

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Microbiologie environnementale et  
infectieuse*

### THEME

---

**Etude de l'activité antimicrobienne des extraits  
organiques de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata***

---

**Présenté par :**

**M<sup>lle</sup>. TAKHI Kheira**

**M<sup>lle</sup>. BERKANE Ryma**

**Devant le jury :**

**Président :** Ziane Mohammed, Maitre de Conférences Classe B. Université Aïn Témouchent

**Rapporteur :** Gouzi Hicham, Maitre de Conférences Classe A, Université de Laghouat.

**Co-Rapporteur :** Chaibi Rachid, Maitre de Conférences Classe B. Université de Laghouat.

**Examineur:** Messaoudi Omar, Maitre Assistant Classe A, Université de Laghouat.

**Juin 2016.**

*\*\*\* Dédicace \*\*\**

*En premier je remercie le bon Dieu le tout puissant  
pour le courage et la volonté pour ma réussite.*

*Je dédie avec plaisir et le respect ce modeste mémoire  
à :*

*Mes chers parents pour leurs amour, sacrifice et le  
soutien soutenus Mohamed Nasreddine et Fatiha.*

*Mes grands-mères que le Dieu les garde.*

*Les âmes de mes grands pères Dieu ait ses esprits.*

*Toute ma faille paternelle et maternelle*

*Takhi et Rezzoug.*

*Mes sœurs Keltoum, Selma, Maria et ma jumelle  
Khadidja avec mes meilleurs vœux  
de réussites.*

*Mes frères Ahmed Amine et Mahmoud.*

*Mon fiancé Kiboub Youcef Islame et toute sa famille.*

*Touts Mes amies, mes collègues de la promotion 2016.*

*KHEIRA*



*\*\*\* Dédicace \*\*\**

*Je dédie ce travail,  
Tout d'abord à mes parents Nacer et Bachira  
qui m'ont soutenu tout au long de mes études  
par leur dévouement et abnégation.*

*A mon fiancé Nabil*

*A ma sœur Zina*

*A mon frère Farès*

*\*\*\* RYMA \*\*\**



## REMERCIEMENTS

*Nous tenons tout d'abord à remercier profondément Monsieur GOUZI Hicham, professeur à l'université AMAR Thelidji de Laghouat, de nous avoir prendre en charge sous sa responsabilité, pour mener à bien ce travail si précieux, sous sa direction et ces orientations fructueuses, son soutien et disponibilité. qui ont fait preuve à la fois d'une grande patience, gentillesse et d'un esprit responsable, critique et rigoureux,*

*Aussi nos sincères remerciements vont également à Monsieur Rachid Chaibi, chef de département, sciences de la nature de la vie, pour tout efforts fournis, en vue de nous faciliter l'accès au laboratoire de recherche du département, placé sous sa responsabilité.*

*Sans oublier de remercier Mr Hadjoudja responsable du labo, pour ses bienveillantes orientations en matière de matériels, disponibilité, préservation et utilisation.*

*Egalement nous somme pratiquement redevable aux ingénieurs du laboratoire, pour leurs aides et assistance non négligeables et inoubliables.*

*Nous exprimons nos sincères reconnaissances et remerciements, à nos docteurs et professeurs de notre université, pour leurs bonne prise en charge, leurs patience, aussi pour tout efforts et sacrifices consenties, en vue de nous assurer une bonne compréhension et assimilation, tous le long de nos études universitaire à ce jour.*

*Les règles de bienséance exige que nous exprimons notre gratitude, aux personnes qui, de diverses façons et à différents moments, nous ont apporté leurs aides et leur soutien,*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude aux membres du jury qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.*

## Résumé

Ce travail s'intéresse à la valorisation biologique d'une algue marine rouge *Asparagopsis armata* de la côte de Mostaganem (Salamandre). Différents extraits de cette algue ont été testés pour leurs pouvoirs antimicrobiens. L'activité antimicrobienne est déterminée par deux méthodes de diffusions (puits et disques) des extraits acétonique, hénanique et méthanolique sur la croissance des souches bactériennes pathogènes Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) et une souche fongique (*Candida albicans*) responsables des maladies humaines.

Les extraits hénanique et méthanolique sont plus actifs sur les bactéries Gram positif que sur les bactéries Gram négatif. Par contre, ces dernières sont fortement inhibées que par l'extrait acétonique. Parmi les extraits testés, seul l'extrait méthanolique a l'activité antifongique la plus élevée sur *Candida albicans*.

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des extraits hénanique, méthanolique, acétonique d'*Asparagopsis armata* ainsi déterminée sont comprises entre 1 à 3 mg/ml.

L'algue *Asparagopsis armata* est une source naturelle prometteuse de substances antimicrobiennes qui peuvent utilisées dans le domaine pharmaceutique.

**Mots clés :** Algue rouge, *Asparagopsis armata*, solvant, extraction, Activité antimicrobienne, CMI.

## Abstract

This work focuses on the biological recovery of a red algae *Asparagopsis armata* of the coast of Mostaganem (Salamander). Various extracts of this algae were tested for their antimicrobial powers. The antimicrobial activity is determined by two methods of diffusion (wells and discs) of acetone extracts, hexane and methanol on the growth of Gram-negative pathogenic bacterial strains (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) and Gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*) and a fungal strain (*Candida albicans*) responsible for human diseases.

The methanol and hexane extracts are more active against Gram-positive bacteria than Gram-negative bacteria. On the other hand, they are strongly inhibited by the acetone extract. Among the extracts tested, only the methanol extract was the highest antifungal activity against *Candida albicans*.

The Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of hexane extracts, methanol, and acetone of *Asparagopsis armata* so determined are 1 to 3 mg / ml.

The *Asparagopsis armata* algae is a promising source of natural antimicrobial substances which may be used in the pharmaceutical field

**Key words:** Red algae, *Asparagopsis armata*, solvent, extraction, antimicrobial activity, MIC.

## ملخص

يركز هذا العمل على التقييم البيولوجي للطحلب البحري الأحمر *Asparagopsis armata* لسواحل مستغانم (سلمندر)، تم اختبار مستخلصات مختلفة من هذه الطحالب للقوى المضادة للجراثيم. يتم تحديد نشاط مضادات الميكروبات من قبل اثنين من أساليب الانتشار (حفر وأقراص) للمستخلصات الأسيونونية، الهكسانية و الميثانولية على تكاثر السلالات البكتيرية سالبة الغرام (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa*) و بكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) و سلالة فطرية *Candida albicans* المسؤولة عن الأمراض التي تصيب البشر.

تعتبر المستخلصات الميثانولية و الهكسانية أكثر نشاطا على البكتيريا موجبة الغرام على عكس البكتيريا سالبة الغرام. بالمقابل هذه الأخيرة قام بتثبيطها المستخلص الأسيونوني. من بين المستخلصات المدروسة: المستخلص الميثانولي الوحيد الذي له تأثير مضاد لفطريات *Candida albicans*.

التركيزات الدنيا المبيدة للجراثيم (CMI) للمستخلصات الأسيونونية، الهكسانية و الميثانولية ل *Asparagopsis armata* محصورة بين 1 و 3 مغ/مل.

الطحلب البحري *Asparagopsis armata* مصدر طبيعي للمواد المضادة للمكروبات و التي تستخدم في مجال المستحضرات الصيدلانية.

**الكلمات المفتاحية :** الطحلب الأحمر, *Asparagopsis armata*, مذيب, استخلاص, النشاط المضاد البكتيري CMI.

## *Sommaire*

	<b>Page</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	I
<b>Liste des tableaux</b> .....	III
<b>Liste des figures</b> .....	IV
<b>Liste des photos</b> .....	V
<b>Introduction</b> .....	01
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	<b>03</b>
<b>Chapitre 1. Aspects généraux sur la biologie des algues</b> .....	<b>03</b>
1. Généralités sur les algues marines.....	03
2. Définition et position dans le règne végétal.....	03
3. Structure des algues.....	03
3.1. Les algues unicellulaires.....	03
3.2. Les algues pluricellulaires.....	04
4. Distribution et classification des algues.....	04
5. Compositions bioactives des algues marines.....	07
5.1. Phlorotannins.....	07
5.2. Polysaccharides sulfatés (SPS).....	07
5.3. Caroténoïdes.....	07
5.4. Peptides.....	08
5.5. Acides gras polyinsaturés (AGPI).....	08
5.6. Fucostérol.....	09
5.7. Sels minéraux.....	09
6. Composition et valeur nutritive des algues.....	09
8. <i>Asparagopsis armata</i> .....	10
8.1. Habitat.....	11
8.2. Taxonomie.....	11
8.3. Reproduction.....	12
8.4. Espèces similaires.....	13
<b>Chapitre 2. Généralité sur les microorganismes pathogènes étudiés</b> .....	<b>14</b>
1. Notion de pouvoir pathogène.....	14
2. Les bactéries à Gram positif.....	14

2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
2.2. <i>Bacillus cereus</i> .....	15
2.3. <i>Micrococcus luteus</i> .....	16
3. Les bactéries à Gram négatif.....	17
3.1. <i>Escherichia coli</i> .....	17
3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	17
3.3. <i>Klebsiella pneumonies</i> .....	18
4. La levure : <i>Candida albicans</i> .....	19
<b>Matériel et méthodes</b> .....	<b>20</b>
1. Matériel végétal.....	20
2. Souches microbiennes.....	21
3. Préparation des extraits d'algues.....	21
4. Calcul du rendement d'extraction.....	22
5. Test de sensibilité aux antibiotiques .....	23
6. Tests antimicrobiens.....	23
7. Préparation des précultures.....	24
8. Technique de diffusion en milieu solide.....	24
8.1. méthode des puits.....	24
8.2. Méthode des disques.....	24
9. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	25
<b>Résultats et discussion</b> .....	<b>26</b>
1. Rendement des extraits bruts.....	26
2. L'activité antibactérienne.....	27
2.1. Résultats de tests de sensibilité aux antibiotiques.....	27
2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur puits.....	29
2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disques.....	34
2.4. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	36
Conclusion.....	37

## **Références bibliographiques**

### **Annexe**

## *Liste des abréviations*

**AGPI:** Acides gras polyinsaturés.

**AK:** Amikacin 30 µg.

**AML:** Amoxicilline 30 µg.

**AMP:** Ampicilline 10 µg.

**ATCC:** American Type Culture Collection.

**IBMC:** Institut de biologie moléculaire et cellulaire.

**IMI :** Imipenème 10µg.

**B.c:** *Bacillus cereus*.

**BN:** Bouillon nutritive.

**C.a:** *Candida albicans*.

**CIP:** Ciprofloxacine 5 µg.

**CMI:** Concentration minimale inhibitrice.

**CN:** Gentamicine 10 µg.

**CNS:** Staphylocoques coagulase-négatifs.

**CT:** Colistine 10 µg.

**CTX:** Céfataxime 30 µg.

**D.O:** Densitomètre.

**E.c:** *Escherichia coli*.

**ERY:** Erythromycine.

**F:** Nitrofurantoïne 300 µg.

**FOS:** Fosfomicin 50 µg.

**FOX:** Cefoxitine 30 µg.

**G - :** Gram négatif.

**G + :** Gram positif.

**GN:** La gélose nutritive.

**IMI:** Imipenème 10 µg.

**K.p :** *Klebsiella pneumonies*.

**KZ:** Cefazolin 30 µg.

**LAAPSAB-Tlemcen:** Laboratoire Antibiotiques Antifongiques Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique de l'Université de Tlemcen.

**LAPRONA:** Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen).

**M.I:** *Micrococcus luteus*.

**MH:** Müller –Hinton.

**MNHN:** Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris).

**MRSA:** *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline.

**NA:** Acide Nalidixique 30 µg.

**Ox:** Oxacilline.

**P.a:** *Pseudomonas aeruginosa*.

**S.a:** *Staphylococcus aureus*.

**S.aureus:** *Staphylococcus aureus*.

**SPS:** Polysaccharides sulfatés.

**SXT:** Trimethoprim-Sulfamethoxazole 25 µg.

**TIM 75 µg:** Ticarciline+ Acide Clavulanique 10µg.

**UFC:** Unité formant colonie.

## *Liste des tableaux*

	<b>Page</b>
<b>Tableau 01.</b> Analyse globale moyenne des algues en général.	11
<b>Tableau 02.</b> Analyse moyenne des matières sèches.	11
<b>Tableau 03.</b> Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antibactérienne.	22
<b>Tableau 04.</b> Rendement de différents extraits d' <i>Asparagopsis armata</i> .	27
<b>Tableau 05.</b> Résultats de l'antibiogramme des germes étudiés en présence de quelques antibiotiques et l'antifongique Nystatin.	28
<b>Tableau 06.</b> Résultats de la méthode des puits de l'effet antimicrobien des extraits méthanolique, acétonique et hexaniques de l'algue rouge <i>Asparagopsis armata</i> .	31
<b>Tableau 07.</b> Résultats de la méthode des disques de l'effet antimicrobien des extraits méthanolique, acétonique et hexaniques de l'algue rouge <i>Asparagopsis armata</i> .	36
<b>Tableau 08.</b> CMI (exprimée en mg/ml) de l'extrait méthanolique d' <i>A. armata</i> (dont les diamètres des zones d'inhibition sont $\geq 20$ mm) relatives aux bactéries testées.	38

## Liste des figures

	<b>Page</b>
<b>Figure 01.</b> Zonation verticale des macroalgues marines.	07
<b>Figure 02.</b> La morphologie de l'algue rouge <i>Asparagopsis armata</i> .	12
<b>Figure 03.</b> Le cycle de développement d' <i>Asparagopsis armata</i> .	14
<b>Figure 04.</b> La morphologie de l'algue rouge <i>Asparagopsis</i> .	14
<b>Figure 05.</b> Coloration de Gram des <i>staphylococcus aureus</i> .	16
<b>Figure 06.</b> Coloration de Gram des <i>Bacillus cereus</i> .	17
<b>Figure 07.</b> Coloration de Gram des <i>Micrococcus luteus</i> .	17
<b>Figure 08.</b> <i>Escherichia coli</i> au microscope électronique.	18
<b>Figure 09.</b> Coloration de Gram des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	19
<b>Figure 10.</b> Observation microscopique de <i>Klebsiella pneumonies</i> .	20
<b>Figure 12.</b> Station de la récolte de l'algue rouge marine <i>Asparagopsis armata</i> .	21
<b>Figure 13.</b> Histogramme de rendement de l'extraction.	27
<b>Figure 14.</b> Histogramme de l'augmentation de la zone d'inhibition de <i>S.aureus</i> avec le volume de différents extraits d' <i>Asparagopsis armata</i> .	32
<b>Figure 15.</b> Histogramme de l'effet de différents extraits d' <i>asparagopsis armata</i> sur les souches bactériennes et <i>Candida albicans</i> (méthode de puits).	33

## *Liste des photos*

	<b>Page</b>
<b>Photo 01.</b> Photo de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i> à l'état frais.	21
<b>Photo 02.</b> Photo de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i> .	23
<b>Photo 03.</b> Photo de la macération d'algue marine <i>Asparagopsis armata</i> .	23
<b>Photo 04.</b> Effet des antibiotiques sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.	29
<b>Photo 05.</b> Effet de la Nystatine à 10 µg/disque sur la levure <i>Candida albicans</i> .	30
<b>Photo 06.</b> Résultats de l'effet des différentes concentrations d'extraits d' <i>Asparagopsis armata</i> sur les souches microbiennes par la méthode de diffusion sur puits.	34
<b>Photo 07.</b> Résultats de l'effet de différentes concentrations d'extraits d' <i>Asparagopsis armata</i> sur quelques souches microbiennes par la méthode de diffusion sur disques.	35
<b>Photo 08.</b> Résultats de détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait d' <i>Asparagopsis armata</i> sur <i>Micrococcus luteus</i> avec T : témoin.	38

# *Introduction*

Les microorganismes pathogènes sont responsables de plusieurs maladies épidémiques et pandémiques. Dès lors, la quête des substances anti-infectieuses est devenue un intérêt de santé publique. A partir d'une succession d'observations et de travaux de nombreux chercheurs dont Pasteur, Joubert, Duchesne puis Fleming, la quête a abouti à la découverte des antibiotiques (Rosset, 2003).

L'avènement de ces nouvelles molécules au lendemain de la seconde guerre mondiale fut un avantage important pour l'Homme dans cette lutte contre les maladies infectieuses. Elles ont permis de sauver de nombreuses vies. Ainsi l'introduction des antibiotiques en thérapeutique a fait progresser l'espérance de vie de l'Homme de plus de dix années, sans doute plus qu'aucun autre traitement médical (McDermott et Rogers, 1982).

Après moins d'un demi-siècle d'existence, ce brillant tableau affiché par ces anti-infectieux s'assombri progressivement. Durant ces 30 dernières années, les infections microbiennes sont devenues récurrentes du fait de l'apparition progressive des microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques. La surconsommation des antibiotiques a aidé ces microorganismes dotés d'un incroyable pouvoir d'adaptation à prendre progressivement le dessus sur les antibiotiques (Duchesne, 1997).

Par ailleurs, cette situation pourrait aussi s'expliquer par la réduction de la recherche en antibiothérapie depuis les années 1980. La mise sur le marché de nouvelles molécules antimicrobiennes par les firmes pharmaceutiques s'est appauvrie progressivement depuis cette période (Bush, 2004).

En raison d'une demande croissante dans la recherche de nouveaux médicaments d'origine naturelle où il y a une grande variété d'organismes végétaux parmi eux les algues marines. (Gonzalez del Valle et *al.*, 2001). Ces derniers sont des organismes photosynthétiques, ainsi qu'elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal. Les algues sont riches en métabolites qui peuvent être des composés bioactifs (Tüney, 2006; Al-Mola, 2009; Rajasulochana et *al.*, 2009a). Ce sont donc une source potentielle et prometteuse d'agents pharmaceutiques d'activités biologiques des algues sont très diverses : antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, cytotoxiques, ainsi que d'autres activités. (Chbani et *al.*, 2011).

Harder (1917) fut le premier à mettre en évidence des substances antimicrobiennes sécrétées par les algues (Salvador et *al.*, 2007; Shanmughapriya et *al.*, 2008). Toutefois, les agents antimicrobiens dans les extraits d'algues ne sont explorés que depuis les années 1950 (Kajiwara et *al.*, 2006). De nombreuses espèces d'algues marines

possèdent des substances bactéricides ou bactériostatiques. Parmi ces substances les terpènes, les phlorotannins, les stéroïdes, les composés phénoliques, les cétones et les alcanes halogénés, les polysulfures cycliques, les acides gras et l'acide acrylique (Mtolera et Semesi, 1996; Taskin, 2007; Shanmuga Priya et al., 2008; Patra et al., 2009) sont décrits du genre *Asparagopsis*. Cette algue marine rouge appartient aux membres de la famille des *Bonnemaisoniaceae* qui possèdent des cellules spécialisées (Womersley, 1998 ; Young, 1977) typiquement connues comme vésicule ou des glandes cellulaire (Paul et al., 2006).

Plusieurs travaux ont montré que les extraits organiques de l'algue rouge *Asparagopsis* prévenants de différentes régions marines ont des activités antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, cytotoxiques, anticancéreuses et antiparasitaires (Bensaada et Faltane ; 2015).

D'après nos connaissance, la biomasse algale des côtes marines Algériennes n'as pas encore était exploité comme source potentielle d'agent antimicrobien.

Récemment, Mostefoui. F ; Abdellaoui. A, ont trouvé que les extraits d'algue *Asparagopsis* récoltée de la région de Mostaganem ont une activité antifongique sur l'espèce de *Fusarium graminearum* (Mostefoui et Abdellaoui, 2015) et également a un effet antibactérien considérable (Benyahia et Bentaher, 2015).

Pour cela, l'objectif du présent travail est de mettre en évidence *in vitro* les propriétés antimicrobiennes, des extraits méthanoliques de l'espèce d'algue marine : *Asparagopsis armata* de la côte de Mostaganem (Algérie) sur des souches pathogènes pour l'homme.

-La première partie de ce document est consacrée à une synthèse bibliographique sur les algues marines, ainsi qu'un aperçu sur les composés phénoliques en général et ceux des algues marines en particulier. L'activité biologique antimicrobienne de ces composés est aussi évoquée.

-La seconde partie du manuscrit est consacrée à la partie expérimentale, à savoir :

- Extraction des composés organiques à partir de l'espèce d'algue marine *Asparagopsis armata*.
- Evaluation de leur activité antimicrobienne de l'extrait de cette algue préparé à l'aide de trois solvants organiques (Acétone, méthanol et hexane) vis-à-vis des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*), Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*) et une levure (*Candida albicans*) en utilisant deux méthodes de diffusion sur milieu Müeller-Hinton (méthode de puits et méthode de disques)
- la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

- Enfin la troisième partie présente les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

*Synthèse  
bibliographique*

# *Chapitre 01*

*Aspects généraux sur les algues  
marines*

## 1. Généralités sur les algues marines

Les algues marines sont des plantes primitives qui poussent en abondance dans des eaux de mers allant jusqu'à 180 mètres de profondeur, dans les estuaires et dans les eaux stagnantes (Kumar et *al.*, 2009; Manivannan et *al.*, 2009). Les algues sont utilisées depuis longtemps comme nourriture, engrais et en médecine comme source de médicaments (Manivannan et *al.*, 2008; Shanmugam et Palpandi, 2008; Manivannan et *al.*, 2009). L'utilisation des algues marines dans l'alimentation humaine fait partie du style de vie de plusieurs pays d'Extrême-Orient et du pacifique, notamment au Japon. En moyenne, les Japonais consomment 1,4 kg d'algues par personne annuellement (Burtin, 2003 ; Ganesan et *al.*, 2008 ; Karacalar et Turan, 2008).

Aujourd'hui les algues sont la matière première pour de nombreuses productions industrielles comme l'agar, les alginates et les carraghénanes (Manivannan et *al.*, 2008; Shanmugam et Palpandi, 2008; Manivannan et *al.*, 2009), mais elles continuent à être largement consommées comme aliments dans les pays asiatiques (Manivannan et *al.*, 2008; Manivannan et *al.*, 2009).

## 2. Définition et position dans le règne végétal

Les algues sont des êtres vivants appartenant au règne végétal. Elles constituent un ensemble hétérogène, souvent défini d'une manière négative, c'est-à-dire absence de racines, de tiges et de feuilles (Gayral, 1975). Leur organisation rudimentaire les fait classer à la base de la série végétale parmi les Cryptogames, et plus précisément dans le vaste groupe des Thallophytes. L'ensemble du groupe algal est caractérisé par la présence d'un pigment vert: la chlorophylle . L'eau est le milieu normal pour la vie des algues. Ce sont donc des : « Thallophytes eucaryotes, chlorophylliens et aquatiques (Naegelé, 1967).

## 3. Structure des algues

### 3.1. Les algues unicellulaires

Ce sont les seules protistes eucaryotes autotrophes car dotés de chloroplastes et pratiquant la photosynthèse. Les algues unicellulaires se différencient par la nature de

leurs pigments, la présence ou l'absence d'une paroi, le nombre et la disposition des flagelles (Guy, 2007). Les algues unicellulaires se multiplient couramment par division binaire, leurs dimensions moyennes de quelques micromètres (Davet, 1996). La plupart des algues unicellulaires ou formant de petites colonies appartiennent à l'un des sept embranchements suivants : *Euglénophytes*, *Dinophytes*, *Bacillariophytes*, *Xanthophytes*, *Chrysophytes*, *Cryptophytes* et *Prymnésiophytes*. (Nabors, 2009).

### 3.2. Les algues pluricellulaires

Trois embranchements *Phéophytes*, *Chlorophytes* et *Rhodophytes* renferment les algues pluricellulaires présentant un degré de différenciation cellulaire et une organisation des types cellulaires. Alors que de nombreuses espèces unicellulaires sont présentes chez les *Chlorophytes* et les *phéophytes*, les *Rhodophytes* sont très largement pluricellulaires, la reproduction sexuée est la règle dans ces trois embranchements et de nombreuses espèces ont des cycles de vie complexes impliquant une alternance de génération dans de tel cycle de vie, deux formes alternant : une forme diploïdes, reproductrice de spores, appelées *Sporophytes*, et une forme haploïde productrice de gamètes appelées *Gamétophytes*. (Alayse, 1997)

### 4. Distribution et classification des algues

La masse principale de la végétation marine est formée par les algues (Naegelé, 1967). Quelques genres seulement de *Phanérogames*, de *Bryophytes* et de *Lichens*, participent pour une part relativement faible, au peuplement végétal des milieux aquatiques (Gayral, 1975). Les algues marines peuvent être planctoniques (Naegelé, 1967; Gayral, 1975; Barsanti et Gualtieri, 2006; Barsanti et al., 2008), comme c'est le cas des espèces microscopiques qui, passives ou douées de mobilité, se maintiennent en flottaison dans l'eau et constituent le phytoplancton (Gayral, 1975).

Elles peuvent être benthiques (Naegelé, 1967; Gayral, 1975; Barsanti et Gualtieri, 2006; Barsanti et al., 2008), ce sont des algues de plus grandes tailles, flottantes ou fixées, constituant l'essentiel de la végétation benthique (phytobenthos) (Gayral, 1975). Les algues benthiques peuvent pousser sur des pierres (épilithiques), sur la boue ou du sable (épipeliques), sur d'autres plantes (épiphytes) ou sur des animaux (épizootiques) (Barsanti et Gualtieri, 2006 ; Barsanti et al., 2008).

Les algues peuvent adopter plusieurs classifications. Parmi celles-ci, les classifications s'épaulant sur la composition pigmentaire et la distribution dans l'eau. En se basant sur la composition pigmentaire nous avons les groupes suivants :

- **Les algues vertes (*Chlorophytes*)**

Les *Chlorophycophytes* comptent environ 10 000 espèces. Ce groupe est très homogène en ce qui concerne la composition pigmentaire et le métabolisme glucidique. Toutes les algues appartenant à cet embranchement renferment les chlorophylles a et b, du  $\beta$ -carotène et des oxycarotènes (Bezanger et *al*, 1990).

- **Les algues brunes (*Phéophytes*)**

Ce sont des algues de couleur brune ou olivâtre, jamais unicellulaires, à appareil végétatif souvent complexe. Les cellules, uninucléées, renferment des plastes (*phéoplastes*) pourvus de chlorophylles a et c et des quantités notables de caroténoïdes (fucoxanthine en particulier) (Ozenda, 2000).

- **Les algues bleues (*Cyanobactéries*)**

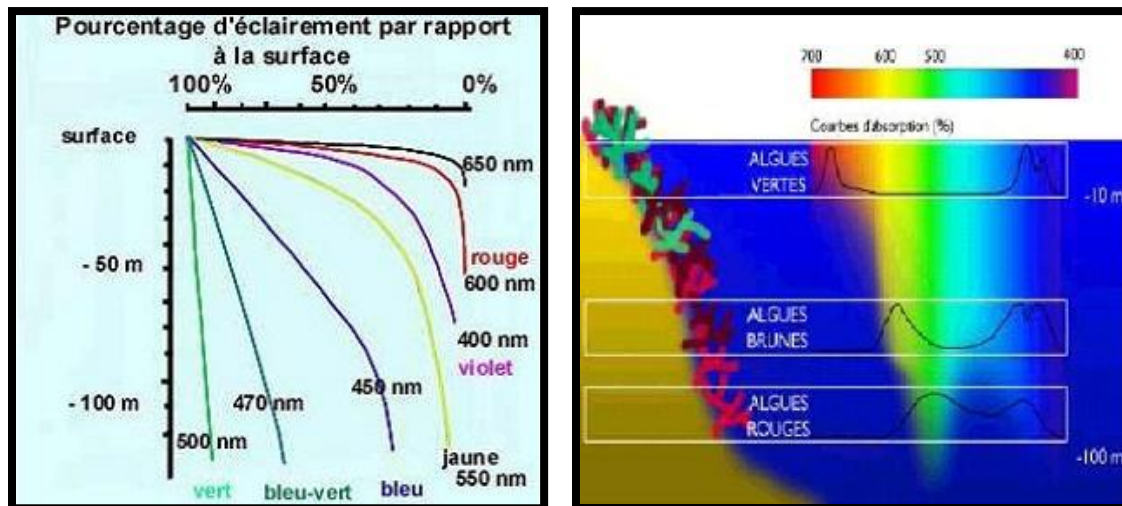
Ces organismes, unicellulaires ou pluricellulaires, ont longtemps été inclus dans les algues et nommés algues bleues en raison, en particulier, de leur habitat aquatique. Il est actuellement admis que leur ultrastructure, de type procaryote, indique une parenté certaine avec les bactéries, justifiant le terme de *Cyanobactéries* qui leur est désormais appliqué. Ce sont des organismes formés de cellules ou de filaments microscopiques, mais qui se développent souvent simultanément pour constituer soit des colonies visibles à l'œil nu soit des populations très importantes formant des "fleurs d'eau" exploitées depuis longtemps dans certaines régions (spirulines au Tchad ou au Mexique, par exemple) (FAO, 1987 ; Donadieu, 1985).

- **Les algues rouges (*Rhodophytes*)**

L'origine de ce groupe de plus de 7000 espèces de *Rhodophytes* (Peter, 2011). Il existe moins de 100 espèces différentes d'algues rouges dans l'eau douce (Nabors, 2009). Les algues rouges constituent l'embranchement des *Rhodophyta* (dans la nouvelle classification, elles deviendraient un règne à part entière dans le domaine *Eukarya*). (Tortora, 2003). Sont particulièrement abondantes dans les eaux tropicales et chaudes, mais on en trouve aussi beaucoup dans les régions plus froides du globe. La grande

majorité des algues rouges sont des algues marines macroscopiques et leur structure est plus complexe (Peter, 2003). Cette lignée est dépourvue de flagelles et de centrioles et possède des pigments photosynthétiques bien adaptés pour absorber la lumière verte qui pénètre dans les eaux profonds, ou les algues rouges sont bien représentées. (Peter, 2003). Peuvent aller d'une taille microscopique aux lames de 2m (Peter, 2011). Les *Rhodophycytes* ont une couleur rouge plus ou moins nette, due à la présence dans leur appareil plastidial de la phycoérythrine. Dans les cellules de ce groupe, les réserves glucidiques figurées sont des grains de rhodamylon (amidon extraplastidial) colorable en brun et non en bleu par l'iode (Gayral, 1975).

La plupart des algues rouges possèdent un thalle finement découpé et peuvent vivre à de plus grandes profondeurs océanique que les autres algues. Les thalles de quelques algues rouges forment des revêtements croulés sur les roches et les coquillages. Les pigments rouges permettent à ces algues d'adsorber la lumière bleue, qui pénètre plus profondément dans la mer (tortora, 2003).



**Figure 01** : Zonation verticale des macroalgues marines (Cormaci et Furnari, 2005).

La chlorophylle absorbe surtout les radiations rouges et puisque celles-ci ne pénètrent plus en profondeur, les algues vertes ne peuvent plus vivre. Au contraire les algues qui croissent en profondeur, les *Rhodophycées* en particulier utilisent grâce à leurs pigments les radiations qui pénètrent plus profondément (Dejean-Arrecgros et Pierre, 1977).

## 5. Compositions bioactives des algues marines

### 5.1. Phlorotannins

Les phlorotannins sont des composés phénoliques, qui ont été identifiés à partir de plusieurs familles d'algues brunes, telles que les *Alariaceae*, les *Fucaceae* et les *Sargassaceae*. Beaucoup d'études ont prouvé que les phlorotannins sont le seul groupe phénolique détecté en algues brunes et peuvent constituer jusqu'à 15 % de leurs poids sec. Les phlorotannins sont les composants fortement hydrophiles avec une large gamme de taille moléculaire entre 126 et 650 kDa (Sathya et al., 2013). En outre, il a été rapporté que les *Laminariaceae* sont plus riches en phlorotannins comparés à d'autres algues marines (Kannan et al., 2014).

Les phlorotannins ont plusieurs activités biologiques salutaires de santé, y compris l'activité antioxydante qui est fortement liée aux cycles de phénol qui agissent en tant que pièges d'électron pour éliminer les peroxydes, aux anions de radicaux d'hydroxyle. (Sathya et al., 2013).

### 5.2. Polysaccharides sulfatés (SPS)

Les algues marines sont la source la plus importante de SPS non animal et la structure chimique de ces polymères change selon l'espèce d'algues. La quantité présente de SPS s'avère différer selon les trois divisions principales des algues marines, *Chlorophyceae*, *Rhodophyceae*, et *Phéophyceae*. Les principales SPS trouvées dans les algues marines incluent des fucoidan et des laminarans d'algues brunes et du carraghénanes des algues rouges, et ulvan des algues vertes. L'activité antioxydante du SPS dépend de leurs dispositifs structuraux tels que le degré de sulfatage, de poids moléculaire, de type du sucre majeur, et d'embranchement glycosidiques. Par exemple, le SPS à faible poids moléculaire montre une activité antioxydante efficace que SPS de poids moléculaire élevé. En outre, le SPS des algues marines sont connus pour être des extracteurs et des antioxydants de radicaux libres importants pour la prévention des dommages oxydants, qui sont un contributeur important dans la carcinogénèse (Li et Kim, 2011 ; Kannan et al., 2014).

### 5.3. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments organiques tétraterpenoid, ce sont synthétisé naturellement au niveau des chloroplastes et des chromoplastes des plantes et quelques autres organismes photosynthétiques comme les algues, quelques types de mycète et bactéries. Les caroténoïdes communs, comme la lutéine, l'astaxanthine, et la zéaxanthine, sont connus comme xanthophylles mais le fucoxanthine et l'astaxanthine (sont les constituants principaux des caroténoïdes d'algues marins. Le fucoxanthine est l'un des caroténoïdes marins le plus abondants, et contribue plus que 10 % de toute la production estimée des caroténoïdes en nature, spécialement dans l'environnement marin (Rengasamy et *al.*, 2014). C'est une xanthophylle, de la formule  $C_{42}H_{58}O_6$ , se trouvant comme pigment accessoire dans les chloroplastes des algues brunes, par exemple, *Sargassum siliquastrum* en leur donnant une couleur brune ou verte-olive (Wijesinghe et *al.*, 2012).

### 5.4. Peptides

Il y a une grande évidence suggérant que l'algue est dérivée des protéines et des fragments de peptide qui peuvent exercer des effets biologiques *in vitro* et *in vivo*. Les peptides bioactives peuvent être produits par des réactions hydrolytiques en utilisant des diverses protéases.

La structure primaire des protéines naturelles se compose de certaines séquences d'acide aminé qui ont la capacité d'exercer les avantages physiologiques dans les êtres humains. Ce genre de peptides est inactif dans la séquence de la protéine parentale et peut être libéré dans différentes manières telles que l'hydrolyse par les enzymes digestives et par les micro-organismes protéolytiques.

Récemment les peptides marins ont ouvert une nouvelle perspective dans le développement pharmaceutique. Les protéines et les peptides biologiquement actifs ont été isolés non seulement dans les animaux marins, mais également dans les algues. En ce qui concerne les potentialités nutraceutiques et pharmaceutiques, différents protéines et peptides avec diverses bioactivités ont été découverts.

Quelques espèces rouges ou vertes d'algue contiennent une quantité de protéines considérablement élevé. Cependant, l'extraction de la protéine de la plupart des algues est difficile en présence de grandes quantités de polysaccharides dans les cloisons cellulaires,

tels que des alginates de *phéophycées* ou les carraghénanes de certains *Rhodophycées* (Wijesinghe et Jeon, 2012).

### 5.5. Acides gras polyinsaturés (AGPI)

Les phospholipides et les glycolipides sont les principales classes de lipides présents dans les algues. Lorsque la température de l'environnement diminue, les algues peuvent accumuler des acides gras polyinsaturés (AGPI). Les espèces qui vivent dans les régions froides contiennent plusieurs AGPI que les espèces vivant dans des températures plus élevées. AGPI à chaîne longue font partie de l'entretien de la santé de l'homme et ils ne sont synthétisés que par les plantes. Ces lipides sont constitués d'au moins 20 atomes de carbone avec au moins deux doubles liaisons.(Chojnacka, 2012).

### 5.6. Fucostérol

Tous les eucaryotes contiennent universellement grandes quantités (20 à 30 %) des stérols plus élevées dans leurs membranes plasmiques. Les règnes eucaryotes ont différents stérols plus élevées pour leur armature de membrane, tels que le cholestérol chez les animaux, l'ergostérol dans les champignons et le phytostérol chez les plantes. Les phytostérols (stérols végétaux) sont des triterpènes.

Fucostérol est un phytostérol trouvé dans les algues brunes bien reconnu pour ses activités biologiques bénéfiques pour la santé, tels que, les antioxydants, réduction du cholestérol, et des activités antidiabétiques. (Li et Kim, 2011).

### 5.7. Sels minéraux

Les algues sont une source riche en minéraux. Leur contenu dans la biomasse est parfois aussi élevée que 40%. Ceci est dû à l'accumulation des ions métalliques de l'eau salée par les algues et la concentration des substances, comme les sels de carbonate, dans leurs thalles.

Quand les chercheurs ont examiné la teneur en minéraux dans les algues récoltées sur les plages japonaises, ils montrèrent que les ions de concentrations plus élevées sont le potassium (2,71 g / L), le magnésium (0,19 g / L) et le calcium (0,16 g / L) qui ont été détectés dans l'extrait de *Sargassum ringgoldianum*. *Codium fragilea* été montré d'être une source riche d'ions de sodium (1,21 g / L). *Kappaphycus alvarezii* contient des

niveaux élevés d'ions de magnésium (581,20 mg / l) et de calcium (460,11 mg / L) (Chojnacka, 2012).

**6. Composition et valeur nutritive des algues**

Les algues sont caractérisées par une composition chimique riche et prometteuse. L'analyse de la matière sèche révèle une richesse en protéines, glucides, vitamines, oligoéléments et en pigments (chlorophylles, caroténoïdes, xanthophylles et phycobilines) (Ismail et Hong, 2002 ; Duan *et al.*, 2006 ; Donadieu, 1985 ; Ganesan *et al.*, 2008) ( tableau 01 et 02) ;

**Tableau 01.** Analyse globale moyenne des algues en général (Donadieu, 1985).

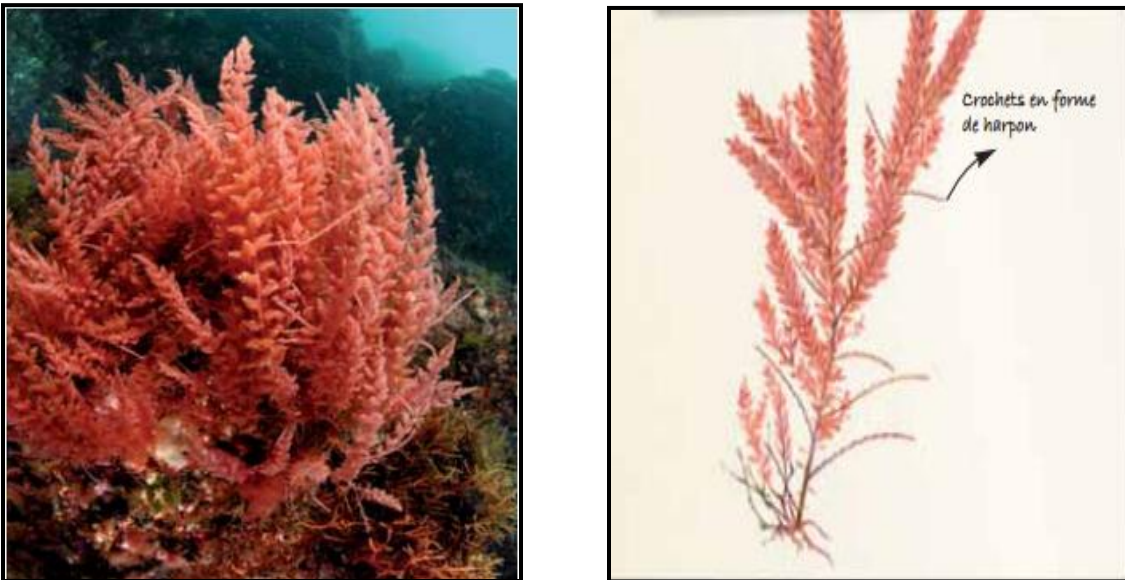
Analyse globale moyenne	
Eau.....	80%
Matière sèches .....	20%
Matière organiques.....	15%
Matière minérales .....	5%

**Tableau 02.** Analyse moyenne des matières sèches (Donadieu, 1985).

Matières organiques (75%)	Matières minérales (25%)
<p><b>Glucides (60%) :</b>(Alginate, carraghénanes, fucosanes, gélose, laminarine et cellulose)</p> <p><b>Protides (10%) :</b>(Aspartate, glutamate, alanine, arginine, asparagine, cystéine, glycine, histidine, etc...).</p> <p><b>Lipides (5%).</b></p> <p><b>Vitamines</b> (Vitamine A, B1, B2, B3, B6, B12, C, D, E et vitamine K).</p> <p><b>Pigments</b> (Chlorophylles, carotènes, xanthophylles et phycobilines).</p>	<p><b>En grande quantité</b> (Potassium, chlore, sodium, magnésium, soufre, iode, fer cuivre et manganèse).</p> <p><b>En faible quantité</b> (Aluminium, argent, arsenic, barium, chrome, cobalt, Fluor, nickel, or, plomb, sélénium et zinc).</p>

### 8. *Asparagopsis armata*

Algue rouge caractérisée par deux stades morphologiquement différents au cours de son développement, à savoir un stade gamétophyte et un stade tétrasporophyte ; présentent des frondes touffues, rose pale, au contour pyramidal, atteignant parfois 30cm de haut, Ses principaux stolons nus et cylindriques a la base mesurant 1 mm de large, diversement ramifiés ; le thalle porte très nombreux ramules, surtout dans sa partie supérieure, ce qui lui donne un aspect caractéristique d'Asparagus. Mais surtout présence de rameaux inférieurs sont longs et épineux, et munis de crochets en forme de harpon, de quelques centimètres de long très caractéristiques **figure 02** présence d'iode dans l'algue attestés par le bleuissement du papier sur lequel on l'étale (Pitchamuthu et *al.*, 2012).



**Figure 02.** La morphologie de l'algue rouge *Asparagopsis armata*. Photo : E. Talledo – OCEANA (Otero et *al.*, 2013).

#### 8.1. Habitat

*Asparagopsis armata* a été décrite pour la première fois sur la côte ouest australienne (Harvey, 1854) elle est également présente naturellement en Nouvelle-Zélande (Laury ; 2014), l'espèce est connue pour avoir été introduite dans le nord-est de l'Atlantique et devenue largement distribués en Europe et en Méditerranée dans les années 1920). (Mineur et *al.*, 2010)

*A. armata* a été pour la première fois dans l'hémisphère nord de l'Algérie en 1923, Cette algue se développe sur les fonds rocheux au niveau de l'étage infralittoral, de la surface jusqu'à 40m de profondeur. (Pacios ; 2011)

## 8.2. Taxonomie

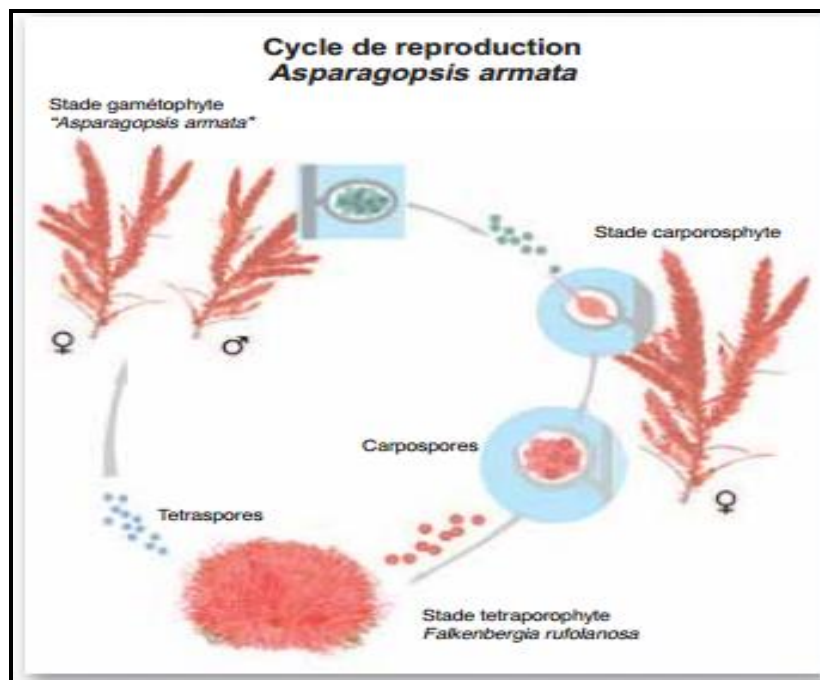
Les algues rouges ou *Rhodophycées*, sont très diversifiées et regroupent entre 5000 et 6000 espèces réparties dans environ 680 genres. Elles comprennent deux sous-divisions, les *Bongiophycées*, et les *Floridéophycées* dont l'organisation végétative (Van den Hoek et al., 1995) est différente, *Asparagopsis armata* est une algue rouge marine pluricellulaire, dont la taxonomie complète est la suivante :

- Division : *Rhodophyta*.
- Classe : *Rhodophyceae*.
- Sous-classe : *Florideophyceae*.
- Ordre : *Bonnemaisoniales*.
- Famille : *Bonnemaisoniaceae*.
- Genre : *Asparagopsis*.
- Espèce : *Asparagopsis armata*.

## 8.3. Reproduction

C'est le type le plus complexe observé chez les algues, car il y a généralement 3 générations : une génération gamétophytique dans laquelle les thalles males portent des spermatozytes qui libèrent chacun une simple spermatie dont le rôle est de féconder le gamète femelle. Les thalles femelles portent un appareil reproducteur très complexe. Il sert de base à la délimitation des ordres chez les *Rhodophytes*. Le gamète femelle (carpogone) est surmonté d'un trichogyne (long poil incolore captant les spermaties). Ce carpogone n'est jamais libéré. Après la fécondation du carpogone par les spermaties, une deuxième génération (carposporophyte) se développe en parasite sur le gamétophyte femelle ; il est formé de filaments (gonimoblaste). Le développement du gonimoblaste peut avoir lieu directement à partir du carpogone ou indirectement à partir de cellules auxiliaires. Le carposporophyte produit des carpospores qui donnent naissance à une 3<sup>ème</sup> génération (tétrasporophyte) portant des tétrasporocystes. (**Figure 03**).

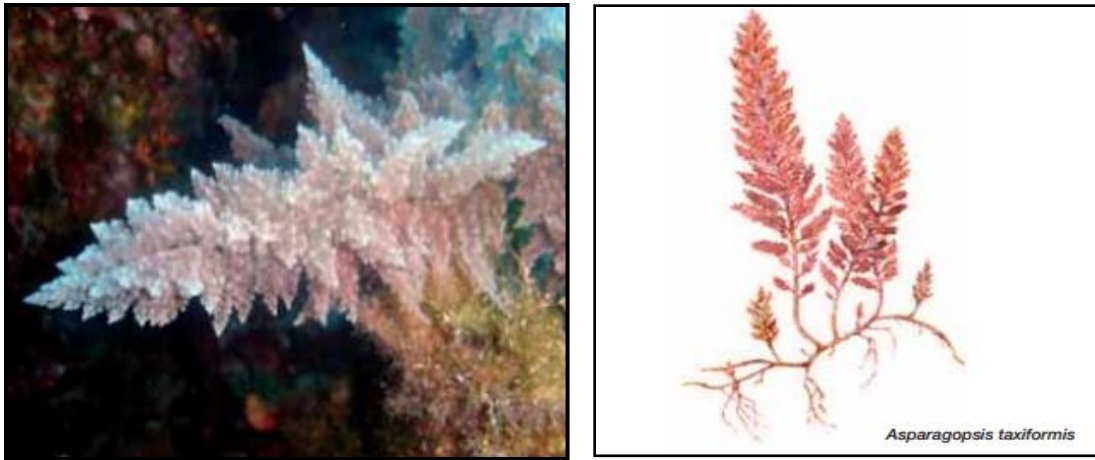
C'est dans ces tétrasporocystes que le noyau subit une méiose aboutissant ainsi à la formation de 4 spores typiquement haploïdes. En fonction de l'orientation de l'axe de la mitose, la disposition des tétraspores dans le tétrasporocyste est cruciée, zonée, ou tétraédrique. Le cycle de vie est donc de type trigénétique (3 générations : gamétophyte, carposporophyte et tétrasporophyte). Les gamétophytes et tétrasporophytes stériles sont soit morphologiquement semblable (cycle trigénétique isomorphe) soit très différent morphologiquement (cycle trigénétique hétéromorphe) de telle sorte qu'ils ont généralement été décrits, à l'origine, comme des espèces différentes (*Falkenbergia*=tétrasporophyte d'*Asparagopsis*) (Hachem et Kawas ; 2010).



**Figure 03.** Le cycle de développement d'*Asparagopsis armata*.

#### 8.4. Espèces similaires

Il est aisé de confondre les gamétophytes de *Asparagopsis armata* avec un autre envahisseur florissant, *Asparagopsis taxiformis* (**Figure 04**), mais *Asparagopsis armata* se distingue par la présence de crochets en forme de harpon. *Asparagopsis armata* est capable de survivre et de prospérer dans des milieux plus froids que ceux de *A. taxiformis* qui préfère les eaux beaucoup plus chaudes. L'ensemble du genre semble être doté d'un potentiel d'invasion élevé. Ces algues se dispersent avec les courants marins en s'accrochant à des objets flottants.



**Figure 04.** La morphologie de l'algue rouge *Asparagopsis taxiformis* .Photo : B. Weitzmann, 2013

# *Chapitre 02*

*Généralités sur les microorganismes  
étudiés*

Dans notre présent travail, nous avons choisis les différentes espèces microbiennes multi résistantes aux antibiotiques qui peuvent être isolées au niveau des plaies chirurgicales. Parmi elles ; les bactéries Gram positif (les *Staphylocoques doré*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* et *Listéria monocytogenes*) ; des bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumonies*) posent le problème des contaminations croisées ; et une levure (*Candida albicans*).

### 1. Notion de pouvoir pathogène

Une bactérie pathogène est une bactérie capable de provoquer une infection chez un sujet sain après la pénétration dans l'organisme vivant et la modification de structure cellulaire d'un ou plusieurs tissus. On parle selon le pouvoir pathogène en :

- **Bactérie pathogènes**

Ce sont les bactéries qui possèdent des caractéristiques spécifiques leur permettant de déclencher une infection. Ces caractéristiques représentent les facteurs de virulence : les toxines, les hémolysines ...etc. la mobilité, l'adhésion et le chimiotactisme bactérien sont aussi considérés comme des critères renforçant la virulence chez une bactérie pathogène (Chouder, 2006).

Le pouvoir pathogène dépend de l'espèce bactérienne en cause, ainsi pour un même pouvoir pathogène, il peut y avoir des souches plus ou moins virulentes, mais pas avec les mêmes doses, quelques bactéries suffisent pour développer une infection, alors que plusieurs milliers sont nécessaires pour causer une infection (Pelmont, 1993).

- **Les bactéries opportunistes**

Les bactéries opportunistes ne donnent habituellement pas de maladie chez les sujets sains. En revanche, elles peuvent devenir pathogènes chez les sujets aux défenses immunitaires altérées. Se sont souvent des bactéries commensales qui vivent à la surface de la peau et des muqueuses de l'homme, et des animaux, suite à un antibiotique ou immunodépression elles vont proliférer (Chouder, 2006).

### 2. Les bactéries à Gram positif :

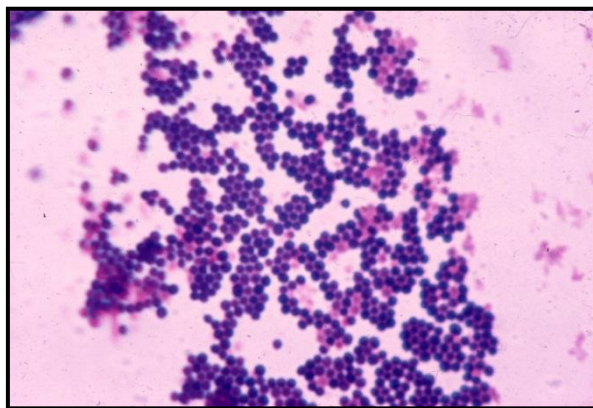
#### 2.1. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* de la famille des *Staphylococcaceae* bactérie à Gram positif, se présente sous l'aspect de coque en petits amas mesurant de 0.8 à 1µm ou des grappes de

raisins. Cette bactérie est immobile, non sporulée et aéro-anaérobie facultative. Elle fait partie de la flore normale de corps humain (Daveries et *al.*, 2005).

C'est un pathogène opportuniste qui peut causer diverses maladies chez les humains, allant des affections qui évoluent spontanément vers la guérison à des pathologies mortelles. Cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires, résultant de la consommation d'aliments contaminés par les entérobactéries. L'intoxication alimentaire par les *staphylocoques* se caractérise par une période d'incubation de courte durée (1 à 6 heures, en moyenne de 3) puis par des symptômes variés : nausées, vomissements, douleurs abdominales, crampes et diarrhée, les symptômes disparaissent habituellement après 24 heures. (Kayser et *al.*, 2005). Les infections à *S. aureus* sont très fréquentes et apparaissent sous des aspects cliniques très variés, elles peuvent être à l'origine d'infections cutanées superficielles ou profondes (Avril et *al.*, 1992).

*Staphylococcus aureus* résistantes au Méthicilline (MRSA) est la souche la plus connue au milieu hospitalier à cause de sa résistance à l'antibiotique Méthicilline et d'autres types d'antibiotiques (Batabyal et *al.*, 2012). Les infections dues au MRSA présentent des problèmes sérieux pour les cliniciens, car les options thérapeutiques sont limitées et le surdosage des antibiotiques contribue à une mortalité accrue et augmentation du taux à l'hôpital (Rybak et *al.*, 2005).



**Figure 05.** Coloration de Gram des *staphylococcus aureus*.

(Prescott et *al.*, 2010)

## **2.2. *Bacillus cereus***

*Bacillus cereus* de la famille des *Bacillaceae* ; sont des bacilles mésophiles, aéro-anaérobies facultatif, mobiles, sporulés et les spores sont thermorésistantes, cet agent pathogène peut être isolé à partir des aliments, plantes, de l'eau et du sol, mais ses capacités d'adaptation lui permettent également de survivre dans le tractus intestinal des mammifères et des insectes (Paredes-Sabja et *al.*, 2011)

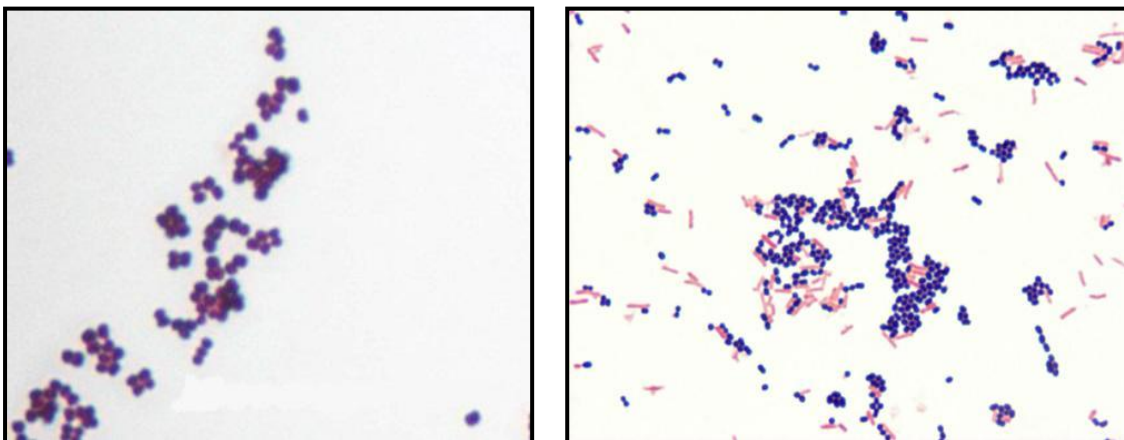
La croissance cellulaire avec un certain nombre dans l'aliment, Cet pathogène opportuniste responsable de la production de toxines qui cause une toxi-infection alimentaire chez l'Homme (Stenfors Armenas et *al.*, 2008).



**Figure 06.** Coloration de Gram des *Bacillus cereus*.  
(<http://www.sciencephoto.com>)

### 2.3. *Micrococcus luteus*

Le *Micrococcus luteus* est une bactérie de la famille des *Micrococcaceae* qu'on retrouve sur la peau, dans la bouche et les voies respiratoires supérieures des mammifères, y compris de l'homme. C'est l'espèce de *Micrococcus* la plus courante et elle peut persister jusqu'à deux ans et demi sur la peau humaine. Il ne s'agit pas d'une bactérie systématiquement pathogène mais elle peut le devenir chez les personnes immunodéprimées. Le *Micrococcus luteus* peut alors se rendre responsable d'abcès intracrâniens, de pneumonie, d'endocardite, d'arthrite septique ou encore de méningite. (Greenblat. C et al., 2004)



**Figure 07.** Coloration de Gram des *Micrococcus luteus*.  
(Greenblat. C et al., 2004)

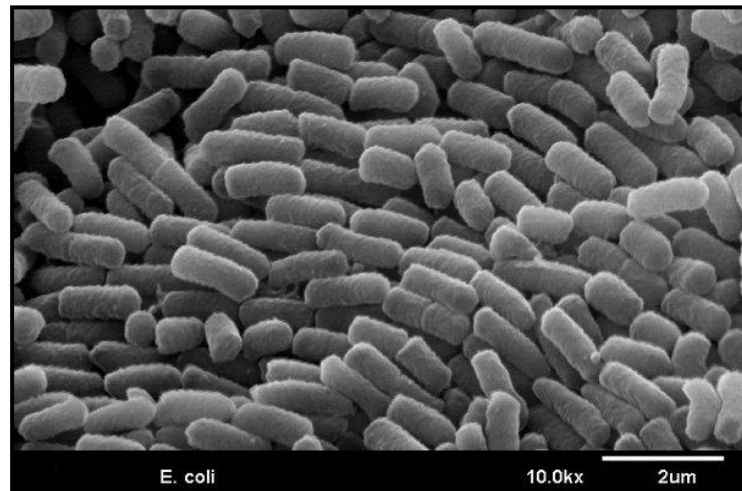
### 3. Les bactéries à Gram négatif

#### 3.1. *Escherichia coli*

Il s'agit d'une *Entérobactérie*, bacille à Gram négative, lactose positif, gazogène, habituellement mobiles. La température optimale est de 37°C ; C'est un hôte normal de l'intestin de l'Homme et des animaux. Cette bactérie est utile parce qu'elle favorise la production de certaines vitamines et dégrade certains aliments qui seraient autrement impossible à digérer (Jafari et *al.*, 2012).

Toutefois, il existe des souches virulentes qui causent des troubles quand elles croissent dans les intestins. On soupçonne que 50 à 85% des diarrhées sont dues à *Escherichia coli* entérotoxigènes. Les souches entéropathogènes *Escherichia coli* des adhésions qui se fixent seulement à des types spécifiques de cellules de certaines régions de l'intestin grêle et après avoir adhérer aux cellules hôtes, provoque ainsi l'endocytose ; ce qui permet sa pénétration dans ces cellules et de s'y multiplier (Jafari et *al.*, 2012).

*E. coli* est l'agent causal des inflammations touchant les reins par la destruction des néphrons ce qui nuit grandement au fonctionnement de ces derniers (Perry et *al.*, 2004).



**Figure 08.** *Escherichia coli* au microscope électronique.

(<http://www.bacteriainphotos.com>)

#### 3.2. *Pseudomonas aeruginosa*

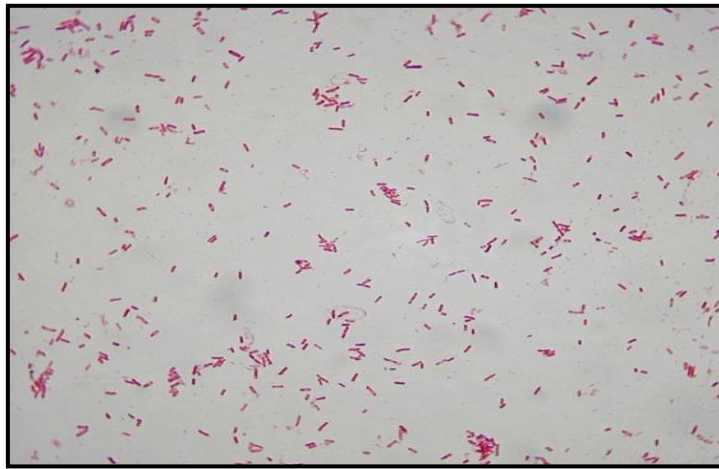
*P. aeruginosa* de la famille *Pseudomonadaceae* son nom liée à la production de pigments hydrosolubles colorés en bleu (pyocyanine), en vert (pyoverdine). Les colonies ont des reflets métalliques, une couleur à tendance fluorescente et dégagent une odeur floral.

*P. aeruginosa* sous forme de bacilles à Gram négatif, aérobies strict à flagelle polaire, contenant de la pyocyanine, est exceptionnellement l'agent de gastroentérites à partir

d'aliments contaminés, elle possède aussi au moins six toxines (entérotoxines, exotoxines A, exoenzyme S, hémolysine, leucocidine et glycoprotéine) (Irving et al., 2005).

L'infection par ce germe est surtout chez les immunodéprimés ainsi que la présence de *P. aeruginosa* en milieu hospitalier est responsable aux infections nosocomiales avec une multi résistance aux antibiotiques (Irving et al., 2005).

Le pathogène opportuniste qu'est *P. aeruginosa* peut engendrer des infections urinaires, oculaires ou pulmonaires et infecter des plaies profondes en entraînant un choc septique. En fait, *P. aeruginosa* représente l'une des trois grandes causes d'infections opportunistes chez l'homme (Delarras, 2007).



**Figure 09.** Coloration de Gram des *Pseudomonas aeruginosa*

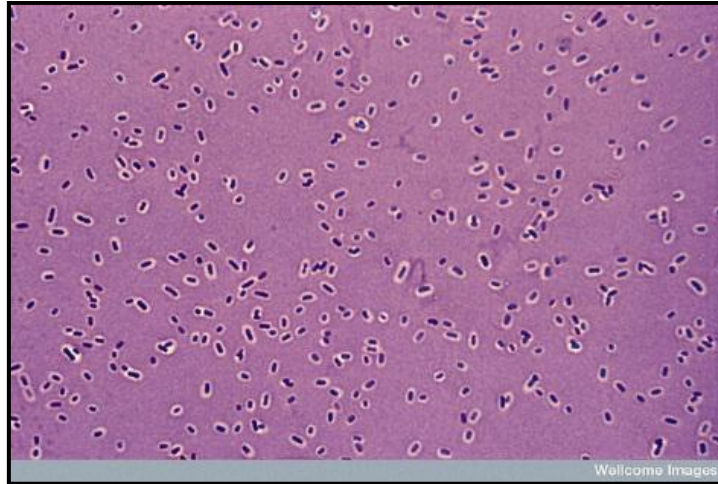
(<http://www.sciencephoto.com>)

### 3.3. *Klebsiella pneumoniae*

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* de la famille des *Entérobactériaceae*, sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, non sporulés, anaérobies facultatifs et appartiennent à la famille des *Entérobactériaceae* (El Fertas-Aissani et al., 2012)

*Klebsiella pneumoniae* est une espèce pathogène opportuniste. Elle est fréquemment rencontrée dans la nature : eau de surface, du sol, du bois et des végétaux. Elle est présente dans le tube digestif de l'homme et des animaux et elle est commensale des voies respiratoires (Srinivasan et al., 2012). *K. pneumoniae* est un agent classique et majeur d'infection nosocomiales en général, elle est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires (Ben Haj Khalifa et al., 2010 ; Struve et al., 2012). Elle fait partie du groupe KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) qui est d'une grande importance en clinique hospitalière (Nedjai, 2011).

Les espèces *Klebsiella pneumoniae* sont à l'origine d'infections survenant dans les unités de soin intensifs (USI) (Carpentier et *al.*, 2012). Elles peuvent également causer des bactériémies, d'abcès cérébral et des maladies chroniques comme la méningite. Particulièrement de deux types de toxi-infections alimentaires : le syndrome émétique et le syndrome diarrhéique (Stenfors et *al.*, 2008 ; Kassis-Chikhani, 2012).

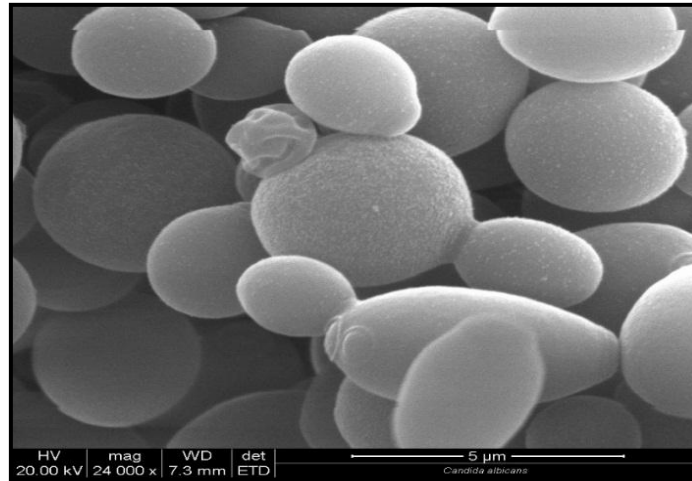


**Figure 10.** Observation microscopique de *Klebsiella pneumonies*  
(<http://www.deniskunkel.com>)

#### **4. La levure : *Candida albicans***

Est un champignon (levure) de la famille des *Sacchromycetaceae*, pathogène opportuniste qui existe en tant que commensal des animaux à sang chaud, y compris les humains. Il colonise les surfaces muqueuses de la cavité buccale et vaginale et les tubes digestifs et est aussi capable de provoquer une variété d'infections, en fonction de la nature de l'hôte sous-jacent, par conséquent, les infections à *C. albicans* (candidose) sont très peu fréquentes chez les individus sains (Sudbery, 2011). Cependant, chez les patients immunodéprimés, les infections du flux sanguin provoquent souvent la mort, malgré l'utilisation de thérapie antifongique (Berman et Sudbery, 2002).

Nasution (2013) montre que cette espèce est la plus fréquente dans le cas des candidoses orales.



**Figure 11.** Observation microscopique des *Candida albicans* en êtas de bourgeonnements (Prescott et *al.*, 2010).

# *Matériel et méthodes*

## Matériel et méthodes

### 1. Matériel végétal

L'échantillon d'algue marine *Asparagopsis armata* étudiée a été récoltée en mois de Mars 2016 sur la côte rocheuses de la plage salamandre (position GPS 35°55'04.49 N ; 0°03446.80 E) située à environ 3 km de la wilaya de Mostaganem (**figure 12**). L'échantillon est transporté au laboratoire dans des sacs en polyéthylène. Les photographies de l'espèce d'algue marine récoltée sont présentées dans la **photo 01**.



**Figure 12.** Station de la récolte de l'algue rouge marine *Asparagopsis armata* (Wilaya de Mostaganem ; Salamandre) (Google maps, 2016).



**Photo 01.** Photo de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* à l'état frais (Berkane & Takhi, 2016).

## 2. Souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées dans cette étude proviennent de MNHN, de LAPRONA (Tableau 03). Leur croissance est réalisée à 37°C sur gélose Müeller-Hinton Agar (MHA bio Mérieux) pour les souches bactériennes et milieu Sabouraud à 27°C pour la souche fongique (Annexe I).

**Tableau 03.** Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antibactérienne.

Bactérie	Gram	Code	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	MNHN
<i>Bacillus cereus</i>		ATCC 25921	LAPRONA
<i>Micrococcus luteus</i>		ATCC 9341	MNHN
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	MNHN
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 8739	MNHN
<i>Klebsiella pneumonia</i>		IBMC Strasbourg	MNHN

Levure	Code	Origine
<i>Candida albicans</i>	CIP 444	LAAPSAB-Tlemcen

**MNHN** : Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris) ; **LAPRONA** : Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen) ; **ATCC** : American Type Culture Collection ; **IBMC** : Institut de biologie moléculaire et cellulaire ; **LAAPSAB-Tlemcen** : Laboratoire Antibiotiques Antifongiques Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique de l'Université de Tlemcen.

## 3. Préparation des extraits d'algues

Les échantillons d'algue ont été rincés par l'eau de mer afin d'éliminer les épiphytes, les nématodes et toute autre matière suspendue, et les crampons sont enlevés et découpés en petits morceaux, puis séchés à température ambiante et à l'abri de la lumière (**photo 02 (A)**). L'algue séchée est broyée à l'aide d'un mortier. (**Photo 02 (B)**). 10 g de cette poudre sont introduits dans des flacons en verre contenant 100 ml de solvants de polarité différentes (méthanol, hexane et acétone), (**photo 03**).

Après 24 heures de macération à température ambiante et sous agitation (250 rpm) le contenu des flacons est filtré à l'aide du papier Wattman N°1. Les filtrats ainsi obtenus sont évaporé à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à 45°C. Les résidus secs sont récupérés dans du méthanol pour des concentrations finales différentes et seront stockés à +4 C°

dans des tubes en verre hermétiquement fermés jusqu'au moment de leur utilisation (Cho *et al.*, 2007).



**Photo 02.** Photo de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* (A) Algue séché ;(B) Algue broyer. (Berkane & Takhi, 2016).



**Photo 03.** Photo de la macération d'algue marine *Asparagopsis armata* (Berkane & Takhi, 2016).

#### 4. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est déterminé par rapport de la poudre initial de l'algue pour les différents extraits en appliquant la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{P2 - P1}{P0} \cdot 100$$

Avec :

P1 : poids du ballon vide.

P2 : poids du ballon après l'évaporation du méthanol.

P0 : poids initial de la poudre végétal (10 g).

### 5. Test de sensibilité aux antibiotiques

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. On a utilisé différents antibiotiques : Cefoxitine 30 $\mu$ g (FOX), Gentamicine 10 $\mu$ g (CN), Acide Nalidixique 30 $\mu$ g (NA), Cefazolin 30 $\mu$ g (KZ), Imipenème 10 $\mu$ g (IMI), Trimethoprim-Sulfamethoxazole 25 $\mu$ g (SXT), Amikacin 30 $\mu$ g (AK), Nitrofurantoïne 300 $\mu$ g (F), Amoxicilline 30 $\mu$ g (AML), Colistine 10 $\mu$ g (CT), Ciprofloxacine 5 $\mu$ g (Cip), Fosfomycin 50 $\mu$ g (FOS), Céfataxime 30 $\mu$ g (CTX), Ticarciline+ Acide Clavulanique 10 $\mu$ g (TIM75 $\mu$ g), Ampicilline 10  $\mu$ g (AMP). Le choix des antibiotiques a été fait en fonction de la disponibilité.

Les disques des antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé (Müller-Hinton Agar pour les souches bactériennes et Sabouraud pour la levure), préalablement ensemencé avec un inoculum à 0,5 Macfarland (0,1 DO) des souches à étudier. La lecture fait après 24 heures d'incubation à 37°C pour les bactéries et après 48 heures à 27°C pour la levure.

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les extraits d'algue rouge.

### 6. Tests antimicrobiens

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien des différents extraits bruts de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* (Bouterfas et al., 2014).

La méthode de diffusion à partir d'un puits sur gélose Müller-Hinton Agar et Sabouraud et la méthode des disques qui permettent la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des différents extraits.

## 7. Préparation des précultures

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant du milieu Müller-Hinton Agar et la souche fongique a été cultivée dans des boîtes de Pétri contenant du milieu Sabouraud. Après 24 heures d'incubation à 37°C, un inoculum pour chaque suspension bactérienne et fongique d'une densité optique de 0.1 mesurée à 620 nm a été préparé dans l'eau physiologique stérile.

## 8. Technique de diffusion en milieu solide

### 8.1. Méthode des puits

L'activité inhibitrice des différents extraits organiques d'*Asparagopsis armata* obtenus est testée par la méthode des puits. Le méthanol 95% est utilisé comme témoin négatif. La lecture des résultats s'effectue en mesurant le diamètre des zones d'inhibition qui se traduit par un halo translucide autour du puits après 24 heures d'incubation à 37°C pour les bactéries et incubation à 30°C pendant 48h pour *Candida albicans*. Des aliquotes de 25, 35 et 50 µl de chaque extrait sont introduits dans des puits de 6 mm de diamètre, dans la gélose Müller-Hinton Agar préalablement ensemencée par écouvillonnage avec l'inoculum de chaque bactérie à tester, et dans le milieu Sabouraud pour la suspension fongique. Les diamètres des zones d'inhibition seront alors mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats de l'inhibition des souches bactériennes et fongique par les différents extraits organiques peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits d'algue (Ponce et al., 2003 ; Farid et al., 2012).

### 8.2. Méthode des disques

Avec une suspension microbienne pure fraîchement préparée et ensemencée sur les milieux gélosés. Nous imbibons un disque de papier Wattman stérile N°01 de 6 mm de diamètre avec 15 µl d'extrait puis nous les déposons sur la surface de gélose ensemencée ensuite les incubons l'ensemble pendant 24 heures à 37 °C pour les souches bactériennes et pendant 48 heures à 27°C pour la levure.

## 9. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La détermination des CMI est faite en utilisant la méthode de micro-dilution en milieu bouillon Mueller-Hinton (Bouterfas et *al.*, 2014).

Elle est réalisée pour les extraits organiques d'algue rouge *Asparagopsis armata* et préparée dans des tubes à essai contenant préalablement 10 ml du milieu BHIB stérile. Chaque tube estensemencé avec 100  $\mu$ l d'un inoculum de 24 heures (1 DO<sub>620 nm</sub>). Une autre série de tubes sans extrait, servant de témoin de croissance, a été préparé. Après une incubation de 24 heures à 37 °C, une série de boîte de pétri contenant de la gélose Müller-Hinton Agar estensemencé à l'aide d'une anse de platine à partir de chaque dilution. Après incubation des boîtes de pétri à 37°C pendant 24 heures, la croissance des bactéries est comparée à celle du témoin. La CMI est définie comme la plus petite concentration de produit pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible à l'œil nu comparativement au témoin sans extrait d'algue.

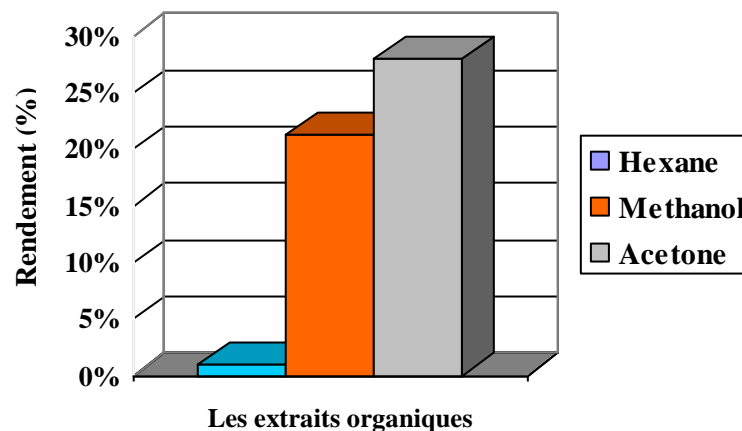
*Résultats et  
discussion*

### 1. Rendement des extraits bruts

L'extraction est une étape très importante pour l'extraction et la caractérisation des principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des métabolites secondaires, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur activités biologiques diverses en particulier leur propriétés antimicrobienne. Nous avons utilisés des solvants à polarité différentes (acétone, méthanol et l'hexane) pour la préparation des extraits à partir de l'algue marine *Asparagopsis Armata* afin de déterminer leur activité antimicrobienne sur des souches pathogènes. Le rendement d'extraction obtenu avec les différents solvants sont indiqués dans le **Tableau (04)**.

**Tableau 04.** Résultats de l'effet des solvants organiques sur le rendement d'extraction à partir d'algue rouge *Asparagopsis armata*.

Les extraits d' <i>Asparagopsis armata</i>	Rendement %
Hexane	1
Methanol	21.3
Acetone	28



**Figure 13.** Histogramme de rendement de l'extraction.

A partir du **Tableau (04)** et la **Figure (13)**, les résultats obtenus montrent que parmi les différents extraits bruts, l'extrait d'acétone a le rendement le plus élevé (28%), suivi par le

méthanol (21.3%). En revanche un faible rendement a été obtenu avec l'hexane comme solvant d'extraction.

La variation du rendement d'extraction est due à l'effet de la nature du solvant, la composition chimique des algues qui dépend de l'espèce, selon le stade de développement, les facteurs environnementaux, la localisation géographique des algues et les conditions saisonnières (Balboa et al, 2013).

## 1. L'activité antimicrobienne

### 2.1. Résultats de tests de sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques. Le **Tableau (05)** reporte les valeurs, en millimètre, des zones d'inhibitions atteintes avec les différentes souches étudiées.

**Tableau 05.** Résultats de l'antibiogramme des germes étudiés en présence de quelques antibiotiques et l'antifongique Nystatin.

Antibiotiques	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)						Candida albicans (Nystatin)
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>M. luteus</i>	
<b>AMP : 10 µg</b>	10,2 ± 1,838	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	44 ± 0,00	6,00 ± 0,00	55,5 ± 0,707	27,0175 ± 0,682
<b>AML : 30µg</b>	13,245 ± 0,304	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	42,08 ± 0,593	6,00±0,00	56,75 ± 1,06	
<b>CN : 10µg</b>	26,98 ± 0,664	22,77 ± 0,197	20,485 ± 0,261	23,185 ± 0,53	26,085 ± 0,021	38,91 ± 0,82	
<b>NA : 30µg</b>	21,01 ± 0,127	6,00 ± 0,00	17,55 ± 0,325	11,095±0,304	17,99 ± 4,228	6,00 ± 0,00	
<b>IMI : 10µg</b>	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	18,05 ± 0,763	6,00±0,00	24,275±0,31	

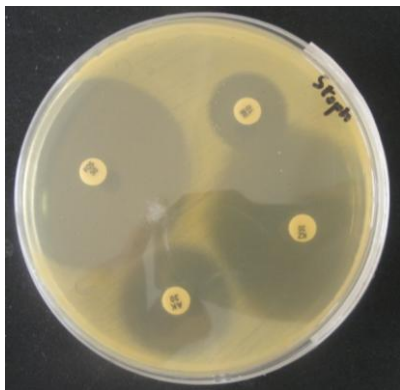
**AMP :** Ampicilline 10 µg ; **AML:** Amoxicilline 30 µg ; **CN :** Gentamicine 10µg ; **NA :** Acide Nalidixique 30 µg ; **IMI :** Imipénème 10µg.

Les résultats présentés dans la **photo 04** montrent que les différents antibiotiques possèdent des effets distincts sur les bactéries testées. Les résultats sont très intéressants

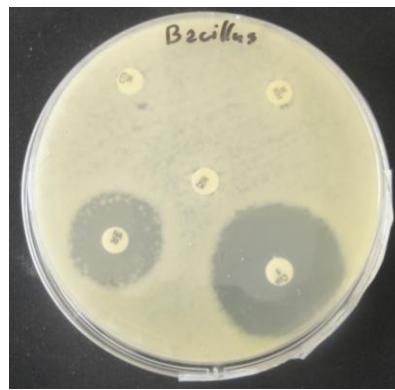
puisqu'ils témoignent d'une très forte activité bactériostatique des extraits apolaires d'*Asparagopsis armata*.

Pour cela, on observe que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés. Parmi les souches étudiées, *Pseudomonas aeruginosa* se révèle multi-résistante, tandis que les souches *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus* sont très sensibles.

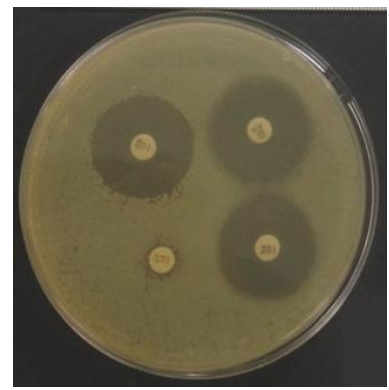
La levure *Candida albicans* était fortement inhibée par la Nystatine (10 µg) comme antifongique où un diamètre d'inhibition d'environ 27 mm a été enregistré (**Tableau 05 et photo 05**).



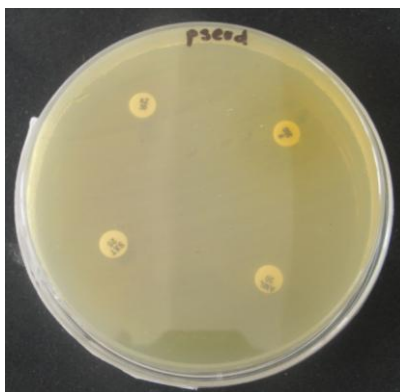
*Staphylococcus aureus*



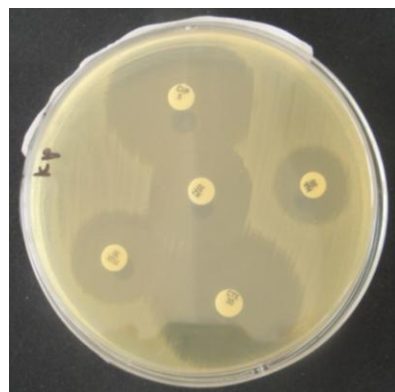
*Bacillus cereus*



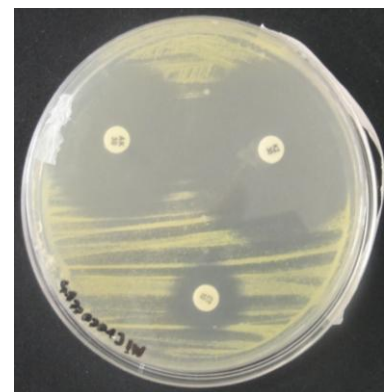
*Escherichia coli*



*Pseudomonas aeruginosa*

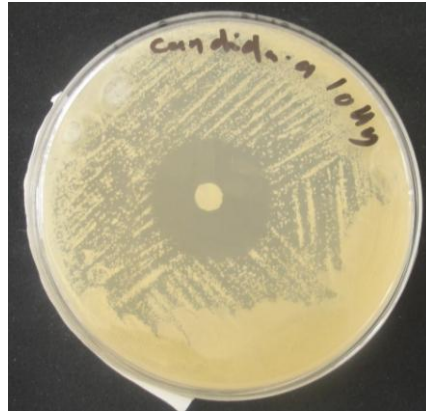


*Klebsiella pneumoniae*



*Micrococcus luteus*

**Photo 04.** Effet de quelques antibiotiques sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.



**Photo 05.** Effet de la Nystatine à 10 µg/disque sur la levure *Candida albicans*.

## 2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur puits

L'activité inhibitrice des extraits d'une espèce d'algue marine *Asparagopsis armata* sur la croissance de certaines souches microbiennes (bactéries et levure) pathogènes a été étudiée. Trois extraits ont été testés. La technique de diffusion sur des puits a été utilisée pour évaluer l'inhibition des bactéries et de levure.

Le choix des souches microbiennes utilisées dans ce test biologique a été dicté par l'effet pathogène qu'elles provoquent en cas de maladie, telles que les diarrhées, conjonctivite...etc.

D'après le **Tableau (06)** ci-dessous, on remarque que l'activité antimicrobienne des extraits d'algue marine rouge *Asparagopsis armata* dépend de la nature du solvant d'extraction et de la souche microbienne testée.

Le méthanol pur, utilisé comme solvant de solubilisation des résidus secs d'algue rouge ne présente aucun effet antibactérien sur les souches étudiées.

Tous les extraits sont capables d'inhiber la croissance des bactéries et de la levure avec des degrés d'inhibition variables. Ces résultats témoignent d'une très forte activité bactériostatique des extraits d'algue. De plus, l'acétone semble c'est avéré le meilleur solvant d'exaction des agents antimicrobiens, vue que la plus part des bactéries testées ce sont montrées extrêmement sensibles en présence de cet extrait.

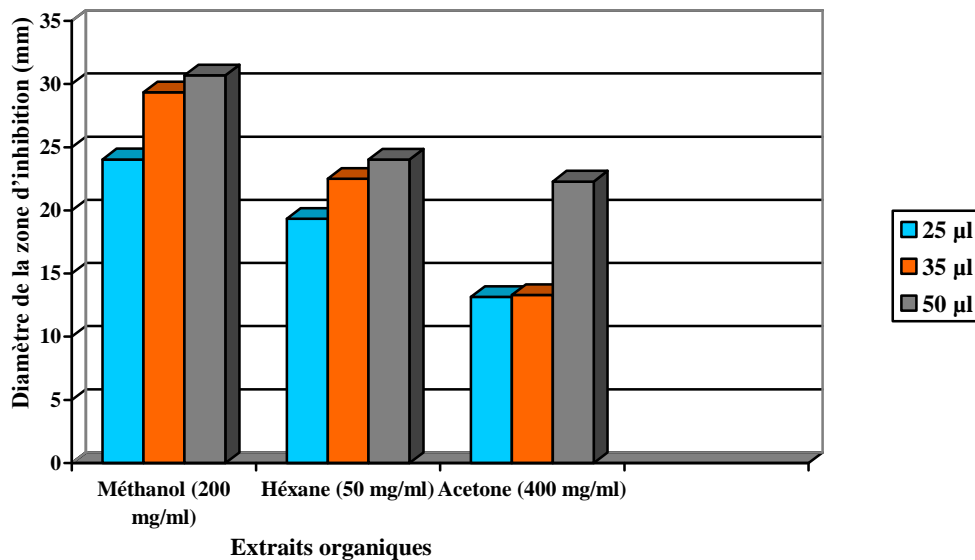
Cet effet est mis en évidence par la mesure de l'étendue d'inhibition développée sur la boîte de Pétri autour du puits renfermant l'extrait d'algue. Ces zones d'inhibition sont supérieures à 15 mm. Cette zone d'inhibition est caractérisée par l'absence de développement d'aucune bactérie et ayant un aspect très clair.

**Tableau 06.** Résultats de la méthode des puits de l'effet antimicrobien des extraits méthanolique, acétonique et hexaniques de l'algue rouge *Asparagopsis armata*.

Extrait organique (µl)		Diamètre de la zone d'inhibition (mm)						
		Gram (-)			Gram (+)			Ca
		Ec	Kp	Pa	Bc	Sa	MI	
Méthanol (200 mg/ml)	25	10,23 ± 0,04	30,46 ± 1,73	8,94 ± 0,06	14,88 ± 1,25	24,05 ± 0,09	16,43 ± 0,61	10,13 ± 0,19
	35	12,73 ± 0,25	32 ± 1,41	13,99 ± 0,62	18,93 ± 1,32	29,36 ± 0,50	23,10 ± 0,14	12,45 ± 0,64
	50	13,93 ± 1,0	40,59 ± 0,26	20,27 ± 0,25	23,13 ± 1,19	30,69 ± 0,27	27,37 ± 0,52	14,33 ± 0,46
Hexane (50 mg/ml)	25	11,72 ± 0,96	6,00 ± 0,00	13,2 ± 0,02	14,35 ± 0,49	19,34 ± 0,22	21,14 ± 0,20	21,14 ± 0,20
	35	13,23 ± 1,40	6,00 ± 0,00	16,13 ± 0,16	15,40 ± 0,57	22,50 ± 0,7	22,21 ± 0,29	14,11 ± 0,16
	50	14,65 ± 0,30	6,00 ± 0,00	22,39 ± 0,53	20,09 ± 0,13	24,03 ± 0,03	23,10 ± 0,14	14,43 ± 0,61
Acétone (400 mg/ml)	25	9,68 ± 0,34	7,96 ± 0,16	6,00 ± 0,00	13,36 ± 0,50	13,16 ± 0,23	13,16 ± 0,23	9,46 ± 0,65
	35	9,27 ± 1,01	16,25 ± 0,36	6,00 ± 0,00	16,3 ± 0,42	13,31 ± 0,44	13,31 ± 0,44	9,49 ± 0,70
	30	11,03 ± 1,12	7.23 ± 0,31	22.23 ± 0,29	22.29 ± 0,08	24.06 ± 0,13	15.09 ± 0,13	11,41 ± 0,58

Ec : *Escherichia coli* ; Kp : *Klebsiella pneumoniae* ; Pa : *Pseudomonas aeruginosa* ; Bc : *Bacillus cereus* ; Sa : *Staphylococcus aureus* ; MI : *Micrococcus luteus* ; Ca : *Candida albicans*.

D'après l'histogramme ci-dessous (**figure14**), on remarque que l'activité antibactérienne de l'extrait d'algue rouge vis-à-vis de *S. aureus* montre une augmentation relative de la zone d'inhibition avec le volume de l'extrait déposé dans le puits de 6 mm.



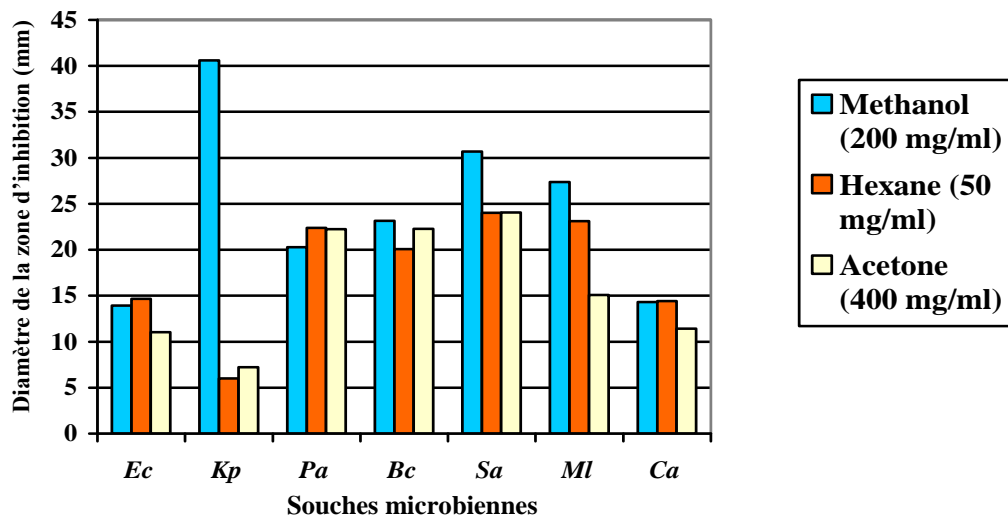
**Figure 14.** Histogramme de l'augmentation de la zone d'inhibition de *S.aureus* avec le volume de différents extraits d'*Asparagopsis armata*.

En comparant ces résultats avec ceux de l'antibiogramme, on remarque que les effets d'antibiotiques sur la bactérie testée sont similaires par rapport à ceux trouvés pour les extraits méthanoliques et héxaniques.

Par contre, l'activité antibactérienne de l'extrait acétonique est significativement inférieure par rapport à ces antibiotiques.

D'après les résultats indiqués dans l'histogramme (**Figure 15**), on remarque que les extraits héxanique, méthanolique et acétonique ont un effet antibactérien relativement élevé sur les bactéries Gram positif par rapport aux bactéries Gram négatif.

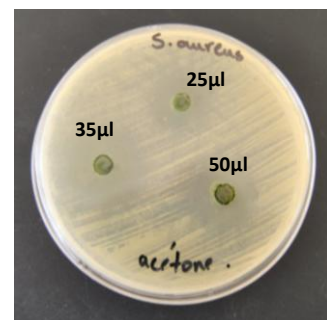
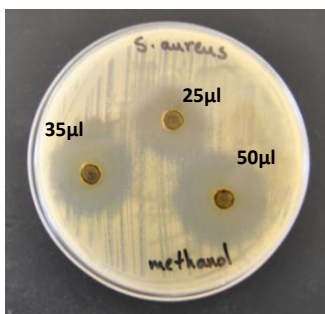
En effet, la raison de la différence de sensibilité entre les bactéries Gram positif et Gram négatif pourrait être attribuée aux différences dans les constitutions morphologiques entre ces microorganismes (structure et la composition de paroi cellulaire).

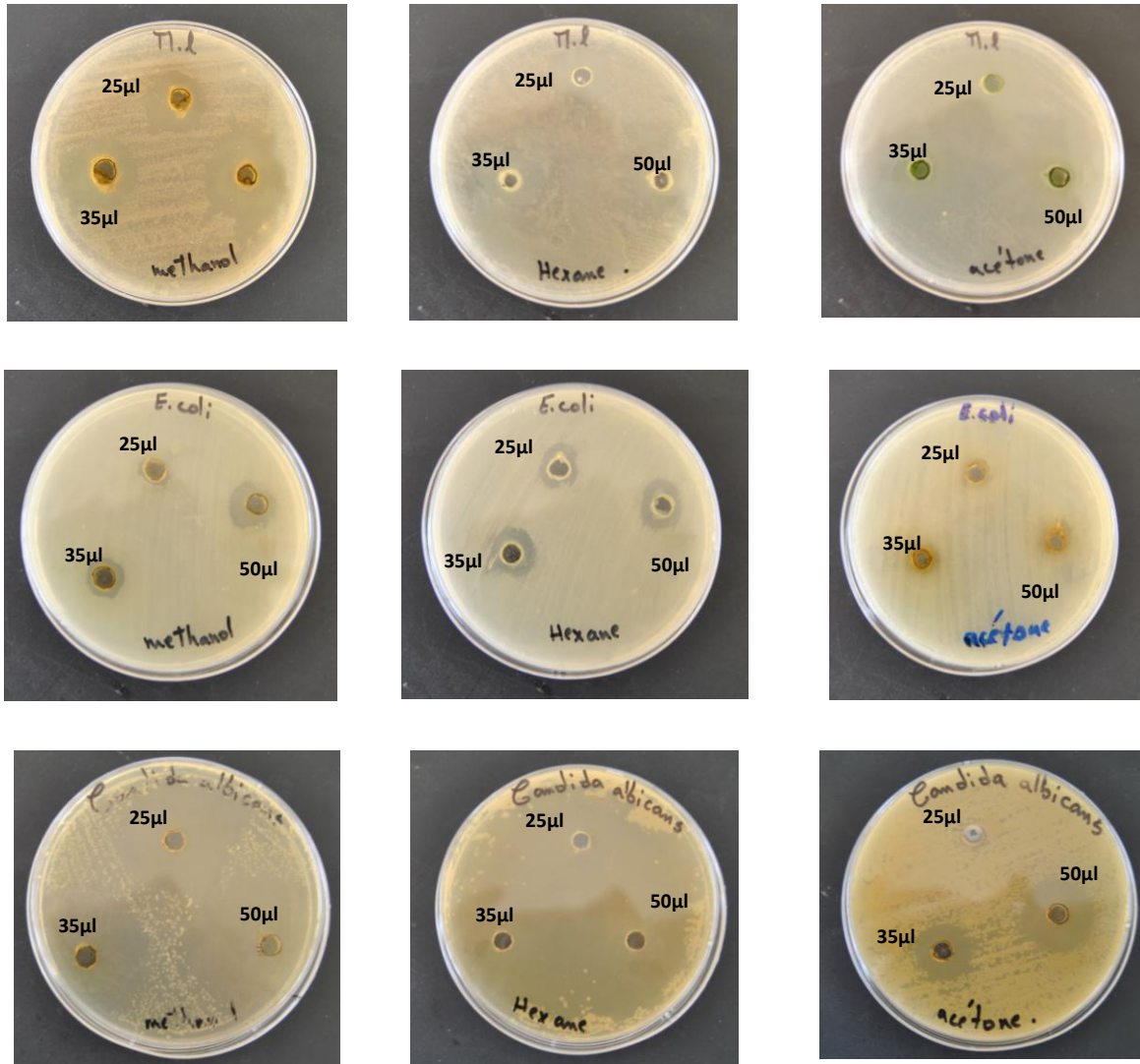


**Figure 15.** Histogramme de l'effet de différents extraits d'*Asparagopsis armata* sur les souches bactériennes et *Candida albicans* (méthode de puits).

Les bactéries Gram négatif, ayant une membrane externe composée de phospholipides, de protéines et riche en molécules de lipopolysaccharides, leur membrane formant une barrière imperméable (Bouterfas et *al.*, 2014 ; Abirami et *al.*, 2012) qui empêche l'entrée de substance environnementale comme les antibiotiques et les anti-inhibiteurs (Mendes et *al.*, 2013) la membrane est également associée à l'enzyme dans l'espace périplasmique qui sont capables de décomposer la molécule introduite de l'extérieur (Adaykalaraj et *al.*, 2012) en revanche, les bactéries Gram-positives sont plus sensibles ayant seulement une couche de peptidoglycane externe qui n'est pas une barrière de perméabilité effective (Abirami et *al.*, 2012).

La souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est la plus sensible vis-à-vis la plus part des extraits. Par contre *E. Coli* possède une résistance modérée par apport d'extraits d'algue.





**Photo 06.** Résultats de l'effet des différentes concentrations d'extraits d'*Asparagopsis armata* sur les souches microbiennes par la méthode de diffusion sur puits.

Selon ces résultats, l'augmentation des zones d'inhibition est proportionnelle avec l'augmentation des volumes de l'extrait algal (**Photo 06**).

Nos résultats sont relativement similaires par rapport à ceux trouvés par Rajasulochana et *al.* (2009) sur l'activité antibactérienne d'algue marine rouge *Kappa sp.* Ces auteurs ont trouvé que le volume ou les différentes concentrations ont un effet sur l'activité antibactérienne.

L'activité antimicrobienne induite par les extraits méthanolique, acétonique et hélianique de l'algue rouge *Asparagopsis armata* indique que ces solvants provoquent une meilleure

extraction des substances ayant un effet inhibiteur sur les bactéries Gram positif et Gram négatif. On peut dire que la nature du solvant affecte de manière significative l'activité antibactérienne de l'extrait d'algue rouge et l'efficacité de l'extrait dépend de la souche testée.

Enfin, les résultats obtenus lors de ces tests d'activité montrent des effets très positifs vis-à-vis des souches microbiennes.

### 2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disques

L'activité antimicrobienne des extraits organiques d'*Asparagopsis armata* a été aussi évaluée par la méthode de diffusion sur disques. La **Photo (07)** montre les résultats ainsi obtenus. On constate que l'activité antimicrobienne est fortement affectée par la nature du solvant d'extraction d'une part et d'autre part par la souche testée.



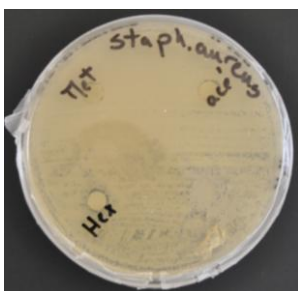
*Pseudomonas aeruginosa*



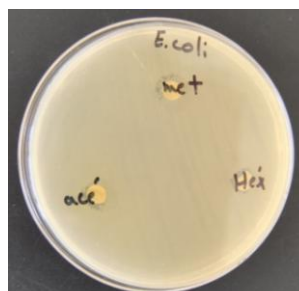
*Klebsiella pneumoniae*



*Bacillus cereus*



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*



*Candida albicans*

**Photo 07.** Résultats de l'effet de différentes concentrations d'extraits d'*Asparagopsis armata* sur quelques souches microbiennes par la méthode de diffusion sur disques.

L'inhibition de la croissance d'une souche microbienne se manifeste par l'apparition d'un halo autour du disque. Les valeurs des diamètres d'inhibition mesurées pour les

différentes souches en présence des trois extraits organique d'*Asparagopsis armata* sont regroupées dans le Tableau ci-dessous.

**Tableau 07.** Résultats de la méthode des disques de l'effet antimicrobien des extraits méthanolique, acétonique et hénaniques de l'algue rouge *Asparagopsis armata*.

Extrait organique (10 µl /disque)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)						
	Gram (-)			Gram (+)			Ca
	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Bc</i>	<i>Sa</i>	<i>MI</i>	
Acétone	8,96 ± 0,96	10,75 ± 0,00	18,29 ± 1,25	8,09 ± 1,25	11,43 ± 1,73	8,00 ± 0,00	21,35 ± 0,19
Méthanol	9,29 ± 1,01	11,34 ± 0,19	13,85 ± 0,99	14,26 ± 0,19	9,96 ± 1,05	6,80 ± 0,00	21,94 ± 0,01
Hexane	9,53 ± 0,34	10,66 ± 1,73	10,57 ± 2,00	8,92 ± 0,00	11,65 ± 0,41	7,20 ± 0,00	33,98 ± 1,87

*Ec* : *Escherichia coli* ; *Kp* : *Klebsiella pneumoniae* ; *Pa* : *Pseudomonas aeruginosa* ; *Bc* : *Bacillus cereus* ; *Sa* : *Staphylococcus aureus* ; *MI* : *Micrococcus luteus* ; *Ca* : *Candida albicans*.

Selon Duraffourd et al. (1990) la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm ; la sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible.

En utilisant cette classification et d'après les résultats indiqués dans le **Tableau (07)**, que toutes les souches microbiennes à l'exception de *M. luteus* sont sensibles aux extraits organiques d'*Asparagopsis armata*. Les bactéries *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *E. coli* ont une sensibilité limité vis-à-vis de tous les extraits testés. *P. aeruginosa* et *B. cereus* ont une sensibilisé moyenne en présence des extraits acétonique et méthanolique, respectivement. Ces deux souches bactériennes ont une sensibilité limitée aux extraits acétonique et hénanique.

La souche fongique *C. albicans* est très sensible vis-à-vis des trois extraits organiques d'*Asparagopsis armata*.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvé par Salvador et al (2007). Ces auteurs ont trouvé que l'extrait méthanolique de l'espèce *A. armata* à une forte activité sur les bactéries

Gram positif (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*) que sur les bactéries (*Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*) Gram négatif.

Adaikalaraj et al (2012) ont trouvé également que les extraits méthanoliques et aqueux des algues rouges de la côte Manapad de l'Inde sont plus efficaces sur les souches bactériennes Gram positif que sur les bactéries Gram négatif.

Or, plusieurs travaux mettent en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram+ par rapport aux bactéries Gram –, cela peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram– par rapport aux bactéries Gram+.

D'après l'étude de Alghazeer et al (2013) sur les deux algues rouges *L. obtusa* et *Jania. spp* extraire par le méthanol, donne des zone d'inhibition inférieur à celle de notre résultat.

Selon les études faites par Tuney et al (2006) sur l'extrait de *Gracilaria gracilis* avec le méthanol ne montrant aucune activité contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* et *E.coli*.

Selon Arunachalam (2014), il est noté que les différences trouvées dans l'évaluation du pouvoir antibactérien des différents extraits d'algue peuvent être attribuées à plusieurs facteurs tels que la nature de l'espèce, les conditions ambiantes, les facteurs écologiques, les variations saisonnières, les méthodes d'extraction, la préparation de l'extrait, le solvant utilisé, la sensibilité des bactéries et la concentration de l'extrait utilisé.

#### **2.4. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La CMI est définie comme étant la plus basse concentration capable d'empêcher une croissance bactérienne visible. La CMI n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur (Mann et Markham, 1998).

Nous rapportons dans le **Tableau 08** les CMI de nos extraits les plus actifs sur chaque bactérie constatés lors de l'étude en milieu solide, dont les diamètres d'inhibition sont supérieurs ou égaux à 15 mm (choix arbitraire), qui sont obtenues par la méthode de puits en milieu gélosé. Les CMI sont inversement proportionnelles aux diamètres des zones d'inhibitions.

**Tableau 08.** CMI (exprimée en mg/ml) de l'extrait méthanolique d'*A. armata* (dont les diamètres des zones d'inhibition sont  $\geq 20$  mm) relatives aux bactéries testées.

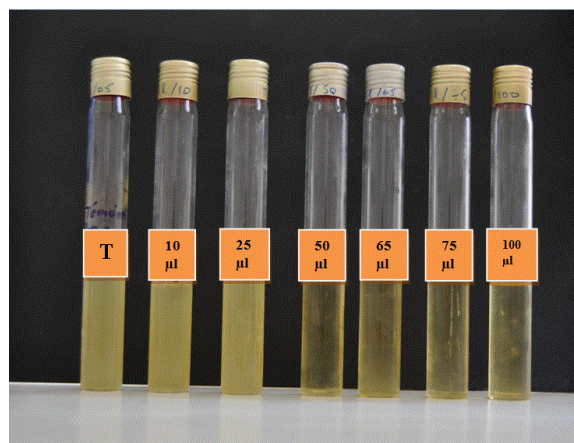
Espèces	CMI (mg/ml)
<i>S. aureus</i>	2
<i>K. pneumoniae</i>	1.5
<i>B. cereus</i>	2
<i>Micrococcus luteus</i>	1

Yakhlef *et al* (2011) ont proposé une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI, comme suit :

- forte inhibition : CMI inférieure à 0.5 mg/ml ;
- inhibition modérée : CMI varie de 0.6 à 1.5 mg/ml ;
- faible inhibition : CMI supérieure à 1.6 mg/ml.

Ainsi selon cette classification, on constate une inhibition modérée avec les extraits d'*Asparagopsis armata* sur la plus part des bactéries testées (**Photo 08**).

Les différences observées pour les valeurs de CMI peuvent s'expliquer par la présence de composés antibactériens dans les extraits d'algue à différentes concentrations, mais aussi par rapport au choix des techniques utilisées.



**Photo 08.** Résultats de détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait d'*Asparagopsis armata* sur *Micrococcus luteus* avec T : témoin.

# *Conclusion*

La côte marine de Salamandre de la région de Mostaganem est caractérisée par une diversité algale remarquable avec l'existence des espèces envahissantes telles que : *Asparagopsis* et *Racemosa*. Ces deux espèces sont indicatrices d'une pollution marine. Leur exploitation est donc nécessaire pour réduire leur masse.

Les travaux réalisés jusqu'à présent en Algérie ont surtout porté sur les plantes médicinales terrestres. Peu de résultats, concernant l'activité antimicrobienne et antioxydante des algues marines sont disponibles. Actuellement les algues sont de plus en plus consommées et utilisées pour l'extraction de molécules biologiquement actives.

Dans la présente étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antimicrobienne, vis-à-vis de souches bactériennes Gram positives et Gram négatives et de levure d'extrait d'algues marines de la côte de Mostaganem à savoir *Asparagopsis armata* par la méthode des puits et disques. Trois solvants ont été utilisés pour l'extraction d'algue (hexane, méthanol, acétone), À la lumière des résultats obtenus, tous les extraits exercent des effets antibactériens sur les souches bactériennes testées. Ces effets varient en fonction de la nature des solvants d'extraction et de ses concentrations et de la résistance ou la sensibilité des souches utilisées.

Les extraits ont un bon effet bactériostatique sur les bactéries Gram positif par rapport aux bactéries Gram négatif. Parmi les souches microbiennes étudiées, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* sont les souches les plus sensibles vis-à-vis des extraits tandis qu'*E. Coli* est la souche la plus résistante.

Les CMI enregistrées justifient, d'une part, l'importante activité antimicrobienne des extraits d'algue, d'autre part, son efficacité thérapeutique.

Il ressort de la présente étude que l'algue marine *Asparagopsis armata* étudiée peut être utilisée comme une bonne source naturelle d'agents antimicrobiens. Dans cette étude nous avons utilisé des extraits bruts, ce qui ne nous renseigne nullement sur la nature des composés responsables des activités antimicrobiennes observées. Par conséquent, comme perspectives, il serait nécessaire d'effectuer d'autres travaux complémentaire afin d'isoler et d'identifier la ou les substances responsables des activités antimicrobienne et de déterminer leur mécanismes d'action et aussi d'évaluer d'autres activités biologiques de cette algue par exemples : activité antiparasitaire, anti-inflammatoire, antivirale etc.

*Références  
bibliographiques*

## *Références Bibliographiques*

1. **Abirami P., Gomathinayagam M., Panneerselvam R. 2012.** Priliminary study on the antimicrobial activity of *Enicostemma littoral* using different solvents. Asian pacific journal of tropical medicine, P 552-555.
2. **Adaikalaraj G., Patric R.D., Johonson M., janakiraman N., Babu A. 2012.** Antibacterial potential of selected red seaweeds from manapad coastal areas, Thoothukudi, Tamil Nadu, India. Asian pacific Journal of tropicalBiomidicine, P1077-1088.
3. **Al Mola H.F. (2009).** Antibacterial activity of crude extracts and phlorotannin isolated from the diatom *Cymbella* spp. Journal of Pharmacy Research, 2 (3): 304-308
4. **Alayse J.P et Nozer'h Y. 1997.** Les algues. Edition JEAN-PAUL GISSEROT, P288.
5. **AlghazeerR, Whida F., Abduelrahman E., Gammoudi F.,Azwai. S.,2013.** Screening of antibacterial activity in marine green. Red and brown macroalgae from the western caest of Libya. Natural science, Vol. 5,N°1, P7-14
6. **Arunachalam P., Uthandakalai R., rajsmail R., 2014.** Evaluation of antimicrobialactivity of some selected green seaweed extracts from muttam coastal areas, kanyakumari, tamal Nadu, India. Journal of coastal life medicine, N°2, P112-115.
7. **Avil J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H. 1992.** Bactériologie Clinique; Editions ellipes. France; 511 pages.
8. **Bagre I., Bahi C., Ouattara K., Guede N. Z., Djaman A. J., Coulibaly A and N'Guessan J. D. 2011.** Étude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. Sur la croissance in vitro de *Cryptococcus neoformans*. Phytothérapie 9: 136-141.
9. **Balboa E., Conde E., Moure A., Falque E., Dominguez H .2013.** In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. Food Chemistry. N° 138, P1764-1785.
10. **Barsanti L., Coltelli P., Evangelista V., Frassanito A.M., Passarelli V., Vesentini N. and Gualtieri P. 2008.** The world of algae In Algal toxins: Nature, occurrence, effect and detection. Ed. NATO Science for Peace and Security Series A. Chemistry and Biology, Pisa, P: 398.

11. **Barsanti L. Gualtieri P. 2006.** Algae: Anatomy, biochemistry and biotechnology. Ed. CRC press Taylor & Francis group. Boca Raton, London and New York, P: 320.
12. **Batabyal B., Kundo G.K.R. ET Biswas S., 2012.** Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*: a brief review. International research journal of biological sciences, N°1, P65- 71.
13. **Ben HadjKhlifa A et Khedher M. 2010.** Epidémiologie des souches de Klebsiellaspp. uropathogène productrices de  $\beta$ -lactamases spectre élargi dans un hôpital universitaire tunisien. Pathologie biologique, N°60, P1-5.
14. **Bensaada A., Faltane K. 2015.** Etude de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de l'algue rouge *Asparagopsis armata*. Thèse de master 2 en Microbiologie environnementale et infectieuse. Université Amar Telidji de Laghouat, Algérie, P 40.43.
15. **Benyahia M., Bentaher C. 2015.** Etude de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antibactérienne d'algue marine rouge *Asparagopsis armata*. Thèse de master 2 en Microbiologie environnementale et infectieuse. Université Amar Telidji de Laghouat, Algérie, P 24.26.
16. **Berman J. et Sudbery PE. 2002.** *Candida albicans* : A molecular revolution built on lessons from building yeast. Nature Publishing Group 3.918-930.
17. **Bezanger B., Pinkas M., Totck M., Troitin F. 1990.** Les plantes médicinales des régions tempérées. Edition Maloine, P 12-13.
18. **Burtin P. 2003.** Nutritional value of seaweeds. Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry, 2 (4): 498-503.
19. **Bush K. 2004.** Antibacterial drug discovery in the 21st century. Clinical Microbiology and Infection 10: 10-17.
20. **Carpentier M Appere V., Saliou P., de Tinteniach A., Floche H., LeGall F., Cosse M. 2012.** outbreak of expanded spectrum  $\beta$ -lactamases producing *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit. Médecine et Maladies infectieuses, N°42, P501-509.
21. **CHBANI A., MAWLAWI H., ETAHIRI S. 2011.** Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padina pavonica* récoltée sur les côtes libanaises. Afrique SCIENCE. P91 - 96
22. **Chojnacka K. and Michalak I. 2011.** Interactions of metal cations with anionic groups on the cell wall of the macroalgae *Vaucheria* sp. Eng. Life Sci., 10,209-217

23. **Chouder N. 2006.** Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains. Thèse de magister en médecine vétérinaire. Université Mentouri Constantine. Algérie, P 26.28.29.
24. **Cormaci & G.Furnari, 2005.** In: Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2015). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway (taxonomic information republished from AlgaeBase with permission of M.D. Guiry).
25. **Davet P .1996.** Vie microbienne du sol et production végétale. INRA Edition, paris. P198.
26. **Davriese L.A., Vancnayat M., Balle M., DeGraf E., Snouwaert C., Clenwerck I., Dawyot P., Swincs J., Decoste A., Haesebrouck F. 2005.** *Staphylococcus pseudodintemedius* SP ; acoagulase positive species from animals. International journal of systematic and evolutionary microbiology, N° 55, P 1569-1573.
27. **Dejean-Arrecgros J. et Pierre J.F. 1977.** Je découvre les algues marines et d'eaux douces. Edition André Leson. Pp 32-33.
28. **Delarras C. 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de controle sanitaire. TEC & DOC. Lavoisier.
29. **Dhargalkar V. K. and Pereira N. 2005.** Seaweed: Promising plant of the millennium. Science and culture, 71: 60-66.
30. **Dhargalkat V.K. and Verlecar X.N. 2009.** Southern ocean seaweeds: A resource for exploration in food and drugs. Aquaculture, 287: 229-242.
31. **Donadieu Y et Basire J. 1985.** Les algues : thérapeutiques naturelles. Edition Maloine, P 36-40.
32. **Duan X.J., Zhang W.W., Li X.M. et Wang B.G. 2006.** Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. Food Chemistry. 95:37-43.
33. **Duchesne E. 1897.** Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les microorganismes ; antagonisme entre les moisissures et les microbes. Faculté de médecine et de Pharmacie de Lyon. France. Thèse de doctorat: 64 pages.
34. **Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. (1990).** Cahiers de phytothérapie clinique. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.
35. **El fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. 2012.** Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolate from different clinicals peciments. PATBIO-3048. P8.

- 36. Elnabris K.J, Elmanama A et Chihadeh W. 2013.** Antibacterial activity of four marine seaweeds collected from the coast of Gaza strip, Palestine. *Mesopot. J. Mar.Sci.* Vol. 28,N°1, P 81-92.
- 37. Farnsworth N. R. and Kaas C. J. 1981.** An approach utilizing information from traditional medicine to identify tumor-inhibiting plants. *Journal of Ethnopharmacology* 3: 85-99.
- 38. Fleming A. 1929.** On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *British Journal of Experimental Pathology* 10: 229-236.
- 39. Food and Agriculture Organisation (FAO). 1987.** Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche: méditerranée et mer noire zone de pêche 37. CEE ; FAO. P5-22.
- 40. Ganesan P., Kumar C.S. and Bhaskar N. (2008).** Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*, 99: 2717-2723.
- 41. Gayral P., 1975.** Les algues : morphologie, cytologie, reproduction et écologie. Edition doin. P 7-55.
- 42. Gonzalez del valle J.M., Aedo C., Aldasoro J.J., Argüelles J.M., Carlón L., Diez A., Gómez G., Guillén A., Laínz M., Moreno G., Patallo J. & Sánchez Pedraja O. 2001.** Contribuciones al conocimiento de la flora cantábrica V. *Bol. Cien. Nat. R.I.D.E.A.* 47: 7-52.
- 43. Greenblat C.L., Baum J., Klein B.Y., Nachshon S., Koltunov V., Cano R.J. 2004.** « *Micrococcus luteus* – Survival in Amber », *Microbial Ecology*, vol. 48, n° 1, p. 120–127
- 44. Guy L., Vierling E., 2007.** Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaire. 4ème Edition, P224.
- 45. Hachem Khalil Kawas N. 2010.** Utilisation des macrophytes pour l'évaluation du stress environnemental au niveau de la côte Oranaise: Etude préliminaire. Mémoire de Magister Université Es Sénia, Oran, Algérie, P 81
- 46. Harvey W.H., 1855.** Some account of the marine botany of the colony of Western Australia, *Transaction of the Royal Irish academy*, N°22, P525-566.
- 47. Irving W., Ala'Aldeen D. et Bowstell T., 2005.** *Medical Microbiology*. Taylor & Francis, P345.

- 48. Ismail A. et Hong T.S. 2002.** Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds. *Mal J Nutr.* 8 (2): 167-177.
- 49. Jafari A., Aslani MM. et Bouzari S., 2012.** *Escherichia coli*: Metabolites naturel products Isolation, *Methods in molecular biology.* P 364,342-366.
- 50. Kajiwara T., Matsui K., Akakabe Y., Murakawa T. and Arai C. 2006.** Antimicrobial browning-inhibitory effect of flavor compounds in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 18: 413-422.
- 51. Kannan R., Kuzina I., Wincovitch S., Nowotarski S.H., Giniger E. 2014.** The Abl/Enabled signaling pathway regulates Golgi architecture in *Drosophila* photoreceptor neurons. *Mol. Biol. Cell* 25(19): 2993--3005.
- 52. Kannan R., Kuzina I., Wincovitch S., Nowotarski S.H., Giniger E. 2014.** The Abl/Enabled signaling pathway regulates Golgi architecture in *Drosophila* photoreceptor neurons.
- 53. Karacalar U. and Turan G. (2008).** Microbiological assays on edible seaweed *Ulva Lactuca* (L.) cultured in outdoor tanks. *Journal of Applied Biological Sciences*, 2 (2): 27-30.
- 54. Kassis-Chikhani N.2012.** *Klebsiella pneumoniae* pathogène nosocomial resistance et virulence. These de doctorat. Université Pierre et Marie Curie Paris 6, P190.
- 55. Kayser M.D.F.H., Bienz K.A., Echert Ph.D.J. et Zinkernagol M.D.M.R., 2005.** *Medical Microbiology.* Thieme, 698 p.
- 56. Kumar J.I.1.N., Kumar R.N., Patel1 K., Viyol1 S. and Bhoi R. 2009.** Nutrient composition and calorific value of some seaweeds from bet dwarka, west coast of Gujarat, India. *Our Nature*, 7: 18-25.
- 57. Laury D. 2014.** La diversité des algues rouges du genre *Asparagopsis* en Nouvelle Calédonie: approches in situ et moléculaire. *Molecularbiology.* Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, French. Thèse de doctorat de biologie marine.
- 58. LauryD. 2014.** La diversité des algues rouges du genre *Asparagopsis* en Nouvelle Calédonie: approches in situ et moléculaire. *Molecularbiology.* Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, French. Thèse de doctorat de biologie marine.
- 59. Li Y-X., Kim S-K. 2011.** Utilization of Seaweed Derived Ingredients as Potential Antioxidants and Functional Ingredients in the Food Industry: An Overview. *Food Sci. Biotechnol.* 20: 1461-1466.
- 60. Manivannan K., Thirumaran G., Devi G.K., Hemalatha A. and Anantharaman P. 2008.** Biochemical composition of seaweeds from Mandapam

coastal regions along southeast coast of India. American-Eurasian Journal of Botany, 1 (2): 32-37

- 61. Manivannan K., Thirumaran G., Devi G.K., Hemalatha A., Anantharaman P. and Balasubramanian T. 2009.** Proximate composition of different group of seaweeds from Vedalai coastal waters (gulf of mannar): Southeast coast of India. Middle-East Journal of Scientific Research, 4 (2): 72-77.
- 62. Marfaing H. et Lerat Y. (2007).** Des ressources marines: Les algues ont-elles une place en nutrition ., Phytothérapie, P 2-5.
- 63. McDermott W., And D. Rogers. E. 1982.** Social ramifications of control of microbial microorganismes ; antagonisme entre les moisissures et les microbes. Faculté de Médecine.
- 64. Mendes M., Pereira R., Sousa Pint I., Carvalho A.P et Gomes A.M. 2013.** Antimicrobial activity and lipid profile of seaweed extracts from the north portuguese coast. International food research journal, Vol.20,N°6, P337-3345.
- 65. Mineur F., Davies A.J., Maggs C.A., Verlaque M., Johnson M.P. 2010.** Fronts, jumps and secondary introductions suggested as different invasion patterns in marine species, with an increase in spread rates over time. Proc BiolSci, N°277, P2693-2701.
- 66. Mtolera M.S.P. and Semesi A.K. 1996.** Antimicrobial activity of extracts from six green algae from Tanzania. Current in Trends Marine Botanical Research in East African Region, 211 217.
- 67. Nabors M .2009.** Biologie végétale structure, fonctionnement et biotechnologies. Nouveaux nabors, P614.
- 68. Naegelé E. et Naegelé A. 1967.** Les algues. Ed. Presses universitaire de France. Paris, P: 127.
- 69. Nedjai S., Barguiga A., Djahmi L., Zerouali K., Dekhil M., Timimouni M.2011.** prevalence and characterization of expended spectrum  $\beta$ -lactamases in KESgroup bacteria, in Algeria. Medicine et maladies inféctieuses, N°42, P20-29.
- 70. OMS (2002)** "Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005." OMS, 74.
- 71. Ozenda P. 2000.** Les végétaux : organisation et diversité biologique. Dunod, P 65-69
- 72. Pacios A.G, Fritz R, Valle C. et Roura S.I., 2011.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensm. Wiss.u. technol, N°36, P 679-684.

- 73. Paredes-Sabja D., Setlow P et Sarker M.R., 2011.** Germination of spores of Bacillales and Clostridiales Species: mechanisms and proteins involved. Trends Microbial. N°19, P85-94.
- 74. Pasteur L and Joubert J. 1877.** "Charbon et septicémie." Les Comptes Rendus d'Académie des Sciences 85: 101-105.
- 75. Patra J.K., Patra A.P., Mahapatra N.K., Thatoi H.N., Das S., Sahu, R.K. and Swain G.C. 2009.** Antimicrobial activity of organic solvent extracts of three marine macroalgae from Chilika Lake, Orissa, India. Malaysian Journal of Microbiology, 5 (2): 128-131.
- 76. Paul N. A., Nys R et Steinberg P.D. 2006.** Chemical defence against bacteria in the red algae *Asparagopsis armata*. Marine Ecol, N°306, P 87-101.
- 77. Pelmont J. 1993.** Bactéries et environnement (adaptation physiologique). Presses Universitaire de Grenoble, P 897.
- 78. Perry J.J., Staley J.T. et Lory S., 2002.** Microbiologie. Dunod, Paris, P891.
- 79. Peter H.R., Georges B. J., Kenneth A.M et Jonathan B.L. 2011.** 2ème Edition. P 368
- 80. Peter H.R., Ray F.E et Susan E.F. 2003.** Biologie végétale. 6ème Edition, New York. P 147.
- 81. Pitchamuthu A., Muthiah G et Rajaram P. 2012.** Preliminary study on the antimicrobial activity of *Enicostemma littoral* using different solvents. Asian pacific journal of tropical medicine, P 552-555
- 82. Rajasulochana P., Dhamotharan R., and Krishnamoorthy P. (2009a).** Primary phytochemical analysis of *Kappaphycus* sp. Journal of American Science, 5 (2): 91-96
- 83. Rengasamy S et Eimer BC. 2012.** Nanoparticle penetration through filter media and leakage through face seal interface of N95 filtering facepiece respirators. Ann Occup Hyg.; 56:568–80.
- 84. Rengasamy S, Eimer BC. 2012.** Nanoparticle penetration through filter media and leakage through face seal interface of N95 filtering facepiece respirators. Ann Occup Hyg.;56:568–80.
- 85. Rosset R. 2003.** Pasteur et les vétérinaires. Bulletin de la société Française d'histoire de la Médecine et des Sciences Vétérinaires 2: 1-25.

- 86. Rybak M.J., Pharm D et LaPlante K.L., 2005.** Community-Associated Methicilline-Resistant *Staphylococcus aureus* : a review. Review of therapeutics, pharmacotherapy, N°25, P7-85.
- 87. Salvador N., Gómez Garreta A., Lavelli L. and Ribera M. 2007.** Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marin*, 71 (1): 101-113.
- 88. Sathya R., Kanaga N., Sankar P., Jeeva S. 2013.** Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsskal) C. Agardh. In press.
- 89. Shanmuga Priya S., Krishnareni J., Joseph Selvin., Gandhimathi R., Arun Kumar M., Thangavelu T., Seghal kiran G., Natarajaseenivasan K. 2008.** Optimization of extracellular thermotolerant alkaline protease produced by marine *Roseobacter* Sp (MMD040). *Bioprocess Biosyst Eng.*, 31: 427-433
- 90. Shanmugam A. and Palpandi C. 2008.** Biochemical composition and fatty acid profile in the green alga *Ulva riticulata*. *Asian journal of biochemistry*, 3 (1): 26-31
- 91. Shanmughapriya S., Manilal A., Sujith S., Selvin J., Kiran G.S. and Natarajaseenivasan K. 2008.** Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. *Annals of Microbiology*, 58 (3): 535-541.
- 92. Srinivasan V.B., Vaidyanathan V., Mondal A. et Rajamohan G. 2012.** Role of the two component signal transduction system CpxAR in conferring cefepime and chloramphenicol resistance in *Klebsiella pneumoniae* NTUH-K2044. Vol7, P33-777.
- 93. Stenfors Arnesen L.P, Fagurlund A., Granum P.E. 2008.** From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbial. Rev.* N°32, P 579-606.
- 94. Struve C., Stahelhut SG., Kroghfelt KA et Reisner A. 2012.** Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae.
- 95. Sudbery PE. 2011.** Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature reviews microbiology*, 9, 737, 748.
- 96. Taskin E., Ozturk M., Taskin E. and Kurt O. 2007.** Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African journal of biotechnology*, 6 (24): 2746-2751.
- 97. Tortora J., Funke B et Case C. 2003.** Introduction à la microbiologie. Edition du RENOUVEAU PEDAGOGIQUE INC. 2ème trimestre, les domaines des Bacteria et des Archaea, P354.
- 98. Tüney I., Çadirci B.H., Ünal D. and Sukatar A. (2006).** Antimicrobial Activities of the Extracts of Marine Algae from the Coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turk J Biol*, 30: 171-175.

- 99. Van den Hoek C., Mann D.G., and Jahns, H.M. 1995** Algae. An Introduction to Phycology. Cambridge University Press, Cambridge.
- 100. Venugopal V. 2009.** Marine products for healthcare functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean. Ed. CRC press Taylor & Francis group. Boca Raton, London and New York, P: 552
- 101. Wijesinghe W.A.J.P., Jeon You-Jin. 2012.** Enzyme-assisted extraction (EAE) of bioactive components: A useful approach for recovery of industrially important metabolites from seaweeds: A review. *Fitoterapia* 83: 6–12.
- 102. Womersley H.B.S. 1998.** The Marine Benthic Flora of Shouthern Australia. Part IIIC. State Herbarium of Southern Australia, Adelaide.
- 103. Yekhlef G., S Laroui., L Hambada., M.C, Aberkane A et Ayachi E. 2011.** Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. Springer-Verlag, France, Vol.9, P209-218.
- 104. Young DN. 1977.** Comparative Fine Structure and Histochemistry of Vesiculate Cells in Selected Red Algae. University of California, Berkeley, P45.46.47.

# *Annexes*

## *Annexes I*

### **Bouillon cœur-cervelle (BHIB) :**

#### **Composition :**

Infusion de cervelle de veau.....	12,5 g
Infusion de cœur de bœuf.....	5,0 g
Peptone.....	10,0 g
Glucose.....	2,0 g
Chlorure de sodium.....	2,0 g
Phosphatase di sodique.....	50 g
pH= 7.4	

### **Mueller-Hinton agar (M.H.A) :**

Infusion de viande de bœuf.....	300 cm <sup>3</sup>
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar .....	17g
Eau distillé.....	1000ml
PH.....	7.4

### **Eau physiologique :**

Eau distillé .....	1000ml
NaCl.....	9g

### **Milieu liquide Bouillon nutritive :**

Peptone.....	5 g
Extrait de viande.....	1 g
Extrait de levure.....	2 g
Chlorure de Sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000 ml

**Milieu Sabouraud :**

Eau distillée.....1000ml  
Peptone.....10g  
Glucose.....20g  
Agar-agar.....15g  
PH.....6.

**Milieu Sabouraud liquide :**

Eau distillée.....1000ml  
Peptone.....10g  
Glucose.....20g  
PH.....6

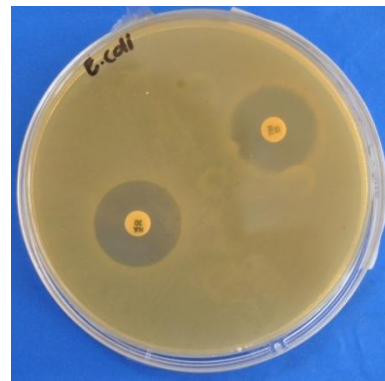
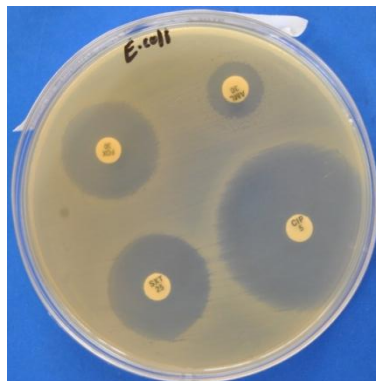
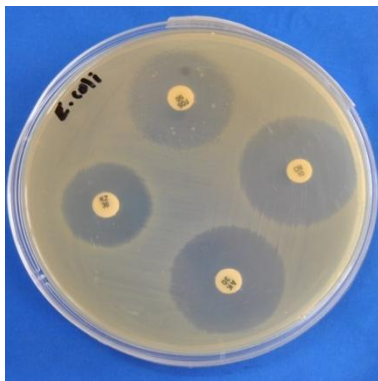
*Annexes II*

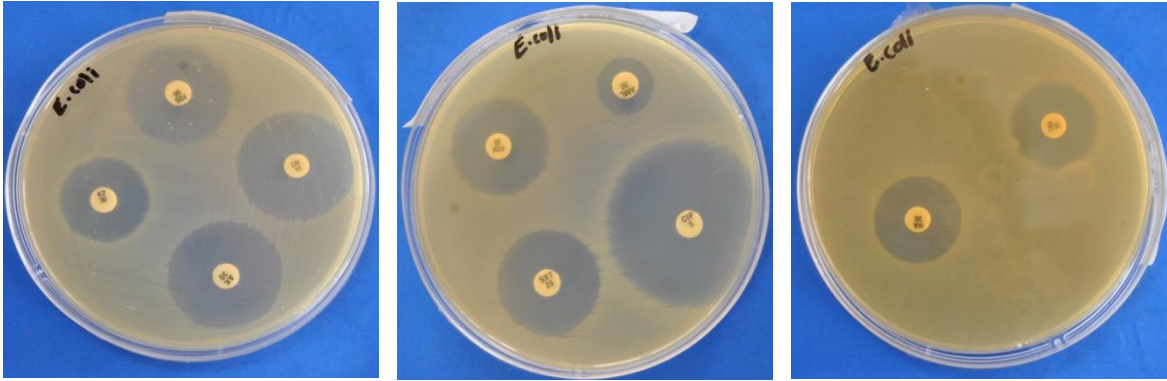
*Antibiogramme :*

*Bacillus cereus*

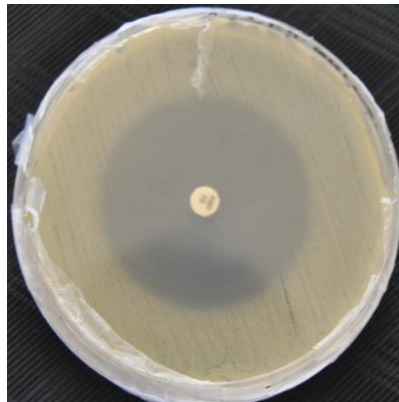
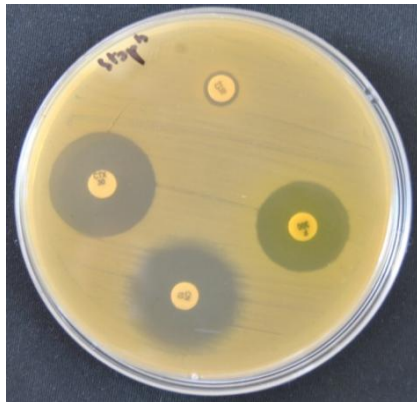
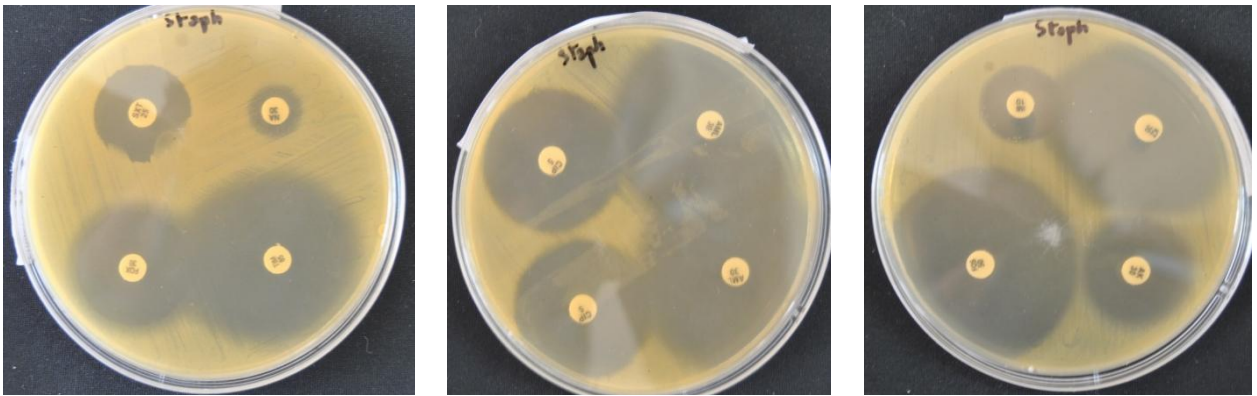


*Escherichia coli*

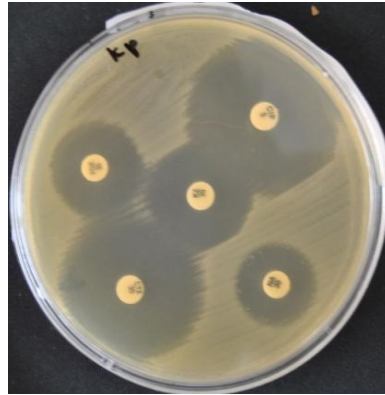
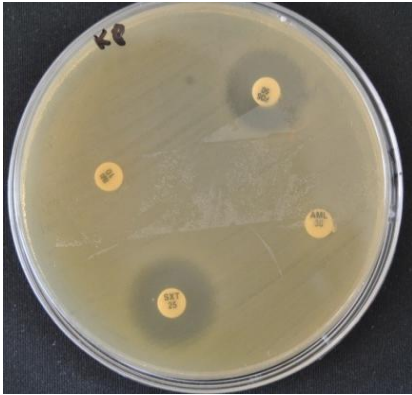
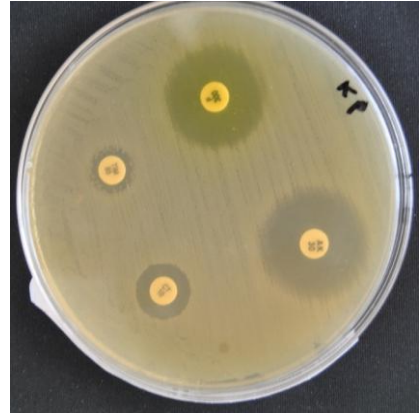
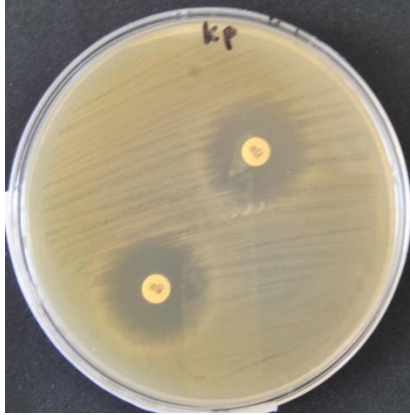
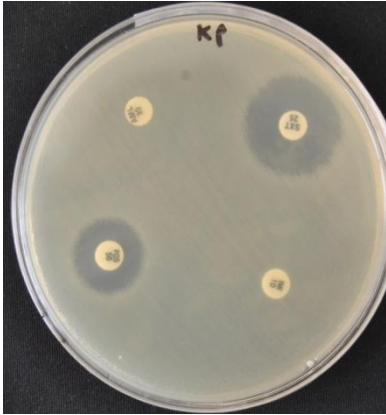




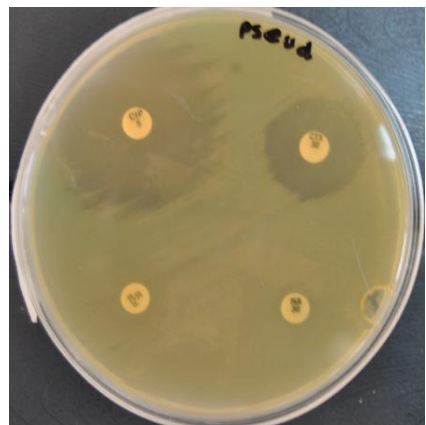
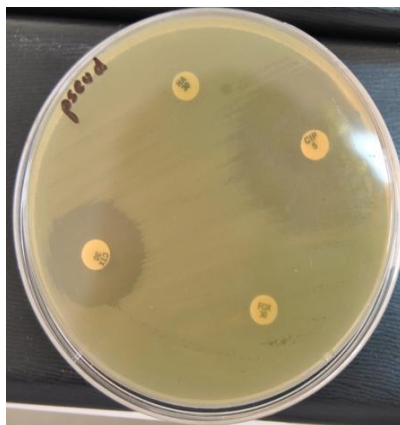
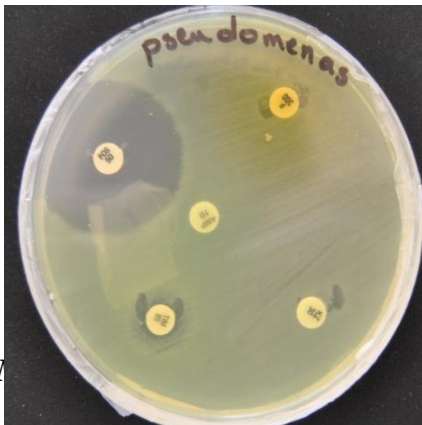
*Staphylococcus aureus*



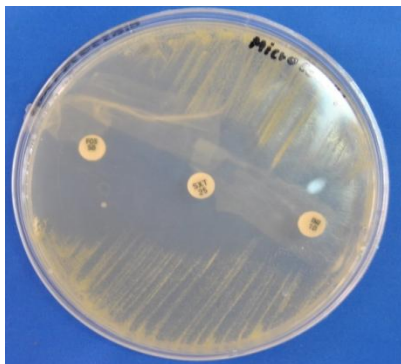
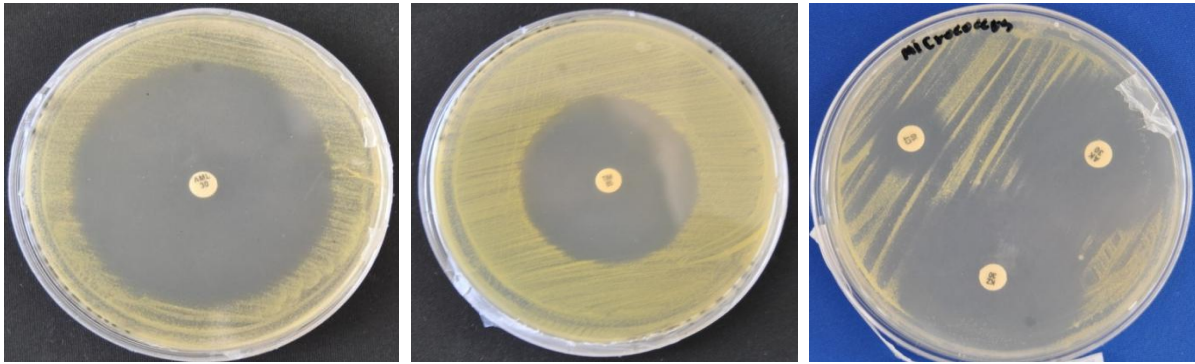
*Klebsiella pneumoniae*



*Pseudomonas aeruginosa*



*Micrococcus luteus*



*Candida albicans*

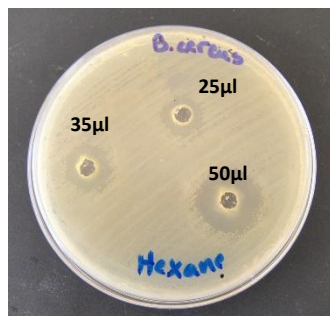
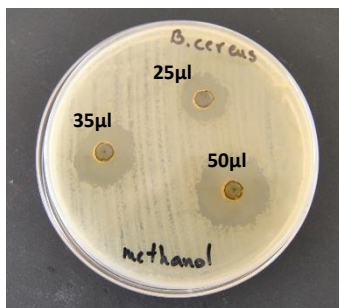
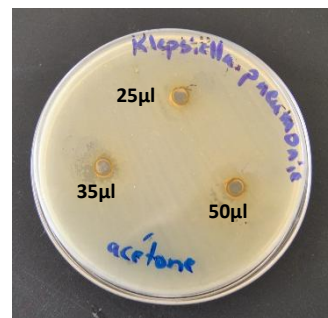
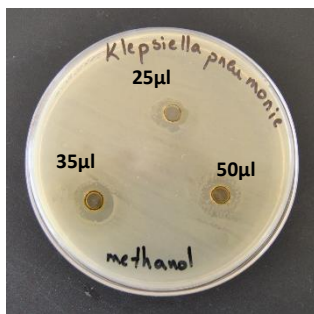
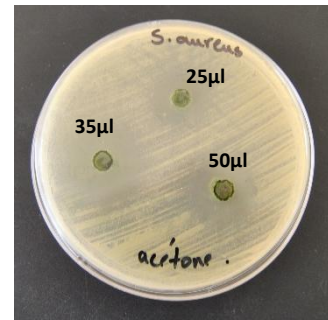
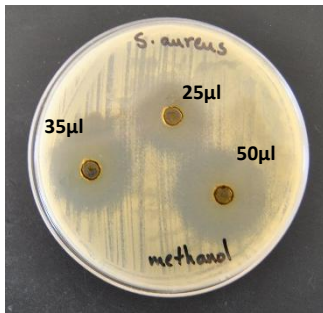


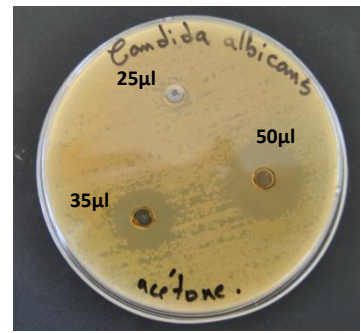
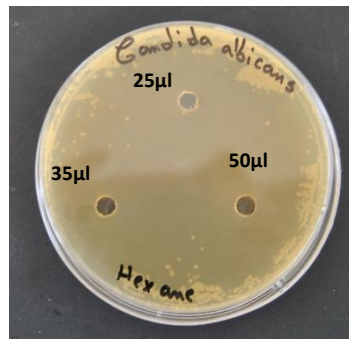
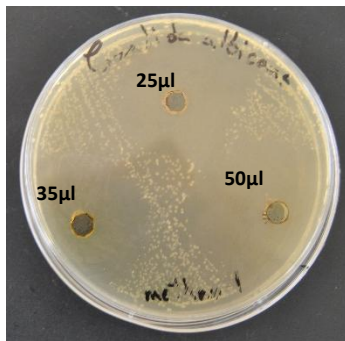
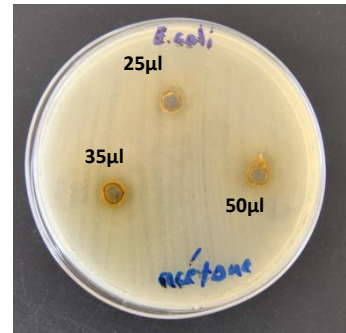
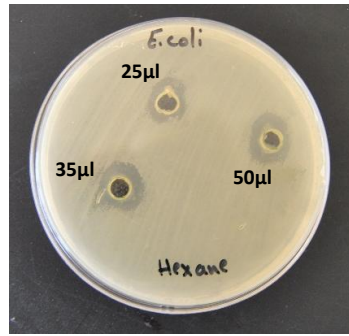
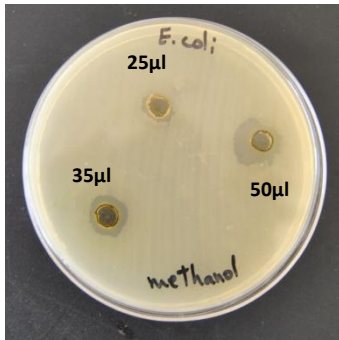
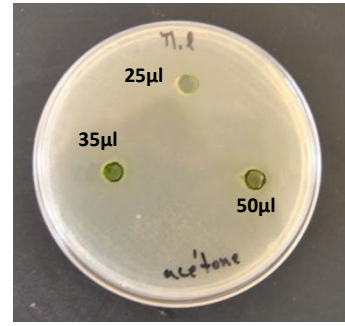
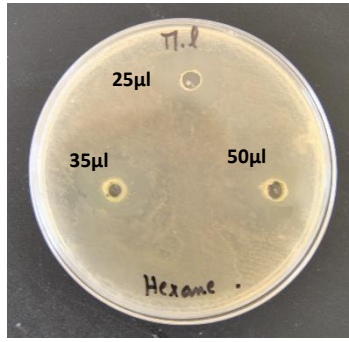
**Tableau :** Les diamètres d'inhibition en millimètre des antibiotiques et antifongique standard.

	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (IBMC Strasbourg)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 25921)	<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)
<b>FOX: 30µg</b>	23,63	6	20,755	27,355	6	41,045
<b>CN: 10µg</b>	26,98	22,77	20,485	23,185	26,085	38,91
<b>NA : 30µg</b>	20,92	6	17,55	11,095	17,99	6
<b>KZ: 30µg</b>	20,995	6	24,03	41,32	6	40,855
<b>IMI: 10µg</b>	6	6	6	18,05	6	24,275
<b>SXT: 25µg</b>	24,595	6	19,095	22,135	6	34,26
<b>AK : 30µg</b>	25,855	27,525	22,415	24,55	25,69	36,44
<b>F : 300µg</b>	23,785	6	20,07	20,595	21,615	6
<b>AML:30µg</b>	13,245	6	6	42,08	6	56,75
<b>CT 10µg</b>	14,63	12,7	11,875	7,84	6	17,995
<b>Cip :5µg</b>	37,295	33,095	34,9	32,105	31,295	27,24
<b>FOS: 50µg</b>	17,08	33,75	15,905	43,94	21,825	44,68
<b>CTX :30µg</b>	34,2	20,26	32,95	23,875	6	48,33
<b>AMP:10 µg</b>	19,68	8	8,8	38,535	6	41
<b>TIM:75µg</b>	10,2	6	6	44	6	55,5
<b>Candida albicans (CIP 444)</b>						
<b>Nys: 10 µG</b>	DMSO=26,5					

*Annexes III*

Résultats de l'effet des différentes concentrations d'extraits d'*Asparagopsis armata* sur les souches microbiennes par la méthode de diffusion sur puits





**Résultats de l'effet de différentes concentrations d'extraits d'*Asparagopsis armata* sur quelques souches microbiennes par la méthode de diffusion sur disques**



*Pseudomonas aeruginosa*



*Klebsiella pneumoniae*



*Bacillus cereus*



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*



*Candida albicans*

## Résumé

Ce travail s'intéresse à la valorisation biologique d'une algue marine rouge *Asparagopsis armata* de la côte de Mostaganem (Salamandre). Différents extraits de cette algue ont été testés pour leurs pouvoirs antimicrobiens. L'activité antimicrobienne est déterminée par deux méthodes de diffusions (puits et disques) des extraits acétonique, hénanique et méthanolique sur la croissance des souches bactériennes pathogènes Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) et une souche fongique (*Candida albicans*) responsables des maladies humaines.

Les extraits hénanique et méthanolique sont plus actifs sur les bactéries Gram positif que sur les bactéries Gram négatif. Par contre, ces dernières sont fortement inhibées que par l'extrait acétonique. Parmi les extraits testés, seul l'extrait méthanolique a l'activité antifongique la plus élevée sur *Candida albicans*.

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des extraits hénanique, méthanolique, acétonique d'*Asparagopsis armata* ainsi déterminée sont comprises entre 1 à 3 mg/ml.

L'algue *Asparagopsis armata* est une source naturelle prometteuse de substances antimicrobiennes qui peuvent utilisées dans le domaine pharmaceutique.

**Mots clés :** Algue rouge, *Asparagopsis armata*, solvant, extraction, Activité antimicrobienne, CMI.

## Abstract

This work focuses on the biological recovery of a red algae *Asparagopsis armata* of the coast of Mostaganem (Salamander). Various extracts of this algae were tested for their antimicrobial powers. The antimicrobial activity is determined by two methods of diffusion (wells and discs) of acetone extracts, hexane and methanol on the growth of Gram-negative pathogenic bacterial strains (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) and Gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*) and a fungal strain (*Candida albicans*) responsible for human diseases.

The methanol and hexane extracts are more active against Gram-positive bacteria than Gram-negative bacteria. On the other hand, they are strongly inhibited by the acetone extract. Among the extracts tested, only the methanol extract was the highest antifungal activity against *Candida albicans*.

The Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of hexane extracts, methanol, and acetone of *Asparagopsis armata* so determined are 1 to 3 mg / ml.

The *Asparagopsis armata* algae is a promising source of natural antimicrobial substances which may be used in the pharmaceutical field

**Key words:** Red algae, *Asparagopsis armata*, solvent, extraction, antimicrobial activity, MIC.

## ملخص

يركز هذا العمل على التقييم البيولوجي للطحلب البحري الأحمر *Asparagopsis armata* لسواحل مستغانم (سلمندر)، تم اختبار مستخلصات مختلفة من هذه الطحالب للقوى المضادة للجراثيم. يتم تحديد نشاط مضادات الميكروبات من قبل اثنين من أساليب الانتشار (حفر وأقراص) للمستخلصات الأسيتونية، الهكسانية و الميثانولية على تكاثر السلالات البكتيرية سالبة الغرام (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa*) و بكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) و سلالة فطرية *Candida albicans* المسؤولة عن الأمراض التي تصيب البشر.

تعتبر المستخلصات الميثانولية و الهكسانية أكثر نشاطا على البكتيريا موجبة الغرام على عكس البكتيريا سالبة الغرام. بالمقابل هذه الأخيرة قام بتثبيطها المستخلص الأسيتوني. من بين المستخلصات المدروسة: المستخلص الميثانولي الوحيد الذي له تأثير مضاد لفطريات *Candida albicans*.

التركيزات الدنيا المبيدة للجراثيم (CMI) للمستخلصات الأسيتونية، الهكسانية و الميثانولية ل *Asparagopsis armata* محصورة بين 1 و 3 مغ/مل.

الطحلب البحري *Asparagopsis armata* مصدر طبيعي للمواد المضادة للمكروبات و التي تستخدم في مجال المستحضرات الصيدلانية.

**الكلمات المفتاحية :** الطحلب الأحمر, *Asparagopsis armata*, مذيب, استخلاص, النشاط المضاد البكتيري CMI.