aspect de craie	
OSMC 130	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	
OSMC 133	colonies rondes	beige	begie	aspect de craie	
OSMC 136	colonies rondes	beige	begie	aspect de craie	
OSMC 140	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 141	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 142	colonies rondes	beige	begie	aspect de craie	
OSMC 144	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	
OSMC 148	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	
OSMC 149	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 150	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 151	colonies rondes	maron	maron	aspect de craie	
OSMC 154	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	
OSMC 157	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	
OSMC 158	colonies rondes	beige	gris	aspect de craie	
OSMC 160	colonies rondes	blanc	blanc	aspect de craie	
OSMC 161	colonies rondes	beige	beige	aspect de craie	
OSMC 170	colonies rondes	gris	gris	aspect de craie	

Annexe 4

Courbe d'étalonnage de l'absorbance du céfotaxime en fonction de la concentration



Thème : Isolement et criblage de souches d'actinobactéries et évaluation de leur potentiel de dégradation des antibiotiques

Résumé :

Les bêta-lactamines sont utilisés à des fins thérapeutiques et prophylactiques en médecine humaine et vétérinaire, et comme agents de croissance dans les fermes et l'aquaculture. Ils peuvent s'accumuler dans les matrices environnementales, entraînant des effets indésirables chez l'homme et l'animal notamment le développement d'une résistance aux antibiotiques. L'objectif de cette étude est d'isoler des souches d'actinobactéries à partir des sédiments d'Oued Soummam (Bejaia) capables de dégrader le céfotaxime. Après enrichissement et isolement sur milieu MSM additionné de 50mg/L céfotaxime, un total de 33 isolats a été obtenu, dont 22 isolats résistants à une concentration au-delà de 150 mg/L. La souche OSMC130 a été sélectionnée sur la base de sa tolérance et résistance à 225 mg/L de l'antibiotique. Elle a par ailleurs présenté un potentiel antimicrobien remarquable dirigé à l'encontre de bactéries résistantes Gram positif et négatif ainsi que *C. albicans* et *Fusarium oxysporum*. L'étude de la croissance en présence de différentes concentrations de céfotaxime a révélé une production de biomasse maximale de 358mg/L à 25 mg/L de céfotaxime tandis que l'estimation du pourcentage de dégradation semble évoluer dans le temps. En effet, 26,67% de dégradation a été atteint après 12 jours d'incubation et 22,37% a été obtenu après seulement 2 jours.

Mots clés : Bio remédiation, contaminants émergents, beta-lactamines, actinobactéries, céfotaxime.

Abstract :

Beta-lactam antibiotics are used for therapeutic and prophylactic purposes in human and veterinary medicine, and as growth promoters on farms and in aquaculture. They can accumulate in environmental matrices, leading to undesirable effects in humans and animals, notably the development of antibiotic resistance. The aim of this study was to isolate actinobacteria strains from the sediments of Oued Soummam (Bejaia) capable of degrading cefotaxime. After enrichment and isolation on MSM medium supplemented with 50mg/L cefotaxime, a total of 33 isolates were obtained, 22 of which were resistant to concentrations in excess of 150 mg/L. Strain OSMC130 was selected on the basis of its tolerance and resistance to 225 mg/L of the antibiotic. It also showed remarkable antimicrobial potential against resistant Gram-positive and Gram-negative bacteria, as well as *C. albicans* and *Fusarium oxysporum*. The study of growth in the presence of different concentrations of cefotaxime revealed a maximum biomass production of 358mg/L at 25 mg/L cefotaxime, while the estimated percentage of degradation seems to evolve over time. Indeed, 26.67% degradation was achieved after 12 days of incubation, while 22.37% was obtained after only 2 days.

Keywords: Bioremediation, emerging pollutants, beta-lactams, actinobacteria, cefotaxime.

